



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 18 946 T2** 2005.07.28

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 047 781 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 18 946.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/01419**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 904 222.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/037772**

(86) PCT-Anmeldetag: **22.01.1999**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **29.07.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.11.2000**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **28.07.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **28.07.2005**

(51) Int Cl.<sup>7</sup>: **C12N 15/12**

**C12N 15/62, C07K 14/715, C07K 19/00,  
A61K 38/17**

(30) Unionspriorität:

<b>72301 P</b>	<b>23.01.1998</b>	<b>US</b>
<b>78835 P</b>	<b>20.03.1998</b>	<b>US</b>
<b>94469 P</b>	<b>28.07.1998</b>	<b>US</b>

(73) Patentinhaber:

**Immunex Corp., Seattle, Wash., US**

(74) Vertreter:

**Grosse, Bockhorni, Schumacher, 81476 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**SIMS, E., John, Seattle, US; BORN, L., Teresa,  
Seattle, US**

(54) Bezeichnung: **REZEPTOREN FÜR IL-18**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****HINTERGRUND DER ERFINDUNG****Bereich der Erfindung**

**[0001]** Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf Proteine, die zur IL-1-Rezeptorfamilie gehören. Genauer gesagt, bezieht sich die vorliegende Erfindung auf IL-1R $\alpha$ 1- und AcPL-Rezeptorkomplexe, die hochaffine IL-18-Bindung und -Aktivität vermitteln sowie die IL-18-vermittelte Aktivität hemmen.

**Beschreibung des Standes der Technik**

**[0002]** Der Rezeptor vom Typ I Interleukin-1 (IL-1RI) vermittelt die biologischen Wirkungen von Interleukin-1, einem entzündungsfördernden Zytokin (Sims et al., Science 241:585-589, 1988; Curtis et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:3045-3049, 1989). Ein zweiter Interleukin-1-Rezeptor (der als Typ II IL-1R oder IL-1RII bezeichnet wird) bindet IL-1, scheint aber nicht die Signalübertragung zu vermitteln (McMahan et al., EMBO J. 10:2821, 1991; Sims et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6155-6159, 1993). IL-1RI und IL-1RII binden jeweils IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . IL-1 ist mit chronischen entzündlichen Erkrankungen, wie z.B. der rheumatoiden Arthritis und der entzündlichen Darmkrankheit, in Verbindung gebracht worden. Es gibt zunehmende Hinweise darauf, dass IL-1 eine Rolle bei der Osteoporose spielt. Alle diese Aktivitäten werden durch die Signalfunktion des zytoplasmatischen Teils von Typ I IL-1R initiiert. IL-1 $\alpha$  hemmt die Aktivitäten von IL-1 durch Bindung an den Typ I IL-1-Rezeptor, wodurch der Zugriff auf IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  blockiert wird, während gleichzeitig keine eigene biologische Reaktion ausgelöst wird.

**[0003]** IL-1RI und IL-1RII gehören zu einer Familie von Proteinen, die eine signifikante Sequenzhomologie aufweisen. Ein solches Protein ist das IL-1R akzessorische Protein (IL-1R AcP), das von Greenfeder et al., (J. Biol. Chem. 270:13757-13765, 1995) beschrieben wurde. Dieses Protein ist von sich aus nicht in der Lage, IL-1 zu binden, bildet aber einen Komplex mit IL-1RI und IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ . Bei Co-Expression mit IL-1RI erhöht rekombinantes IL-1R AcP die Bindungsaffinität von IL-1RI für IL-1 $\beta$  (Greenfeder et al., oben).

**[0004]** Eine weiteres Protein, das eine Sequenzhomologie zur IL-1RI- und IL-1RII-Familie zeigt, ist das auf den IL-1-Rezeptor bezogene Protein 1 (IL-1R $\alpha$ 1) (siehe Parnet et al., J Biol. Chem. 271:3967, 1995, und Torigoe et al., J Biol. Chem. 272:25737, 1997). Ein weiteres solches Protein ist AcPL.

**[0005]** IL-18 ist ein Homolog von IL-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ , und es ist bekannt, dass es viele derselben Reaktionen wie IL-1 aktiviert. Zum Beispiel aktivieren Zellen, die mit IL-18 stimuliert wurden, NF $\kappa$ B und erzeugen die bekannten Entzündungsmediatoren. IL-18 wirkt als Stimulator des Th1-Zellwachstums und der -Differenzierung und ist ein leistungsfähiger Auslöser der  $\gamma$ -Interferonproduktion aus Th1-Zellen. Es ist bekannt, dass die Th1-Klasse von Helfer-T-Zellen Entzündungsreaktionen vermitteln. IL-18 verstärkt die Abtötungsaktivität von NK-Zellen und ist in Verbindung mit septischem Schock, Leberzerstörung, entzündlicher Darmerkrankung und Diabetes gebracht worden.

**[0006]** Kürzlich wurde gezeigt, dass IL-1R $\alpha$ 1 IL-18 bindet und die IL-18-Signalisierung in transfizierten Zellen vermittelt. Jedoch ist die IL-1R $\alpha$ 1-Bindungsaffinität für IL-18 sehr gering, und es ist wahrscheinlich, dass einer oder mehrere zusätzliche Rezeptoren oder Rezeptoreinheiten an der IL-18-Bindung und -Signalisierung beteiligt sind.

**[0007]** Daher ist die Identifizierung zusätzlicher Rezeptoren für IL-18 wünschenswert. Solche Rezeptorproteine können untersucht werden, um festzustellen, ob sie IL-18 binden oder nicht, und wenn ja, ob die Rezeptoren eine Rolle bei der Vermittlung der Signalübertragung spielen. Weiters können lösliche Formen solcher Rezeptoren dazu verwendet werden, die IL-18-Aktivität zu hemmen und alle entzündlichen und/oder Autoimmunkrankheiten, die auf die IL-18-Signalisierung zurückzuführen sind, zu lindern. Die mögliche Existenz zusätzlicher Affinität konvertierender Untereinheiten für IL-18 kann ebenfalls erkundet werden.

**ZUSAMMENFASSENDE DARSTELLUNG DER ERFINDUNG**

**[0008]** Die vorliegende Erfindung stellt Rezeptorpolypeptide bereit, die hier als IL-18-Rezeptorkomplexe bezeichnet werden. Spezieller gesagt, stellt die vorliegende Erfindung multimere Rezeptorpolypeptide bereit, zu denen ein AcPL-Polypeptid oder Fragmente desselben und ein IL-1R $\alpha$ 1-Polypeptid oder Fragmente desselben gehören. Das AcPL-Polypeptid kann kovalent oder nicht-kovalent an das IL-1R $\alpha$ 1-Polypeptid mit geeigneten

Mitteln gebunden sein. Solche Mittel schließen über ein quervernetzendes Reagens einen Polypeptidlinker und Assoziationen, wie z.B. über Disulfidbindungen oder durch die Verwendung von Leucin-Zippern, ein. In einer Ausführungsform der Erfindung ist der Rezeptor ein Fusionsprotein, das mittels rekombinanter DNA-Technik erzeugt wurde. Dieser multimere Rezeptor der vorliegenden Erfindung bindet IL-18 mit einer Affinität, die größer als die von IL-1Rrp1 allein ist. Störungen, die von IL-18 vermittelt werden, können durch Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge dieses erfinderischen Rezeptors an einen Patienten behandelt werden, der mit solch einer Störung behaftet ist.

#### AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

**[0009]** Die vorliegende Erfindung beruht auf der Entdeckung, dass die Co-Expression von AcPL und IL-1Rrp1 zu einer drastischen Verstärkung der NFκB-Aktivität in Zellen führt, die mit IL-18 stimuliert wurden. Weil IL-1Rrp1 allein IL-18 nur schwach bindet und weil AcPL IL-18 nicht bindet, zeigt die Verstärkung der NFκB-Aktivität durch co-exprimiertes AcPL und IL-1Rrp1 an, dass diese Polypeptide Untereinheiten eines IL-18-Rezeptorkomplexes sind. In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung werden neuartige Polypeptide, die IL-18-Rezeptorkomplexe genannt werden, bereitgestellt. Vorteilhafterweise sind solche dimeren IL-18-Rezeptorkomplexe, die IL-1Rrp1 und AcPL oder Fragmente derselben enthalten, für die Hemmung der IL-18-Aktivität, einschließlich der entzündungsfördernden Wirkungen von IL-18, nützlich und können IL-1Rrp1 und AcPL als Proteine, die in derselben Zelle co-exprimiert werden, oder als IL-1Rrp1 enthalten, das mit einem AcPL als Rezeptoruntereinheiten verbunden ist. Vorzugsweise sind die Untereinheiten über kovalente Bindungen verbunden. Die Untereinheiten können mit einem geeigneten Mittel, wie z.B. über ein quervernetzendes Reagens oder einen Polypeptid-Linker, kovalent verbunden sein.

**[0010]** In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist der Rezeptor ein Fusionsprotein, das durch rekombinante DNA-Technologie erzeugt ist. Solche Fusionsproteine können durch Transfektion der Zellen mit DNA, die IL-1Rrp1:Fc-Fusionsprotein codiert, und DNA, die AcPL:Fc-Fusionsprotein codiert, und durch Co-Expression der Dimere in denselben Zellen erzeugt werden.

**[0011]** Alternativ können die AcPL/IL-1Rrp1-Dimere durch Fusion einer der Rezeptoruntereinheiten mit der konstanten Region einer Immunoglobulin-Schwerkette und Fusion der anderen Rezeptoruntereinheit mit der konstanten Region einer Immunoglobulin-Leichtkette hergestellt werden. Zum Beispiel kann ein AcPL-Protein mit der CH<sub>1</sub>-Hinge-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-Region von menschlichem IgG1 fusioniert werden, und ein IL-1Rrp1-Protein kann mit der C-kappa-Region der Ig kappa-Leichtkette verschmolzen werden, oder umgekehrt. Zellen, die mit DNA transfiziert wurden, welche das Immunoglobulin-Leichtketten-Fusionsprotein und das Immunoglobulin-Schwerketten-Fusionsprotein codiert, exprimieren Schwerketten-/Leichtketten-Heterodimere, die das AcPL-Fusionsprotein und das IL-1Rrp1-Fusionsprotein enthalten. Über Disulfidbrücken zwischen den schweren Ketten kombinieren sich die Heterodimere weiter so, dass Multimere, zum größten Teil Tetramere, bereitgestellt werden. Wenn günstigerweise Homodimere aus zwei Schwer- oder Leichtkettenfusionen exprimiert werden, können solche Homodimere leicht von den Heterodimeren getrennt werden.

**[0012]** Zusätzlich zu den IL-18-Rezeptorproteinkomplexen enthält die vorliegende Erfindung isolierte DNA, die Heteromer-Polypeptide codiert, Expressionsvektoren, die DNA enthalten, welche die Heteromer-Polypeptide codiert, und Wirtszellen, die durch solche Expressionsvektoren transformiert wurden. Verfahren zur Herstellung des rekombinanten IL-18-Rezeptors, einschließlich der löslichen Formen des Proteins, werden ebenfalls veröffentlicht. Antikörper, die immunreaktiv zum neuartigen Polypeptid sind, werden hier ebenfalls bereitgestellt.

**[0013]** In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung umfassen die Polypeptiduntereinheiten des heteromeren IL-18-Rezeptors zumindest eine AcPL-Untereinheit, wie in SEQ ID NO:2 oder SEQ ID NO:6 beschrieben, und mindestens eine IL-1Rrp1-Untereinheit, wie in SEQ ID NO:4 oder SQ ID NO:8 beschrieben. DNA, die diese Polypeptiduntereinheiten codiert, wird in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:3 bzw. SEQ ID NO:7 wiedergegeben. Das Protein der AcPL-Untereinheit, das von SEQ ID NO:1 codiert wird, schließt einen extrazellulären Bereich von 356 Aminosäuren ein (Reste 1-356 vom N- zum C-Terminus von SEQ ID NO:2), der ein Signalpeptid von 14 Aminosäuren enthält (Reste 1-14 von SEQ ID NO:2); eine Transmembranregion von 25 Aminosäuren (Reste 357-381) und einen zytoplasmatischen Bereich von 218 Aminosäuren (Reste 382-599). Das Protein der AcPL-Untereinheit, das von SEQ ID NO:5 codiert wird, schließt einen extrazellulären Bereich von 356 Aminosäuren ein (Reste 1-356 von SEQ ID NO:6), der ein Signalpeptid von 14 Aminosäuren (Reste 1-14 von SEQ ID NO:6); eine Transmembranregion von 24 Aminosäuren (Reste 357-380) und einen zytoplasmatischen Bereich von Aminosäuren (Reste 381-614) enthält. Das Protein der IL-1Rrp1-Untereinheit, das von SEQ ID NO:3 codiert wird, schließt einen extrazellulären Bereich von 329 Aminosäuren ein (Reste

1-329 von SEQ ID NO:4), der ein Signalpeptid von 19 Aminosäuren (Reste 1-19 von SEQ ID NO:4); eine Transmembranregion von 21 Aminosäuren (Reste 330 bis 350 von SEQ ID NO:4) und einen zytoplasmatischen Bereich von Aminosäuren (Reste 351-541) enthält. Das Protein der IL-1Rrp1-Untereinheit, das von SEQ ID NO:7 codiert wird, schließt einen extrazellulären Bereich von 322 Aminosäuren ein (Reste 1-322 von SEQ ID NO:8), der ein Signalpeptid von 18 Aminosäuren (Reste 1-18 von SEQ ID NO:8) enthält, eine Transmembranregion von 25 Aminosäuren (Reste 323 bis 347 von SEQ ID NO:8) und einen zytoplasmatischen Bereich von Aminosäuren, Reste 348-537, ein. Zusätzlich wird IL-1Rrp1 im US-Patent Nr. 5,776,731 beschrieben, und AcPL wird in den gleichzeitig registrierten Anmeldungen Nr. 60/078,835 und Nr. 60/072,301 beschrieben, die hier durch Bezugnahme aufgenommen werden.

**[0014]** Die Polypeptid-Untereinheiten der dimeren IL-18-Rezeptoren sind vorzugsweise lösliche Fragmente der IL-1Rrp1- und AcPL-Polypeptide, die zusammen Heteromerkomplexe mit der gewünschten Aktivität bilden. Zu solchen Polypeptiden gehören diejenigen, denen die gesamte oder ein Teil der Transmembranregion und der zytoplasmatische Bereich des Proteins fehlen. So kann zum Beispiel ein Heteromerrezeptorcomplex der vorliegenden Erfindung mindestens eine Untereinheit enthalten, die der extrazelluläre Bereich von SEQ ID NO:2 oder SEQ ID NO:6 ist, und mindestens eine Untereinheit, die der extrazelluläre Bereich von SEQ ID NO:4 oder SEW ID NO:8 ist. Diese löslichen extrazellulären Bereiche von AcPL und IL-1Rrp1 können ihr Signalpeptid enthalten oder ausschließen. Daher enthält in einer anderen Ausführungsform ein heteromeres IL-18-Rezeptor Aminosäurerückstände 1-356 oder Rückstände 15-356 von SEQ ID NO:2 oder SEQ ID NO:6 und Aminosäurerückstände 1-329 oder Rückstände 20-329 von SEQ ID NO:4 oder Aminosäurerückstände 1-325 oder Rückstände 19-322 von SEQ ID NO:8. Die Erwünschtheit des Einschlusses der Signalsequenz hängt von solchen Faktoren wie der Position des AcPL oder IL-1Rrp1 im Fusionsprotein und den vorgesehenen Wirtszellen ab, wenn der Rezeptor mittels rekombinanter DNA-Technologie produziert werden soll. In bevorzugten Ausführungsformen wird ein DNA-Konstrukt, das eines der löslichen AcPL- oder löslichen IL-1Rrp1-Fragmente codiert, mit einem DNA-Konstrukt verschmolzen, das die konstante Region einer Immunglobulin-Schwerkette codiert, und ein DNA-Konstrukt, das das andere lösliche AcPL- oder lösliche IL-1Rrp1-Fragment codiert, wird mit einem DNA-Konstrukt verschmolzen, das die konstante Region einer Immunglobulin-Leichtkette codiert.

**[0015]** Alternativ kann der IL-18-Rezeptor IL-1Rrp1- oder lösliche IL-1Rrp1-Fragmente enthalten, die nicht-kovalent Komplexe mit AcPL oder löslichen AcPL-Fragmenten bilden. Die nicht-kovalente Bildung von IL-1Rrp1 an AcPL kann mit einem geeigneten Mittel erreicht werden, das die Fähigkeit des Rezeptors, IL-18 zu binden, nicht stört. In einem ersten Ansatz wird eine erste Verbindung an IL-1Rrp1 angeheftet, und eine zweite Verbindung, die sich nicht-kovalent an die erste Verbindung bindet, wird an AcPL angeheftet. Beispiele für solche Verbindungen sind Biotin und Avidin. Der Rezeptor wird also durch die nicht-kovalenten Interaktionen von Biotin mit Avidin gebildet. In einer Ausführungsform der Erfindung sind IL-1Rrp1 und AcPL rekombinante Polypeptide, von denen jedes aus rekombinanten Zellen gereinigt wird und die dann nicht-kovalent aneinander gebunden werden, um den Rezeptor zu bilden. Ein Wirtszelle kann mit zwei verschiedenen Expressionsvektoren so transformiert werden, dass IL-1Rrp1 und AcPL von der rekombinanten Wirtszelle erzeugt werden. IL-1Rrp1 und AcPL, die durch solche transformierten Wirtszellen erzeugt wurden, können sich zusammenschließen und durch nicht-kovalente Wechselwirkungen einen Komplex bilden. Wenn solche transformierten Zellen die membrangebundenen Formen der Proteine exprimieren, sind solche Zellen in verschiedenen Untersuchungen, einschließlich Verdrängungstests, nützlich.

**[0016]** Die in Beispiel 1 beschriebene Bindungsuntersuchung vergleicht die Bindung von IL-18 durch Überstand von Zellen, die mit IL-1Rrp1 allein, AcPL allein und einer Kombination von IL-1Rrp1 und AcPL transfiziert wurden. Überstände von Zellen, die IL-1Rrp1 und AcPL co-exprimieren, wiesen hohe Werte für die Bindung von IL-18 auf; Überstände von Zellen, die IL-1Rrp1 allein exprimierten, wiesen niedrige Werte für die Bindung von IL-18 auf, und Überstände von Zellen, die AcPL allein exprimierten, banden IL-18 gar nicht. Die in Beispiel 2 beschriebene NFκB-Induktionsuntersuchung zeigt, dass Zellen, die mit IL-1Rrp1 allein transfiziert wurden, und Zellen, die mit AcPL allein transfiziert wurden, nicht auf die Stimulation von IL-18 reagierten. Jedoch verstärkten Zellen, die sowohl mit IL-1Rrp1 als auch mit AcPL co-transfiziert und mit IL-18 stimuliert wurden, die NFκB-Induktion außerordentlich.

**[0017]** Wie hier verwendet, schließen die Begriffe IL-1Rrp1 und AcPL Varianten und abgestutzte Formen der nativen Proteine ein, die die gewünschte biologische Aktivität besitzen. Varianten, die durch das Hinzufügen, Ersetzen oder Entfernen von Aminosäure(n) in der nativen Sequenz erzeugt werden, werden detaillierter unten behandelt.

**[0018]** Wie oben beschrieben, werden lösliche IL-1Rrp1- und lösliche AcPL-Polypeptide für bestimmte Anwendungen bevorzugt. „Lösliches IL-1Rrp1“, wie es im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet wird, be-

zieht sich auf Polypeptide, die in ihrer Aminosäuresequenz der ganzen oder einem Teil der extrazellulären Region eines nativen IL-1Rrp1-Polypeptids im wesentlichen ähnlich sind und die auf Grund des Fehlens der Transmembranregion, welche zu einer Zurückhaltung des Polypeptids in einer Zellmembran führen würde, bei Expression sezerniert werden. Geeignete lösliche IL-1Rrp1-Polypeptide behalten die gewünschte biologische Aktivität bei. Lösliches IL-1Rrp1 kann auch einen Teil der Transmembranregion oder einen Teil der zytoplasmatischen Region oder andere Sequenzen enthalten, vorausgesetzt, dass das lösliche IL-1Rrp1-Protein sezerniert werden kann.

**[0019]** Analog bezieht sich der Begriff „lösliches AcPL“ auf Proteine, die in ihrer Aminosäuresequenz der ganzen oder einem Teil der extrazellulären Region eines nativen AcPL-Polypeptids in hohem Maße ähnlich sind und bei Expression sezerniert werden, ihre gewünschte biologische Aktivität aber beibehalten. Lösliches AcPL kann einen Teil der Transmembranregion, zytoplasmatischen Region oder andere Sequenzen enthalten, solange wie das Polypeptid sezerniert wird.

**[0020]** In einer Ausführungsform enthalten lösliche IL-1Rrp1- und AcPL-Polypeptide die gesamte extrazelluläre Region. Um eine Sekretion zu erreichen, enthalten die löslichen Polypeptide das native Signalpeptid oder ein heterologes Signalpeptid. So enthalten Beispiele von löslichen IL-1Rrp1-Polypeptiden die Aminosäuren 1-329 von SEQ ID NO:4 (menschliches IL-1Rrp1) und die Aminosäuren 1-322 von SEQ ID NO:8 (Mäuse-IL-1Rrp1). Beispiele von löslichen AcPL-Polypeptiden enthalten die Aminosäuren 1-356 von SEQ ID NO:2 (menschliches AcPL) und die Aminosäuren 1-356 von SEQ ID NO:6 (Mäuse-AcPL).

**[0021]** Ein lösliches Fusionsprotein, das den extrazellulären Bereich von IL-1Rrp1 von SEQ ID NO:4 enthält, das mit einem Polypeptid der Antikörper-Fc-Region verschmolzen wurde, und den extrazellulären Bereich von AcPL enthält, das mit einem Polypeptid der FC-Region verschmolzen wurde, wird in Beispiel 1 beschrieben.

**[0022]** Lösliches AcPL und lösliches IL-1Rrp1 können durch Abtrennen intakter Zellen, die das gewünschte Protein exprimieren, aus dem Kulturmedium, z.B. durch Zentrifugieren und Untersuchung des Mediums (Überstandes) auf Anwesenheit des gewünschten Proteins identifiziert (und von ihren nichtlöslichen membrangebundenen Duplikaten unterschieden) werden. Das Kulturmedium kann mit Verfahren untersucht werden, die den unten in den Beispielen beschriebenen ähnlich sind oder mit diesen übereinstimmen. Die Anwesenheit von AcPL oder IL-1Rrp1 im Medium zeigt an, dass das Protein von der Zelle sezerniert wurde und daher eine lösliche Form des gewünschten Proteins darstellt. Lösliches AcPL und lösliches IL-1Rrp1 können natürlich vorkommende Formen dieser Proteine sein. Alternativ können lösliche Fragmente von AcPL und IL-1Rrp1 mit rekombinanter DNA-Technik produziert oder auf andere Weise isoliert werden, wie unten beschrieben.

**[0023]** Die Verwendung löslicher Formen von IL-1Rrp1 und AcPL ist für bestimmte Anwendungen vorteilhaft. Die Reinigung der Proteine von rekombinanten Wirtszellen wird erleichtert, da die löslichen Proteine von den Zellen sezerniert werden. Weiters ist ein Rezeptor der vorliegenden Erfindung, der lösliche IL-1Rrp1- und AcPL-Proteine enthält, im allgemeinen für die intravenöse Verabreichung geeigneter.

**[0024]** In Bezug auf die vorangehende Diskussion der Signalpeptide und der verschiedenen Bereiche der IL-1Rrp1- und AcPL-Proteine wird ein Fachmann erkennen, dass die oben beschriebenen Grenzen solcher Bereiche der Proteine nur angenähert sind. Obwohl zum Beispiel Computerprogramme verfügbar sind, die den Ort des Abtrennens eines Signalpeptids vorhersagen, kann die Abtrennung an anderen als den vorhergesagten auftreten. Weiterhin wird anerkannt werden, dass eine Proteinpräparation eine Mischung von Proteinmolekülen enthalten kann, die auf Grund der Abtrennung des Signalpeptids an mehr als einer Stelle verschiedene N-terminale Aminosäuren besitzen. Daher gehören zu den löslichen IL-1Rrp1- und AcPL-Polypeptiden, die den extrazellulären Bereich enthalten, auch diejenigen mit einer C-terminalen Aminosäure, wobei die letztere sich von der oben als C-Terminus des extrazellulären Bereichs festgestellten unterscheiden kann. Außerdem kann die post-translationale Verarbeitung, die entsprechend dem eingesetzten speziellen Expressionssystem wechseln kann, Proteine mit unterschiedlichen N-Termini ergeben. Solche Varianten, die die gewünschte biologische Aktivitäten beibehalten, werden mit den Begriffen „IL-1Rrp1-Polypeptide“ und „AcPL-Polypeptide“ erfasst, wie sie hier verwendet werden.

**[0025]** Trunkiertes IL-1Rrp1 und AcPL, einschließlich der löslichen Polypeptide, kann mit einer Reihe von herkömmlichen Verfahren hergestellt werden. Im Fall von rekombinanten Proteinen kann ein DNA-Fragment, das ein gewünschtes Fragment codiert, in einen Expressionsvektor subkloniert werden. Alternativ kann eine gewünschte DNA-Sequenz chemisch mit bekannten Verfahren synthetisiert werden. DNA-Fragmente können auch durch Restriktionsendonuclease-Abbau einer geklonten DNA-Sequenz voller Länge erzeugt und durch Elektrophorese auf Agarosegelen isoliert werden. Linker, die Restriktionsendonuclease-Abtrennort(e) enthal-

ten, können zum Einfügen des gewünschten DNA-Fragments in einen Expressionsvektor eingesetzt werden, oder das Fragment kann an den natürlich darin vorkommenden Abtrennorten digeriert werden. Oligonukleotide, die den N- oder C-Terminus eines DNA-Fragments bis zu einem gewünschten Punkt rekonstruieren, können synthetisiert werden. Das Oligonukleotid kann einen Restriktionsendonuclease-Abtrennort stromaufwärts von der gewünschten Codiersequenz enthalten und ein Initiationscodon (ATG) am N-Terminus der Codiersequenz positionieren.

**[0026]** Das wohlbekannte Verfahren der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) kann auch dazu verwendet werden, eine DNA-Sequenz, die ein gewünschtes Proteinfragment codiert, zu isolieren. Oligonukleotid-Primer, die die gewünschten Termini des Fragments enthalten, werden in solch einer Polymerase-Kettenreaktion eingesetzt. Es kann jedes geeignete PCR-Verfahren verwendet werden. Ein solches Verfahren wird in Saiki et al., Science 239:487 (1988) beschrieben. Ein anderes wird in Recombinant DNA Methodology, Wu et al., Academic Press Inc., San Diego (1989), S. 189-196 beschrieben. Im allgemeinen enthalten PCR-Reaktionen die Kombination der 5'- und 3'-Oligonukleotid-Primer mit Matrizen-DNA (in diesem Fall IL-1Rrp1- oder AcPL-DNA) und jedem der vier Desoxynukleosid-Triphosphate in einer geeigneten gepufferten Lösung. Die Lösung wird erwärmt (z.B. von 95°C auf 100°C), um die doppelsträngige DNA-Matrize zu denaturieren, und wird dann vor dem Hinzufügen eines DNA-Polymeraseenzym abgekühlt. Es werden mehrere Reaktionszyklen ausgeführt, um die gewünschten DNA-Fragmente zu amplifizieren.

**[0027]** Das AcPL-Polypeptid wird an das IL-1Rrp1-Polypeptid durch kovalente oder nicht-kovalente Bindung angeheftet. Kovalente Anheftung wird für bestimmte Anwendungen, z.B. in vivo-Verwendung in Anbetracht der erhöhten Stabilität bevorzugt, die allgemein durch kovalente Bindungen im Gegensatz zu nicht-kovalenten Bindungen erbracht wird. Beim Aufbauen des Rezeptors der vorliegenden Erfindung kann die kovalente Verbindung durch quervernetzende Reagenzien, Peptid-Linker oder ein anderes geeignetes Verfahren verwirklicht werden.

**[0028]** Es sind zahlreiche Reagenzien, die für die Quervernetzung eines Proteinmoleküls mit einem anderen nützlich sind, bekannt. Heterobifunktionale und homobifunktionale Linker stehen für diesen Zweck von der Firma Pierce Chemical, Rockford, Illinois, zur Verfügung. Solche Linker enthalten zwei funktionelle Gruppen (z.B. Ester und/oder Maleimide), die mit bestimmten funktionellen Gruppen an Aminosäureseitenketten reagieren, wodurch ein Polypeptid mit einem anderen verbunden wird.

**[0029]** Ein Typ von Peptidlinker, der in der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden kann, trennt AcPL- und IL-1Rrp1-Bereiche durch einen Abstand, der ausreicht um zu sichern, dass sich jeder Bereich in die sekundären und tertiären Strukturen faltet, die für die gewünschte biologische Aktivität erforderlich sind. Der Linker muss es auch möglich machen, dass die extrazellulären Bereiche von AcPL und IL-1Rrp1 die richtige räumliche Orientierung annehmen, um so den Bindungsort für IL-18 zu bilden.

**[0030]** Geeignete Peptidlinker sind im Fachgebiet bekannt und können nach herkömmlichen Verfahren eingesetzt werden. Unter den geeigneten Peptidlinkern sind diejenigen, die in den US-Patenten 4,751,180 und 4,935,233 beschrieben werden, welche hiermit durch Bezugnahme aufgenommen werden. Ein Peptidlinker kann mit einem der herkömmlichen Verfahren angeheftet werden, mit denen ein Polypeptid an ein anderes angeheftet wird. Die quervernetzenden Reagenzien, die von der Firma Pierce Chemical erhältlich sind, wie oben beschrieben, gehören zu denen, die eingesetzt werden können. Aminosäuren mit Seitenketten, die mit solchen Reagenzien reagieren können, können in den Peptidlinker integriert werden, z.B. an dessen Termini. Vorzugsweise wird ein Fusionsprotein, das AcPL verbunden mit IL-1Rrp1 über einen Peptidlinker enthält, mittels rekombinanter DNA-Technologie präpariert.

**[0031]** In einer Ausführungsform der Erfindung werden AcPL und IL-1Rrp1 über Polypeptide verbunden, die aus Immunglobulinen abgeleitet sind. Die Präparation von Fusionsproteinen, die heterologe Polypeptide, mit verschiedenen Teilen der aus Antikörpern abgeleiteten Polypeptide (einschließlich des Fc-Bereichs) verschmolzen, enthalten, wurde beschrieben, z.B. von Ashkenazy et al. (PNAS USA 88:10535, 1991) und Byrn et al. (Nature 344:677, 1990). Beispielsweise kann ein Polypeptid, das aus dem Fc-Bereich eines Antikörpers abgeleitet wurde, am C-Terminus von IL-1Rrp1 angeheftet werden. Ein separates Fc-Polypeptid wird am C-Terminus von AcPL angeheftet. Disulfidbindungen bilden sich zwischen den zwei Fc-Polypeptiden (z.B. in der so genannten Hinge-Region, in der Disulfidbindungen zwischen den Ketten normalerweise in Antikörpermolekülen vorkommen), die ein Heterodimer erzeugen, welches das mit dem IL-1Rrp1/Fc-Fusionsprotein verbundene AcPLFc-Fusionsprotein enthält. Vorteilhafterweise werden Wirtszellen mit zwei unterschiedlichen Expressionsvektoren co-transfiziert, wobei einer lösliches IL-1Rrp1/Fc codiert und der andere lösliches AcPL/Fc codiert. Es wird angenommen, dass das Heterodimer sich intrazellulär oder während der Sekretion bildet.

**[0032]** Der Begriff „Fc-Polypeptid“, wie er hier verwendet wird, schließt native und Muteinformen sowie trunkierte Fc-Polypeptide ein, die die Hinge-Region enthalten, welche die Dimerisation fördert. cDNA, die ein einzelnes Kettenpolypeptid codiert, das aus der Fc-Region eines menschlichen IgG1-Antikörpers abgeleitet wurde, kann zum pBluescript SK<sup>®</sup> klonierenden Vektor (Stratagene Cloning Systems, LaJolla, CA) kloniert werden, um einen rekombinanten, hlgG1Fc genannten Vektor zu produzieren. Eine einmalig vorhandene BglII Stelle befindet sich in der Nähe des 5'-Endes der eingefügten, Fc codierenden Sequenz. Eine SpeI-Stelle befindet sich unmittelbar stromabwärts vom Terminationscodon. Das Fc-Polypeptid, das von der cDNA codiert wird, erstreckt sich von der N-terminalen Hinge-Region bis zum nativen C-Terminus, d.h. ist eine Antikörper-Fc-Region mit im wesentlichen voller Länge. Ein geeignetes Mutein dieses Fc-Polypeptids wird in der US-Patentanmeldung Serien-Nr. 08/097,827 beschrieben, die hiermit durch Bezugnahme aufgenommen wird. Das Mutein weist eine reduzierte Affinität zu Fc-Rezeptoren auf.

**[0033]** Homodimere, die aus zwei IL-1Rrp1/Fc-Polypeptiden oder aus zwei AcPL/Fc-Polypeptiden bestehen, welche über Disulfidbindungen miteinander verbunden sind, werden auch durch bestimmte transfizierte Wirtszellen erzeugt, wie hier dargelegt wird. Die Homodimere können voneinander und vom Heterodimer auf Grund von Größenunterschieden (z.B. durch Gelelektrophorese) getrennt werden. Das Heterodimer kann auch durch sequentielle Immun-Affinitätschromatographie (wird unten beschrieben) gereinigt werden.

**[0034]** IL-18-Rezeptorkomplexe der vorliegenden Erfindung schließen Fusionsproteine der konstanten Region einer Antikörper-Leichtkette (oder eines Fragmentes derselben) und die konstante Region einer Antikörper-Schwerkette (oder eines Fragmentes derselben) ein. Die konstante Region der Schwerkette kann alle vier Bereiche der konstanten Region oder einen Teil der Bereiche enthalten, einschließlich des CH<sub>1</sub>, das die leichte Kette, die H-Hinge-Region und die CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Bereiche verbindet, welche für die Dimerisation der Moleküle der schweren Kette verantwortlich sind. Im Rahmen des Vorhergehenden sind Fusionsproteine Tetramere, die von 2 Dimeren gebildet werden, welche Schwerketten-/Leichtkettendimere über Disulfidbrücken zwischen ihren jeweiligen Schwerkettenbereichen verbinden.

**[0035]** Bezüglich der Immunglobulin-Leichtkettenpolypeptide sind Polypeptide der κ-Familie und der λ-Familie in der Praxis der vorliegenden Erfindung geeignet. Also kann jeder Typ von Immunglobulin-Dimer oder Tetramer, einschließlich IgM, IgD, IgG, IgA und IgE, die Grundlage für die Heteromermoleküle der vorliegenden Erfindung darstellen.

**[0036]** In Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung können funktionelle heteromere Polypeptide durch Zusammenschluss zwischen mehreren Schwer- und mehreren Leichtkettenmolekülen hergestellt werden, die sich normalerweise miteinander zusammenschließen. Zum Beispiel wird die konstante Region von menschlichem IgG sich mit der konstanten Region von menschlichem Leichtketten-κ (als Cκ bezeichnet) zusammenschließen. Die Aminosäuresequenz der konstanten Region von hlgG1 ist berichtet worden (Ellison, JW, Berson, BJ und Hood, LE, 1982). Die Nukleotidsequenz eines menschlichen Immunglobulin-C-gamma 1-Gens ist berichtet worden (Nuc. Acids Res. 10:4071, und Walls, MA, Hsiao, KC und Harris, LJ, 1993). Vektoren für die Expression von PCR-amplifizierten variablen Immunglobulinbereichen mit menschlichen konstanten Regionen sind veröffentlicht (Nuc. Acids Res. 21:2921). Die Sequenz von menschlichem Leichtketten-ck ist ebenfalls berichtet worden (Shuford, W, Raff, HV, Finley, JW, Esselstyn, J, und Harris, LJ, 1991). Wirkung der Duplikation der Leichtketten-V-Region auf die IgG-Oligomerisierung und die in vivo-Wirksamkeit, Science 252:724, und Steinberger, P, Kraft, D, und Valenta, R (1996). Konstruktion einer kombinatorischen IgG-Bibliothek aus einem allergischen Patienten. Isolation und Charakterisierung von menschlichen IgE-Fab-Fragmenten mit Spezifität für das größere Pollenallergen vom Wiesen-Fuchsschwanz, Fh1 p5, J. Biol. Chem 271:10972).

**[0037]** Ausführungsformen des IL-18-Rezeptors, die Schwer- und Leichtketten-Antikörper-Regionen enthalten, sind Fusionsproteine, die durch die Formeln  
 $R_1-L_1:R_2-L_2$  oder  $R_2-L_2:R_1-L_1$  oder  $R_1-L_2:R_2-L_1$  oder  $R_2-L_1:R_1-L_2$   $R_1-L_1:R_2-L_2/R_2-L_2:R_1-L_1$  oder  $R_1-L_2:R_2-L_1/R_2-L_1:R_1-L_2$   
dargestellt werden, wobei L<sub>1</sub> ein Immunglobulin-Schwerkettenfragment ist, dessen N-Terminus sich mindestens durch die C<sub>H1</sub>-Region erstreckt; L<sub>2</sub> ist ein Immunglobulin-Leichtkettenfragment; R<sub>1</sub> ist AcPL oder ein AcPL-Fragment; R<sub>2</sub> ist IL-1Rrp1 oder ein IL-1Rrp1-Fragment; bezeichnet Verbindungen zwischen einer Schwerkette und einer Leichtketten-Antikörperregion, und „/“ bezeichnet Verbindungen zwischen einer Schwerkette und einer Schwerketten-Antikörperregion. Im Fall eines Dimers enthält das sich ergebende Fusionspolypeptid zwei Rezeptoruntereinheiten, die durch eine schwere Kette/leichte Kette verbunden sind. Im Fall eines Tetramers enthält das Fusionsprotein vier Rezeptoruntereinheiten und ähnelt in der Struktur einem Antikörper, der den IL-18-Bindungsort bivalent anzeigt.

**[0038]** Um die vorhergehenden Fusionspolypeptide zu erhalten, kann cDNA, die ein Antikörper-Schwerkettenpolypeptid codiert, das aus menschlichem IgG1-Antikörper ( $\text{CH}_1\text{-H-CH}_2\text{-CH}_3$ ) abgeleitet wurde, zu einem pDC409-Expressionsvektor kloniert werden, um einen rekombinanten, als hlgG1 bezeichneten Vektor zu produzieren. Eine einmalig vorkommende BglII-Stelle befindet sich in der Nähe des 5'-Endes der eingefügten schweren Kette, die die Sequenz codiert. Eine NotI-Stelle liegt unmittelbar stromabwärts vom Terminationscodon. Das Schwerketten-Polypeptid, das durch die cDNA codiert wird, erstreckt sich vom N-Terminus der  $\text{CH}_1$ -Region bis zum nativen C-Terminus. Um eine Antikörper-Leichtkette zu erhalten, kann cDNA, die ein Einzelketten-Polypeptid codiert, welches aus den konstanten Regionen menschlicher Kappa-Ketten abgeleitet wurde, zum pDC409-Expressionsvektor kloniert werden, um einen als hlgk bezeichneten rekombinanten Vektor zu erzeugen. Diese Sequenz wird am 5'-Ende von einer einmalig vorkommenden BglII-Stelle und am 3'-Ende von einer einmalig vorkommenden NotI-Stelle flankiert. Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, die solche Antikörper-Polypeptide enthalten, schließen ein erstes Fusionspolypeptid ein, das AcPL (oder ein Fragment desselben) stromaufwärts von der konstanten Region einer Antikörper-Leichtkette (oder eines Fragmentes derselben) enthält, und ein zweites Fusionspolypeptid, das IL-1Rrp1 stromaufwärts von der konstanten Region einer Antikörper-Schwerkette (oder eines Schwerkettenfragmentes) enthält, deren N-Terminus sich zumindest durch die  $\text{C}_H1$ -Region erstreckt. Disulfidbindung(en) bilden sich zwischen dem AcPL-Leichtketten-Fusionspolypeptid und dem IL-1Rrp1-Schwerketten-Fusionspolypeptid, wodurch ein Rezeptor der vorliegenden Erfindung erzeugt wird. Als weitere Alternative wird ein IL-1Rrp1-Antikörper-Leichtketten-Fusionspolypeptid hergestellt und mit einem Fusionsprotein kombiniert (durch Disulfidbindungen an einem Fusionsprotein befestigt), das ein AcPL-Antikörper-Schwerketten-Fusionspolypeptid enthält. Wenn zwei der vorhergehenden disulfidgebundenen Moleküle kombiniert werden, bilden sich zusätzliche Disulfidbindungen zwischen den zwei Antikörperregionen. Der resultierende Rezeptor der vorliegenden Erfindung, der vier Fusionspolypeptide enthält, ähnelt in der Struktur einem Antikörper und zeigt den IL-18-Bindungsort bivalent an.

**[0039]** Die AcPL- und IL-1Rrp1-Polypeptide können getrennt von zellulären Rückständen befreit und dann miteinander verbunden werden. Alternativ kann der Rezeptor der vorliegenden Erfindung mittels rekombinanter DNA-Technologie hergestellt werden. Die AcPL- und IL-1Rrp1-Polypeptide können getrennt hergestellt und von transformierten Wirtszellen für die nachfolgende kovalente Verbindung gereinigt werden. In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird eine Wirtszelle mit fremder DNA, die AcPL und IL-1Rrp1 als getrennte Polypeptide codiert, transformiert/transfiziert. Die zwei Polypeptide können durch denselben Expressionsvektor mit Initiationscodon und Terminationscodon für jedes der zwei Gene codiert werden, oder die rekombinanten Zellen können mit zwei getrennten Expressionsvektoren co-transfiziert werden. In einer anderen Ausführungsform wird der Rezeptor als Fusionsprotein in rekombinanten Zellen hergestellt.

**[0040]** In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das Rezeptorprotein ein rekombinantes Fusionsprotein der Formel:

$R_1\text{-L-R}_2$  oder  $R_2\text{-L-R}_1$

wobei  $R_1$  AcPL oder ein AcPL-Fragment darstellt,  $R_2$  IL-1Rrp1 oder ein IL-1Rrp1-Fragment darstellt und L einen Peptidlinker darstellt.

**[0041]** Die Fusionsproteine der vorliegenden Erfindung schließen Konstrukte ein, bei denen der C-terminale Anteil von AcPL mit dem Linker verschmolzen ist, der mit dem N-terminalen Anteil von IL-1Rrp1 verschmolzen ist, und schließt auch Konstrukte ein, bei denen der C-terminale Anteil von IL-1Rrp1 mit dem Linker verschmolzen ist, der mit dem N-terminalen Anteil von AcPL verschmolzen ist. AcPL ist kovalent so mit IL-1Rrp1 verbunden, dass ein einziges Protein erzeugt wird, das die gewünschte biologische Aktivität von AcPL und IL-1Rrp1 behält. Die Komponenten des Fusionsproteins sind in der Reihenfolge ihres Auftretens aufgelistet (d.h. das N-terminale Polypeptid wird zuerst aufgeführt, gefolgt vom Linker und dann das C-terminale Polypeptid).

**[0042]** Eine DNA-Sequenz, die ein Fusionsprotein codiert, wird mittels rekombinanter DNA-Technologien aufgebaut, um getrennte DNA-Fragmente, die AcPL und IL-1Rrp1 codieren, in einen geeigneten Expressionsvektor einzufügen. Das 3'-Ende eines DNA-Fragmentes, das AcPL codiert, wird (mittels Linker) am 5'-Ende des DNA-Fragmentes befestigt, das IL-1Rrp1 codiert, wobei sich der Leserahmen der Sequenzen in Phase befindet, um die Translation der mRNA in ein einziges biologisch aktives Fusionsprotein zu ermöglichen. Alternativ kann das 3'-Ende eines DNA-Fragments, das IL-1Rrp1 codiert, (mittels Linker) mit dem 5'-Ende des DNA-Fragments verbunden werden, das AcPL codiert, wobei sich der Leserahmen der Sequenzen in Phase befindet, um die Translation der mRNA in ein einziges biologisch aktives Fusionsprotein zu ermöglichen. Eine DNA-Sequenz, die eine N-terminale Signalsequenz codiert, kann auf der DNA-Sequenz beibehalten werden, welche das N-terminale Polypeptid codiert, während Terminationscodons, die das Überlesen bis zur zweiten (C-terminalen) DNA-Sequenz verhindern würden, beseitigt werden. Umgekehrt wird ein Terminationscodon, das zum Beenden der Translation benötigt wird, in der zweiten DNA-Sequenz beibehalten. DNA, die eine Signalse-



quenz codiert, wird vorzugsweise aus der DNA-Sequenz entfernt, die das C-terminale Polypeptid codiert.

**[0043]** Eine DNA-Sequenz, die einen gewünschten Polypeptidlinker codiert, kann zwischen und in denselben Leserahmen wie DNA-Sequenzen eingefügt werden, die AcPL und IL-1Rrp1 codieren, wobei jedes geeignete konventionelle Verfahren verwendet wird. Zum Beispiel kann ein chemisch synthetisiertes Oligonucleotid, das den Linker codiert und geeignete Restriktionsendonuclease-Abtrennorte enthält, zwischen den Sequenzen verbunden werden, die AcPL und IL-1Rrp1 codieren.

**[0044]** Alternativ kann eine chemisch synthetisierte DNA-Sequenz eine Sequenz enthalten, die komplementär zum 3'-Terminus (ohne das Terminationscodon), entweder von AcPL oder von IL-1Rrp1, ist, gefolgt von einer den Linker codierenden Sequenz, der eine Sequenz folgt, welche komplementär zum 5'-Terminus des anderen Elementes von AcPL oder von IL-1Rrp1 ist. Dann wird eine oligonucleotid-gerichtete Mutagenese verwendet, um die linker-codierende Sequenz in einen Vektor einzufügen, der eine direkte Verschmelzung von AcPL und IL-1Rrp1 enthält.

**[0045]** Die vorliegende Erfindung stellt isolierte DNA-Sequenzen bereit, die die oben beschriebenen, AcPL, IL-1Rrp1 und einen Peptidlinker enthaltenden Fusionsproteine codieren. DNA, die die hier offen gelegten AcPL-Polypeptide codiert, wird ebenfalls bereitgestellt, genau so wie DNA, die AcPL-Polypeptide codiert, welche mit aus Immunglobulin abgeleiteten Polypeptiden verschmolzen sind. AcPL-codierende DNA, die von der vorliegenden Erfindung erfaßt wird, enthält zum Beispiel cDNA, chemisch synthetisierte DNA, DNA, die durch PCR isoliert wurde, genomische DNA und eine Kombination derselben.

**[0046]** Ebenfalls hier erfaßt sind rekombinante Expressionsvektoren, die die isolierten DNA-Sequenzen enthalten. „Expressionsvektor“ bezieht sich auf ein replizierbares DNA-Konstrukt, das zur Expression von DNA verwendet wird, die das gewünschte Protein codiert und die eine Transkriptionseinheit enthält, welche eine Anordnung von folgendem umfasst: (1) genetisch/es Element(e), das eine Regulationsrolle bei der Genexpression spielt, zum Beispiel Promotoren, Operatoren oder Verstärker, die operativ verbunden sind mit (2) einer DNA-Sequenz, die das gewünschte Protein codiert, welche in mRNA transkribiert und in Protein translatiert wird, und (3) geeignete Transkriptions- und Translationsinitiations- und -terminationssequenzen.

**[0047]** Die Wahl des Promotors und anderer Regulationselemente ändert sich im allgemeinen je nach der vorgesehenen Wirtszelle.

**[0048]** Bei den Expressionsvektoren werden Regulationselemente, die die Transkription oder Translation regulieren, im allgemeinen aus Säugetier-, mikrobiellen, viralen oder Insektengenen abgeleitet. Die Fähigkeit, sich in einem Wirt zu replizieren, die normalerweise durch einen Ursprung der Replikation und ein Auswahlgen zur erleichterten Erkennung von Transformanten vermittelt wird, kann zusätzlich eingebaut werden. Es können auch Vektoren, die von Retroviren abgeleitet wurden, eingesetzt werden.

**[0049]** DNA-Regionen werden funktionsfähig verknüpft, wenn sie funktionell zueinander in Beziehung stehen. Zum Beispiel wird DNA, die ein Signalpeptid (Sekretionsvorsequenz) codiert, funktionsfähig mit DNA für ein Polypeptid verknüpft, wenn das Polypeptid als Präkursor exprimiert wird, der durch die Membran der Wirtszelle sezerniert wird; ein Promotor wird funktionsfähig mit einer codierenden Sequenz verknüpft, wenn sie die Transkription der Sequenz reguliert, und ein Ribosom-Bindungsort wird funktionsfähig mit einer codierenden Sequenz verknüpft, wenn sie so angeordnet ist, dass sie die Translation ermöglicht. Allgemein gesagt, bedeutet „funktionsfähig verknüpft“ aneinander grenzend und im Fall von Sekretionsvorsequenzen aneinander grenzend und im Leserahmen.

**[0050]** Transformierte Wirtszellen sind Zellen, die mit fremder DNA mittels rekombinanter DNA-Verfahren transformiert oder transfiziert wurden. Im Kontext der vorliegenden Erfindung enthält die fremde DNA eine Sequenz, die die Proteine der Erfindung codiert. Wirtszellen können zum Zweck der Klonierung oder Amplifizierung der fremden DNA transformiert werden oder können mit einem Expressionsvektor zur Herstellung des Proteins transformiert werden. Geeignete Wirtszellen sind Prokaryonten, Hefe- oder höhere eukaryotische Zellen. Geeignete Klonierungs- und Expressionsvektoren zur Anwendung bei bakteriellen, Pilz-, Hefe- und Säugetierzellwirten werden von Pouwels et al., (Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, New York, 1985) beschrieben; deren relevante Offenlegung hierin durch Verweis eingebracht wird.

**[0051]** Prokaryonten schließen gram-negative oder gram-positive Organismen ein, zum Beispiel E. coli oder bacilli. Prokaryotische Expressionsvektoren enthalten im allgemeinen einen oder mehrere phänotypische wählbare Marker, zum Beispiel ein Gen, das Proteine codiert, welche antibiotische Resistenz vermitteln oder

eine autotrophe Anforderung liefern, und einen Replikationsursprung, der vom Wirt erkannt wird, um so die Amplifikation innerhalb des Wirts sicherzustellen. Beispiele geeigneter prokaryotischer Wirte für die Transformation sind u.a. *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhimurium* und verschiedene Arten innerhalb der Gattungen *Pseudomonas*, *Streptomyces* und *Staphylococcus*, obwohl andere ebenfalls als Mittel der Wahl verwendet werden können.

**[0052]** Nützliche Expressionsvektoren für den Gebrauch bei Bakterien enthalten einen selektierbaren Marker und bakteriellen Ursprung der Replikation, der von handelsüblichen Plasmiden abgeleitet wird, welche genetische Elemente des wohlbekannten Klonierungsvektors pBR322 (ATCC 37017) enthalten. Solche kommerziellen Vektoren sind zum Beispiel pKK223-3 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Schweden) und pGEM1 (Promega Biotec, Madison, WI, USA). Diese pBR322-„Hauptkettenabschnitte“ werden mit einem geeigneten Promotor und der zu exprimierenden strukturellen Sequenz kombiniert. *E. coli* wird im typischen Fall mittels der Derivate von pBR322 transformiert, einem Plasmid, das aus einer *E. coli*-Art abgeleitet wurde (Bolivar et al., Gene 2:95, 1977). pBR322 enthält Gene für die Ampicillin- und Tetrazyklin-Resistenz, und dies stellt ein einfaches Mittel zur Identifizierung transformierter Zellen dar.

**[0053]** Zu den Promotoren, die häufig in rekombinanten mikrobiellen Expressionsvektoren verwendet werden, gehören das  $\beta$ -Lactamase- (Penicillase) und Laktose-Promotorsystem (Chang et al., Nature 275:615, 1978; und Goeddel et al., Nature 281:544, 1979), das Tryptophan- (trp) Promotorsystem (Goeddel et al., Nucl. Acids Res. 8:4057, 1980, und EPA 36, 776) und der tac-Promotor (Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, S. 412, 1982). Ein besonders nützliches bakterielles Expressionssystem verwendet den Phagen- $\lambda$ -P<sub>L</sub>-Promotor und den thermoinduzierbaren cl857ts-Repressor. Von American Type Culture Collection erhältliche Plasmidvektoren, die Derivate des  $\lambda$ -P<sub>L</sub>-Promotors enthalten, sind u.a. Plasmid pHUB2, das im *E. coli*-Stamm JMB9 (ATCC 37092) ansässig ist, und pPLc28, das in *E. coli* RR1 (ATCC 53082) ansässig ist.

**[0054]** Das rekombinante Rezeptorprotein kann auch in Hefewirtszellen exprimiert werden, vorzugsweise aus *Saccharomyces*-Arten, wie z.B. *S. cerevisiae*. Hefe anderer Gattungen wie *Pichia* oder *Kluyveromyces* können ebenfalls eingesetzt werden, Hefevektoren enthalten im allgemeinen einen Replikationsursprung aus dem 2  $\mu$ m-Hefepiasmid oder eine autonom replizierende Sequenz (ARS), einen Promotor, DNA, die das Rezeptor-Fusionsprotein codiert, Sequenzen für die Polyadenylierung und Transkriptionsterminierung und ein Selektionsgen. Vorzugsweise enthalten Hefevektoren einen Replikationsursprung und selektierbare Marker, die eine Transformation sowohl der Hefe als auch von *E. coli* ermöglichen, z.B. das Ampicillin-Resistenz-Gen von *E. coli* und das *S. cerevisiae*-trp1-Gen, das einen Selektionsmarker für einen mutierten Stamm von Hefe bereitstellt, welchem die Fähigkeit fehlt, in Tryptophan zu wachsen, und einen Promotor, der aus einem hoch exprimierten Hefegen abgeleitet wurde, damit er die Transkription einer strukturellen Sequenz stromabwärts induziert. Das Vorliegen der trp1-Läsion im Hefewirtszellgenom bietet dann eine wirksame Umgebung zur Feststellung der Transformation durch Wachstum in Abwesenheit von Tryptophan.

**[0055]** Geeignete Promotorsequenzen in Hefevektoren sind u.a. die Promotoren für Metallthionein, 3-phosphoglyceratkinase (Hitzeman et al., J. Biol. Chem. 255:2073, 1980) oder andere glykolytische Enzyme (Hess et al., J. Adv. Enzyme Reg. 7:149, 1968; und Holland et al., Biochem. 17:4900, 1978), wie z.B. Enolase, Glyceraldehyd-3-phosphatdehydrogenase, Hexokinase, Pyruvatdecarboxylase, Phosphofruktokinase, Glucose-6-phosphatisomerase, 3-Phosphoglyceratmutase, Pyruvatkinase, Triosephosphatisomerase, Phosphoglucose-Isomerase und Glucokinase. Geeignete Vektoren und Promotoren zur Anwendung für die Hefeeexpression werden weiter in R. Hitzeman et al., EPA 73, 657 beschrieben.

**[0056]** Bevorzugte Hefevektoren können mittels DNA-Sequenzen aus pBR322 zur Selektion und Replikation in *E. coli* zusammengesetzt werden (Amp<sup>r</sup>-Gen und Replikationsursprung) und Hefe-DNA-Sequenzen einschließlich eines glucosereprimierbaren ADH2-Promotors und einem  $\alpha$ -Faktor-Sekretionsleader. Der ADH2-Promotor wurde von Russell et al., (J. Biol. Chem. 258:2674, 1982) und Beier et al., (Nature 300:724, 1982) beschrieben. Die Hefe- $\alpha$ -Faktor-Sekretionsvorsequenz, die die Sekretion heterologer Proteine lenkt, kann zwischen den Promotor und das zu exprimierende strukturelle Gen eingefügt werden. Siehe z.B. Kurjan et al., Cell 30:922, 1982; und Bitter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:5330, 1984. Die Leader-Sequenz kann so modifiziert werden, dass sie in der Nähe ihres 3'-Endes einen oder mehrere Restriktionsorte enthält, um so die Fusion der Leader-Sequenz mit Fremdgenen zu erleichtern.

**[0057]** Geeignete Hefetransformationsprotokolle sind den Fachleuten auf diesem Gebiet bekannt. Ein beispielhaftes Verfahren wird von Hinnen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:1929, (1978), beschrieben, das nach Trp\*-Transformanten in einem selektiven Medium auswählt, welches aus 0,67% Hefestickstoffbase, 0,5% Ca-

samino Acid, 2% Glucose, 10 µg/mL Adenin und 20 µg/ml Urazil besteht.

**[0058]** Wirtsstämme, die von Vektoren mit dem ADH2-Promotor transformiert wurden, können zur Expression in einem reichhaltigen Medium gezüchtet werden, das aus 1 % Hefeextrakt, 2% Pepton und 1% Glucose besteht, ergänzt durch 80 µg/mL Adenin und 80 µg/mL Urazil. Die Derepression des ADH2-Promotors tritt bei Erschöpfung der Glucose des Mediums auf. Rohe Hefeüberstände werden durch Filtration abgeschöpft und bei 4°C vor der Reinigung aufbewahrt.

**[0059]** Verschiedene Säugetier- oder Insektenzellkultursysteme können zur Expression des rekombinanten Proteins eingesetzt werden. Baculovirussysteme zur Herstellung von heterologen Proteinen in Insektenzellen werden von Luckow und Summers, *Bio/Technology* 6:47 (1988) untersucht. Beispiele geeigneter Säugetierwirtszelllinien sind L-Zellen, C127-, 3T3-, Ovarialzellen des chinesischen Hamsters (CHO), HeLa- und BKK-Zelllinien. Zusätzliche geeignete Säugetierwirtszellen sind CV-1-Zellen (ATCC CCL70) und COS-7-Zellen (ATCC CRL 1651; von Gluzman beschrieben, *Cell* 23:175, 1981), beide aus Affennieren erhalten. Eine andere Affennierenzelllinie, CV-1/EBNA (ATCC 10478), wurde durch Transfektion der CV-1-Linie mit einem Gen, das das Epstein-Barr-Viruskernantigen-1 (EBNA-1) codiert, und mit einem Vektor erhalten, der CMV-Regulationssequenzen enthält (McMahan et al., *EMBO J.* 10:2821, 1991). Das EBNA-1-Gen ermöglicht die episomale Replikation von Expressionsvektoren, wie z.B. HAV-EO oder pDC406, die den EBV-Replikationsursprung enthalten.

**[0060]** Säugetier-Expressionsvektoren können nicht-transkribierte Elemente, wie z.B. den Replikationsursprung, einen geeigneten Promotor und Verstärker, der mit dem zu exprimierenden Gen verbunden ist, und andere 5' oder 3' flankierende nichttranskribierte Sequenzen und 5' oder 3' nicht-translatierte Sequenzen enthalten, wie z.B. notwendige Ribosom-Bindungsstellen, eine Polyadenylierungsstelle, Splice-Donor- und Acceptorstellen sowie transkriptionale Terminationssequenzen. Die transkriptionalen und Translationskontrollsequenzen in Expressionsvektoren, die bei der Transformation von Wirbeltierzellen verwendet werden sollen, können von viralen Quellen bereitgestellt werden. Zum Beispiel werden häufig verwendete Promotoren und Verstärker von Polyoma, Adenovirus 2, Simian-Virus 40 (SV40) und menschlichem Zytomegalievirus abgeleitet. DNA-Sequenzen, die aus dem SV40-Virengenom abgeleitet sind, z.B. SV40-Ursprung, früher und später Promotor, Verstärker, Splice- und Polyadenylierungsstellen, können dazu verwendet werden, die anderen genetischen Elemente bereitzustellen, die für die Expression einer heterologen DNA-Sequenz benötigt werden. Die frühen und späten Promotoren sind besonders nützlich, weil beide leicht aus dem Virus als Fragment erhalten werden können, das auch den viralen SV40-Ursprung der Replikation enthält (Fiers et al., *Nature* 273:113, 1978). Kleinere oder größere SV40-Fragmente können ebenfalls verwendet werden, vorausgesetzt, die etwa 250 bp Sequenz, die sich vor der Hind III-Stelle bis zur BglII-Stelle erstreckt, die sich im viralen Ursprung der Replikation befindet, ist eingeschlossen.

**[0061]** Beispielhafte Vektoren können so konstruiert werden, wie von Okayama und Berg (*Mol. Cell Biol.* 3:280, 1983) offenbart wurde. Ein nützliches System für die stabile Expression von Säugetier-Rezeptor-cDNAs auf hohem Niveau in C127-Mäuse-Säugetierepithelialzellen kann im wesentlichen so, wie von Cosman et al., (*Mol. Immunol.* 23:935, 1986) beschrieben, konstruiert werden. Vektoren, die von Retroviren abgeleitet sind, können ebenfalls eingesetzt werden.

**[0062]** Wenn die Sekretion des AcPL- und/oder IL-1Rrp1-Proteins aus der Wirtszelle gewünscht wird, kann der Expressionsvektor die DNA enthalten, die ein Signal- oder ein Leader-Peptid codiert. Anstelle der nativen Signalsequenz kann eine heterologe Signalsequenz hinzugefügt werden, wie z.B. die Signalsequenz für Interleukin-7 (IL-7), die im US-Patent 4,965,195 beschrieben wird; die Signalsequenz für Interleukin-2-Rezeptoren, die in Cosman et al., *Nature* 312:768 (1984) beschrieben wurde; das Interleukin-4-Signalpeptid, das in EP 367,566 beschrieben wurde; das Typ I-Interleukin-1-Rezeptorsignalpeptid, das im US-Patent 4,968,607 beschrieben wurde, und das Typ II-Interleukin-1-Rezeptorsignalpeptid, das in EP 460,846 beschrieben wurde.

**[0063]** Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Herstellung der rekombinanten Proteine der vorliegenden Erfindung bereit, der die Kultivierung einer Wirtszelle enthält, welche mit einem Expressionsvektor transformiert wurde, welcher eine DNA-Sequenz enthält, die das vorerwähnte Protein unter expressionsfördernden Bedingungen codiert. Das gewünschte Protein wird dann aus Kulturmedien oder Zellextrakten gereinigt. Das gewünschte Protein kann AcPL, IL-1Rrp1 oder z.B. der heterodimere Rezeptor sein. Zelfreie Translationssysteme könnten ebenfalls dazu eingesetzt werden, das gewünschte Protein mittels RNA herzustellen, die aus der neuartigen DNA der vorliegenden Erfindung abgeleitet ist.

**[0064]** Als ein Beispiel können Überstände aus Expressionssystemen, die rekombinantes Protein in das Kul-

turmedium sezernieren, zuerst mit einem handelsüblichen Proteinkonzentrationsfilter, zum Beispiel einer Amicon- oder Millipore Pellicon-Ultrafiltrationseinheit, konzentriert werden. Nach dem Konzentrationsschritt kann das Konzentrat auf eine geeignete Reinigungsmatrix aufgetragen werden. Zum Beispiel kann eine geeignete Affinitätsmatrix IL-18 enthalten. Eine IL-18-Affinitätsmatrix kann durch Kopplung von rekombinantem menschlichem IL-18 an Cyanbromid-aktivierte Sepharose (Pharmacia) oder Hydrazid Affigel (Biorad) entsprechend den Herstellerempfehlungen hergestellt werden. Die sequentielle Immunreinigung unter Verwendung von Antikörpern, die an einen geeigneten Träger gebunden sind, wird bevorzugt. Proteine, die sich an einen für AcPL spezifischen Antikörper binden, werden zurückgewonnen und in Kontakt mit einem für IL-1Rrp1 spezifischen Antikörper auf einem unlöslichen Träger gebracht. Proteine, die immunologisch mit beiden Antikörpern reagieren, können so identifiziert und isoliert werden.

**[0065]** Alternativ kann ein Anionenaustauschharz eingesetzt werden, zum Beispiel eine Matrix oder ein Substrat, das Diethylaminoethyl (DEAE)-Seitengruppen besitzt. Die Matrices können Acrylamid, Agarose, Dextran, Zellulose oder andere häufig in der Proteinreinigung verwendete Arten sein. Alternativ kann eine Kationen-Austauschstufe eingesetzt werden. Geeignete Kationenaustauscher sind u.a. verschiedene unlösliche Matrices, die Sulfopropyl- oder Carboxymethylgruppen enthalten. Es werden Sulfopropylgruppen bevorzugt. Ein oder mehrere Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigchromatographieschritte (RP-HPLC) unter Einsatz von hydrophoben RP-HPLC-Medien, z.B. Silicagel, das Methyl- oder andere aliphatische Seitengruppen besitzt, können zur weiteren Reinigung eines Fusionsproteins verwendet werden.

**[0066]** Einige oder alle der vorhergehenden Reinigungsschritte können in verschiedenen Kombinationen eingesetzt werden, um ein im wesentlichen homogenes rekombinantes Protein zu erhalten. Rekombinante Zellkultur ermöglicht die Produktion des Fusionsproteins frei von denjenigen verunreinigenden Proteinen, die normalerweise mit IL-1Rrp1 oder AcPL verbunden sein können, wie sie in der Natur in ihren jeweiligen Ursprungsarten gefunden werden, z.B. auf der Oberfläche bestimmter Zelltypen.

**[0067]** Die vorhergehenden Reinigungsverfahren gehören zu denjenigen, die auch zur Reinigung nicht-rekombinanter Rezeptoren der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden können. Wenn Verfahren zum Verbinden eingesetzt werden, die Homodimere (IL-1Rrp1-Linker-IL-1Rrp1 und AcPL-Linker-AcPL) erzeugen können, werden Reinigungsverfahren, die das Heterodimer von solchen Homodimeren trennen, verwendet. Ein Beispiel für ein solches Verfahren ist die sequentielle Immunreinigung, wie oben diskutiert. In einer Ausführungsform wird AcPL (rekombinant oder nicht-rekombinant) so gereinigt, dass mittels SDS-PAGE keine Banden feststellbar sind, die anderen (verunreinigenden) Proteinen entsprechen.

**[0068]** Rekombinantes Protein, das in Bakterienkultur hergestellt wird, wird durch anfängliche Extraktion aus Zellpellets isoliert, gefolgt von einem oder mehreren Konzentrations-, Aussalzungs-, wässrigen Ionenaustausch- oder Gelfiltrationschromatographieschritten. Schließlich kann die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) für die letzten Reinigungsschritte eingesetzt werden. Mikrobielle Zellen, die bei der Expression von rekombinanten Fusionsproteinen eingesetzt werden, können durch eine geeignete Methode gespalten werden, wozu Frost-Tau-Wechsel, Beschallung, mechanische Zerstörung oder die Verwendung von Zellauflösungsmitteln gehören.

**[0069]** Die Fermentierung von Hefen, die Fusionsproteine als sezerniertes Protein exprimieren, vereinfacht die Reinigung erheblich. Sezerniertes rekombinantes Protein, das bei einer Fermentierung großen Maßstabs entsteht, kann mit ähnlichen Methoden, wie den von Urdal et al., (J. Chromatog. 296:171, 1984) geoffenbaren, gereinigt werden, dazu gehören zwei sequentielle Umkehrphasen-HPLC-Schritte für die Reinigung eines rekombinanten Proteins in einer präparativen HPLC-Säule.

**[0070]** Die DNA- oder Aminosäuresequenzen von IL-1Rrp1 oder AcPL können von denen in SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 und SEQ ID NO:7 dargestellten abweichen. Auf Grund der bekannten Degeneration des genetischen Codes kann es eine beträchtliche Variation in den Nucleotidsequenzen geben, die dieselbe Aminosäuresequenz codieren. Zusätzlich werden DNA-Sequenzen, die mit den nativen DNA-Sequenz von SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5 oder SEQ ID NO:7 unter mäßig stringenten oder sehr stringenten Bedingungen hybridisieren und die ein biologisch aktives IL-1Rrp1- oder AcPL-Polypeptid codieren können, auch als IL-1Rrp1-codierende oder AcPL-codierende DNA-Sequenzen im Kontext der vorliegenden Erfindung angesehen. Solche hybridisierenden Sequenzen schließen verschiedene Sequenzen (ohne darauf beschränkt zu sein), wie z.B. die unten beschriebenen, und DNA ein, die aus anderen Säugetierarten abgeleitet wurden.

**[0071]** Mäßig stringente Bedingungen sind Bedingungen, die zum Beispiel in Sambrook et al., Molecular Clo-

ning: A Laboratory Manual, 2. Ausgabe, Bd. 1, S. 1, 101-104, Cold Spring Harbor Press, 1989, beschrieben sind. Bedingungen mäßiger Stringenz, wie die von Sambrook et al., definierten, sind u.a. der Gebrauch einer Vorwaschlösung von 5X SSC, 0,5% SDS, 1,0 mM EDTA (pH 8,0) und Hybridisierungsbedingungen von etwa 55°C, 5 X SSC über Nacht. Sehr stringente Bedingungen sind höhere Temperaturen von Hybridisierung und Waschen. Der Fachmann wird erkennen, dass die Temperatur und die Salzkonzentration der Waschlösung nach Bedarf entsprechend den Faktoren, wie Länge der Sonde, eingestellt werden können, wobei die vorerwähnten Bedingungen die Hybridisierung bei 68°C, gefolgt von der Waschung in 0,1X SSC/0,1% SDS bei 63-68°C, einschließen. In einer anderen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung einen heterodimeren Rezeptor bereit, der AcPL und IL-1Rrp1 enthält, wobei das AcPL und IL-1Rrp1 von der DNA codiert werden, die mit der DNA von SEQ ID NO:1 oder SEQ ID NO:5 oder SEQ ID NO:3 bzw. SEQ ID NO:7 unter mäßig oder sehr stringenten Bedingungen hybridisiert.

**[0072]** Weiters werden bestimmte Mutationen in einer Nucleotidsequenz, die AcPL oder IL-1Rrp1 codiert, nicht im endgültigen Proteinprodukt exprimiert. Zum Beispiel kann dafür gesorgt werden, dass Nucleotidsubstitutionen die Expression verstärken, in erster Linie, um sekundäre Strukturschleifen in der transkribierten mRNA zu vermeiden (siehe EP 75,444A). Bei anderen Änderungen der Nucleotidsequenz kann dafür gesorgt werden, dass sie Codons bereitstellen, die vom gewählten Wirt leichter translatiert werden können, z.B. die wohlbekannten E. coli-Vorzugscodons für die E. coli-Expression.

**[0073]** Die Aminosäuresequenz von nativem IL-1Rrp1 oder AcPL kann durch Substituieren, Löschen, Hinzufügen oder Einfügen von einer oder mehreren Aminosäuren abgewandelt werden, um eine IL-1Rrp1- oder AcPL-Variante herzustellen. Varianten, die die gewünschte biologische Aktivität der nativen IL-1Rrp1- und AcPL-Proteine besitzen, können im Rezeptor der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden. Untersuchungen, mit denen die biologische Aktivität von Variantenproteinen analysiert werden kann, werden in den Beispielen unten beschrieben. Biologisch aktive IL-1Rrp1-Polypeptide können IL-18 binden. Die gewünschte biologische Aktivität der AcPL-Polypeptide, die hier dargelegt wird, ist die Fähigkeit, die Bindung von IL-18 zu verstärken, wenn AcPL an das IL-1Rrp1 angeschlossen wird, im Vergleich zum Niveau der IL-18-Bindung an IL-1Rrp1 allein.

**[0074]** Änderungen an der nativen Aminosäuresequenz können durch eine Reihe von bekannten Verfahren erreicht werden. Zum Beispiel können Mutationen an speziellen Orten durch Synthetisieren von Oligonucleotiden eingeführt werden, die eine Mutationssequenz enthalten, flankiert von Restriktionsstellen, die eine Bindung an Fragmente der nativen Sequenz ermöglichen. Nach der Ligierung codiert die sich ergebende rekonstruierte Sequenz ein Analogon, das die gewünschte Einführung, Substitution oder Löschung von Aminosäuren aufweist.

**[0075]** Alternativ können oligonucleotid-gerichtete ortsspezifische Mutageneseverfahren eingesetzt werden, um ein geändertes Gen bereitzustellen, das spezielle Codons besitzt, welche entsprechend der geforderten Substitution, Löschung oder Einfügung geändert sind. Beispielhafte Methoden für die Vornahme der oben angeführten Änderungen werden von Walder et al. (Gene 37:73, 1985), Bauer et al. (Gene 37:73, 1985), Craig (BioTechniques, Januar 1985, 12-19), Smith et al., (Genetic Engineering: Principles and methods, Plenum Press, 1981), US-Patent Nr. 4,518,584 und US-Patent Nr. 4,737,462 geoffenbart, die hierin durch Verweis aufgenommen werden.

**[0076]** Bioäquivalente Varianten von AcPL und IL-1Rrp1 können beispielsweise durch Vornahme von verschiedenen Substitutionen von Aminosäureresten oder Löschen endständiger oder interner Aminosäuren, die für die biologische Aktivität nicht benötigt werden, konstruiert werden. In einer Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist die abweichende Aminosäuresequenz zu mindestens 80%, vorzugsweise zu mindestens 90% identisch mit der nativen Sequenz. Die prozentuale Ähnlichkeit kann zum Beispiel durch Vergleich der Sequenzinformationen mittels des GAP-Computerprogramms, Version 6.0, verglichen werden, das von der University of Wisconsin Genetics Computer Group (UWGCG) bezogen werden kann. Das GAP-Programm nutzt die Ausrichtungsmethode von Needleman und Wunsch (J. Mol. Biol. 48:443, 1970), in der Überarbeitung von Smith und Waterman (Adv. Appl. Math. 2:482, 1981). Kurz gesagt, definiert das GAP-Programm Ähnlichkeit als die Zahl der ausgerichteten Symbole (d.h. Nucleotide oder Aminosäuren), die ähnlich sind, geteilt durch Gesamtzahl der Symbole in der kürzeren von beiden Sequenzen. Die bevorzugten Standardparameter für das GAP-Programm sind u.a. (1) eine monadische Vergleichsmatrix (die einen Wert von 1 für Identitäten und 0 für Nichtidentitäten enthält) für Nucleotide und die gewichtete Vergleichsmatrix von Gribskov und Burgess, Nucl. Acids Res. 14:6745, 1986, wie von Schwartz und Dayhoff, Hrsg., Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, S. 353-358, 1979, beschrieben; (2) eine Strafe von 3,0 für jede Lücke und eine zusätzliche Strafe von 0,1 für jedes Symbol in jeder Lücke, und (3) keine Strafe für Endlücken.

**[0077]** Allgemein sollten Substitutionen konservativ vorgenommen werden, d.h. die am stärksten bevorzugten Aminosäuren sind diejenigen mit physikalisch-chemischen Merkmalen, welche denen des zu ersetzenden Restes ähneln. Beispiele für konservative Substitutionen sind u.a. die Substitution eines aliphatischen Restes durch einen anderen, wie z.B. Ile, Val, Leu oder Ala gegeneinander andere aus der Reihe, oder Einsetzen eines polaren Restes für einen anderen, wie z.B. zwischen Lys und Arg; Glu und Asp; oder Gln und Asn. Andere solche konservativen Substitutionen, wie z.B. Substitutionen von ganzen Regionen, die ähnliche hydrophobe Merkmale besitzen, sind wohl bekannt.

**[0078]** Cysteinreste können entfernt oder durch andere Aminosäuren ersetzt werden, um die Bildung unnötiger oder falscher intramolekularer Disulfidbrücken bei Renaturierung zu verhüten. Hydrophile Aminosäuren können für hydrophobe Aminosäuren in der Transmembranregion und/oder im intrazellulären Bereich von IL-1Rrp1 und AcPL eingesetzt werden, um die Wasserlöslichkeit der Proteine zu erhöhen.

**[0079]** Benachbarte zweibasische Aminosäurereste können zur Verstärkung der Expression in Hefesystemen geändert werden, bei denen eine KEX2-Proteaseaktivität vorhanden ist. EP 212,914 zeigt die Verwendung der stellenspezifischen Mutagenese zur Inaktivierung von Stellen in einem Protein, die KEX2-Protease verarbeiten. Die Stellen, die KEX2-Protease verarbeiten, werden durch Entfernen, Hinzufügen oder Ersetzen von Resten inaktiviert, um Arg-Arg-, Arg-Lys- und Lys-Arg-Paare zu ändern und so das Auftreten dieser benachbarten basischen Reste zu beseitigen. Diese Aminosäurenpaare, die KEX2-Proteasen verarbeitende Stellen darstellen, werden in den Resten 98-99, 323-333, 333-334, 472-473 und 475-476 des AcPL-Proteins von SEQ ID NO:2 gefunden. Diese KEX2-Stellen werden an den Positionen 113-114, 314-325, 364-365, 437-438 und 465-466 des IL-1Rrp1-Proteins von SEQ ID NO:4 gefunden. Lys-Lys-Paare sind wesentlich weniger anfällig für die Spaltung von KEX2, und die Umwandlung von Arg-Lys oder Lys-Arg in Lys-Lys stellt einen konservativen und bevorzugten Ansatz für die Inaktivierung von KEX2-Stellen dar.

**[0080]** Die vorliegende Erfindung schließt auch Proteine mit oder ohne assoziierte Glycosylierung nach nativem Muster ein. Die Expression von DNAs, die die Fusionsproteine in Bakterien, wie z.B. E. coli, codieren, stellt nicht-glycosylierte Moleküle bereit. Funktionale mutierte Analoga, die inaktivierte N-Glycosylierungsstellen besitzen, können durch Oligonucleotidsynthese und Bindung oder durch ortsspezifische Mutageneseverfahren hergestellt werden. Diese analogen Proteine können in einer homogenen, kohlenwasserstoff-reduzierten Form mit guter Ausbeute unter Verwendung von Hefeexpressionssystemen hergestellt werden. N-Glycosylierungsstellen in eukaryotischen Proteinen sind durch die Aminosäurendreiergruppe Asn-A1-Z gekennzeichnet, wobei A1 jede Aminosäure außer Pro ist und Z Ser oder Thr ist. In dieser Sequenz stellt Asparagin eine Seitenketten-Aminosäure für die kovalente Befestigung von Kohlenhydraten bereit.

**[0081]** Die AcPL-Aminosäuresequenz in SEQ ID NO:2 enthält 4 solcher N-Glycosylierungsstellen, die alle im extrazellulären Bereich bei den Aminosäuren 21-23, 119-121, 152-254 und 345-347 gefunden werden. Der extrazelluläre Bereich von IL-1Rrp1 enthält die N-Glycosylierungsstellen an den Positionen 91-93, 102-104, 150-153, 168-170, 197-199, 203-205, 236-238 und 297-299 von SEQ ID NO:4. Solch eine Stelle kann durch Einsetzen einer anderen Aminosäure für Asn oder für den Rest Z, Entfernen von Asn oder Z oder Einfügen einer Aminosäure, die nicht Z ist, zwischen A<sub>1</sub> und Z, oder einer Aminosäure, die nicht Asn ist, zwischen Asn und A<sub>1</sub>, beseitigt werden. Bekannte Verfahren für die Inaktivierung von N-Glycosylierungsstellen sind die in US-Patent 5,071,972 und EP 276,846 beschrieben.

**[0082]** Varianten der Rezeptorproteine der vorliegenden Erfindung schließen auch verschiedene strukturelle Formen des primären Proteins ein, die die biologische Aktivität beibehalten. Auf Grund des Vorhandenseins von zum Beispiel ionisierbaren Amino- und Carboxylgruppen kann ein Rezeptorprotein in der Form von sauren oder basischen Salzen oder in neutraler Form vorliegen. Einzelne Aminosäurenreste können auch durch Oxidation oder Reduktion verändert werden.

**[0083]** Die primäre Aminosäurenstruktur kann auch durch Bilden kovalenter oder aggregativer Konjugate mit anderen chemischen Teilen, wie z.B. Glycosylgruppen, Lipiden, Phosphat, Acetylgruppen oder dergleichen geändert werden. Kovalente Derivate wurden durch Verbinden spezieller Funktionsgruppen mit Aminosäureseitenketten oder an den N- oder C-Termini hergestellt. Andere Derivate des Rezeptorproteins innerhalb des Geltungsbereichs der vorliegenden Erfindung sind kovalente oder aggregative Konjugate des Rezeptorproteins mit anderen Proteinen oder Polypeptiden, wie z.B. durch Synthese in rekombinanter Kultur als N- oder C-Terminal-Fusionen. Zum Beispiel kann das konjugierte Polypeptid eine Signal- (oder Leader) Polypeptidsequenz in der N-terminalen Region des Proteins sein, das co-translational oder post-translational die Übertragung des Proteins von seinem Ort der Synthese aus zum Funktionsort innerhalb oder außerhalb der Zellmembran oder -wand leitet (z.B. der  $\alpha$ -Faktor-Leader von Hefe).

**[0084]** Peptide können mit dem gewünschten Protein (z.B. über rekombinante DNA-Verfahren) verschmolzen werden, um so die Reinigung oder Identifizierung zu erleichtern. Beispiele sind Poly-His oder das Flag<sup>®</sup>-Peptid (Hopp et al., Bio/Technology 6:1204, 1988, und US-Patent 5,011,912). Das Flag<sup>®</sup>-Peptid ist stark antigen und stellt ein Epitop bereit, das reversibel durch einen spezifischen monoklonalen Antikörper gebunden wird, was eine schnelle Untersuchung und die leichte Reinigung des exprimierten rekombinanten Proteins ermöglicht. Expressionssysteme, die für die Verschmelzung des Flag<sup>®</sup>-Oktapeptids mit dem N- oder C-Terminus eines gegebenen Proteins nützlich sind, können von Eastman Kodak Co., Scientific Systems Division, New Haven, CT, bezogen werden, wie auch monoklonale Antikörper, die das Oktapeptid binden.

**[0085]** Dimere IL-18-Rezeptorkomplexe, die die natürlich vorkommenden Varianten von IL-1Rrp1 und AcPL einschließen, werden ebenfalls von der vorliegenden Erfindung erfasst. Beispiele für solche Varianten sind Proteine, die aus alternativen mRNA-Spleißereignissen oder aus der proteolytischen Spaltung des AcPL- und IL-1Rrp1-Proteins resultieren, wobei die gewünschte biologische Aktivität beibehalten wird. Das alternative Spleißen von mRNA kann ein abgestutztes, aber biologisch aktives AcPL- oder IL-1Rrp1-Protein ergeben, wie z.B. eine natürlich vorkommende lösliche Form des Proteins. Variationen, die der Proteolyse zugeordnet werden können, sind zum Beispiel Differenzen in den N- oder C-Termini bei Expression in verschiedenen Arten von Wirtszellen auf Grund des proteolytischen Entferns von einer oder mehreren endständigen Aminosäuren aus dem AcPL- oder IL-1Rrp1-Protein (im allgemeinen aus 1-5 endständigen Aminosäuren).

**[0086]** Die vorliegende Erfindung sieht auch eine pharmazeutische Zusammensetzung vor, die ein Rezeptorprotein der vorliegenden Erfindung mit einem physiologisch akzeptablen Träger oder Verdünnungsmittel enthält. Solche Träger oder Verdünnungsmittel sind nicht toxisch für den Empfänger bei den verwendeten Dosierungen und Konzentrationen. Solche Zusammensetzungen können zum Beispiel das Rezeptorprotein in einer gepufferten Lösung enthalten, der Antioxidanzien, wie z.B. Ascorbinsäure, niedermolekulare (weniger als etwa zehn Reste) Polypeptide, Proteine, Aminosäuren, Kohlenhydrate einschließlich Glucose, Saccharose oder Dextrine, Chelatbildner, wie z.B. EDTA, Glutathion und andere Stabilisatoren und Trägerstoffe hinzugefügt werden können. Der Rezeptor der vorliegenden Erfindung kann mit einer geeigneten Methode in einer für die Indikation geeigneten Weise, wie z.B. intravenöse Injektion, lokale Administration, kontinuierliche Infusion, anhaltende Freisetzung aus Implantaten usw. verabreicht werden.

**[0087]** Heterodimere Rezeptoren der vorliegenden Erfindung sind als IL-18-bindendes Mittel nützlich. Dieser Rezeptor, der vorzugsweise lösliches AcPL und lösliches IL-1Rrp1 enthält, findet sowohl in vitro als auch in vivo Anwendung. Die Rezeptoren können in in vitro-Untersuchungen, z.B. in Untersuchungen zum Mechanismus der Transduktion des biologischen Signals, das durch Bindung von IL-18 an diesen Rezeptor auf einer Zelle initiiert wird, eingesetzt werden. Solche Rezeptoren könnten auch dazu verwendet werden, eine biologische Aktivität von IL-18 in verschiedenen in vitro-Untersuchungen oder in vivo-Verfahren zu hemmen. In einer Ausführungsform der Erfindung wird der erfindungsgemäße Rezeptor zur Bindung von IL-18 verabreicht, wodurch die Bindung des IL-18 an endogene Zelloberflächenrezeptoren gehemmt wird. Die biologische Aktivität, die durch solch eine Bindung von IL-18 an die Zellen vermittelt wird, wird daher auch gehemmt.

**[0088]** IL-1Rrp1 allein bindet IL-18, aber mit relativ geringer Affinität (Torigoe et al., J. Biol. Chem. 272:2573, 1997). Rezeptoren der vorliegenden Erfindung, die von mit AcPL- und IL-1Rrp1-codierender DNA co-transfizierten Zellen erzeugt wurden, binden IL-18 mit hoher Affinität. Solche Rezeptoren der vorliegenden Erfindung können eingesetzt werden, wenn die Hemmung einer IL-18-vermittelten Aktivität gewünscht wird. Zusätzlich bietet die Verwendung der Rezeptoren der vorliegenden Erfindung in in vitro-Untersuchungen den Vorteil, die Feststellung zu ermöglichen, dass die Untersuchungsergebnisse der Bindung von IL-18 zugeschrieben werden können.

**[0089]** In einer Ausführungsform der Erfindung wird ein heterodimerer Rezeptor, der AcPL und IL-1Rrp1 enthält, in vivo verabreicht, um eine biologische Aktivität von IL-18 zu hemmen. Es ist bekannt, dass IL-18 die NFκB-Aktivität vermittelt und als Stimulator des Th1-Zellwachstums und der -differenzierung wirkt und ein leistungsfähiger Induktor der γ-Interferonproduktion aus Th1-Zellen ist. IL-18 verstärkt auch die NK-Zellabtötungsaktivität und ist in Verbindung mit dem septischen Schock, Leberzerstörung und Diabetes gebracht worden. Wenn diese oder andere biologischen Wirkungen von IL-18 unerwünscht sind, kann ein Rezeptor der vorliegenden Erfindung verabreicht werden, um IL-18 zu binden und die Wirkungen der IL-18-Aktivität zu mildern.

**[0090]** Der erfindungsgemäße Rezeptor kann einem Patienten in einer therapeutisch wirksamen Menge verabreicht werden, um eine Störung, die durch IL-18 vermittelt wird, zu behandeln. Von einer Störung wird gesagt, dass sie durch IL-18 vermittelt wird, wenn IL-18 (direkt oder indirekt) die Störung verursacht oder verstärkt. Lösliche Rezeptorproteine können dazu eingesetzt werden, an IL-18 zu binden und dadurch die Bindung von

IL-18 an endogene Zelloberflächenrezeptoren zu hemmen.

**[0091]** Heterodimere Rezeptoren, die mit IL-1Rrp1 verbundenes AcPL enthalten, finden auch in Untersuchungen zur biologischen Aktivität von IL-18-Proteinen Anwendung, wobei diese biologische Aktivität hinsichtlich der Bindungsaffinität für den Rezeptor gemessen wird. Zur Veranschaulichung kann der Rezeptor in einer Bindungsuntersuchung zum Messen der biologischen Aktivität eines IL-18-Fragmentes, einer -Variante oder -Muteins eingesetzt werden. Der Rezeptor ist praktisch für die Bestimmung, ob die biologische Aktivität von IL-18 nach der Änderung eines IL-18-Proteins beibehalten wird (z.B. chemische Änderung, Mutation, usw.). Die Bindungsaffinität des geänderten IL-18-Proteins für den Rezeptor wird mit der des ungeänderten IL-18-Proteins für den Rezeptor verglichen, um eine negative Auswirkung der Änderung auf die biologische Aktivität festzustellen. Die biologische Aktivität kann so beurteilt werden, bevor das geänderte Protein zum Beispiel in einer Forschungsuntersuchung verwendet wird.

**[0092]** Die heterodimeren Rezeptoren finden auch als Reagenzien Verwendung, die zur Durchführung von „Qualitätssicherungsuntersuchungen“ eingesetzt werden können, z.B. zur Überwachung der Lebensdauer und Stabilität von IL-18-Proteinen unter verschiedenen Bedingungen. Die Rezeptoren können zur Bestätigung der biologischen Aktivität (in Bezug auf die Bindungsaffinität für den Rezeptor) in IL-18-Proteinen verwendet werden, welche bei verschiedenen Temperaturen, über unterschiedliche lange Zeiten gelagert wurden, oder welche zum Beispiel in verschiedenen rekombinanten Expressionssystemen hergestellt wurden.

**[0093]** Die folgenden Beispiele dienen zur Erläuterung bestimmter Ausführungsformen der Erfindung und sollen nicht als Einschränkung für den Geltungsbereich der Erfindung ausgelegt werden.

## BEISPIELE

### Beispiel 1

#### In vitro-Präzipitationsexperimente

**[0094]** Um zu bestimmen, ob AcPL, IL-1Rrp1 oder Kombinationen der beiden Polypeptide IL-18 binden, wurden mehrere Fc-Fusionsproteine folgendermaßen präpariert und getestet. Ein Expressionsvektor, der ein lösliches AcPL/Fc-Fusionsprotein codiert, welches einen trunkierten extrazellulären Bereich von AcPL enthält, der mit dem N-Terminus eines aus einem Antikörper abgeleiteten Fc-Bereichspolypeptids verschmolzen ist, wurde folgendermaßen aufgebaut. Ein rekombinanter Expressionsvektor, der AcPL-DNA in Vektor pDC304 enthält, wurde mit PCR unter Verwendung von Primern amplifiziert, die die gewünschten Restriktionsstellen im Leserahmen an den 5'- und 3'-Enden enthalten. Das sich ergebende Fragment, das das 5'-Ende der am Nucleotid 1551 von SEQ ID NO:1 endenden AcPL-DNA enthält, mit eingeführten Sal1- und Bg1II-Stellen am 5'- bzw. 3'-Ende, wurde mit konventionellen Methoden isoliert.

**[0095]** Ein rekombinanter Vektor, der pDC412-hlgG1Fc genannt wird, enthält die Fc-Polypeptid codierende cDNA (nur -H-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>). Vektor pDC412-hlgG1Fc wurde mit den Restriktionsenzymen Sal1 und Bg1II digeriert, die in der Polylinkerregion des Vektors, stromaufwärts von der Fc-Polypeptid codierenden cDNA, spalten.

**[0096]** Das AcPL codierende DNA-Fragment, das oben isoliert wurde, wurde an einen von Sal1/Bg1II digerierten pDC412-hlgG1Fc so gebunden, dass die Fc-Polypeptid-DNA mit dem 3'-Ende der AcPL-DNA verschmolzen wurde. Der sich ergebende Expressionsvektor codierte ein Fusionsprotein, das die Aminosäuren 1-356 der AcPL-Sequenz von SEQ ID NO:2 enthielt, gefolgt von der H-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-Region von hlgG1Fc.

**[0097]** Ein Expressionsvektor, der ein lösliches menschliches IL-1Rrp1/Fc-Fusionsprotein codiert, wurde folgendermaßen aufgebaut. Ein rekombinanter Vektor, der IL-1Rrp1-cDNA enthielt, wurde mit genspezifischen Primern, die die gewünschten Restriktionsorte enthielten, PCR-amplifiziert. Das sich ergebende Fragment, das das 5'-Ende von IL-1Rrp1 einschloss, wurde durch konventionelle Verfahren isoliert. Dieses IL-1Rrp1-Fragment, digeriert mit Asp718 und Bg1II, wurde mit dem oben beschriebenen hlgG1Fc-Fragment kombiniert und mit Bg1II und NotI digeriert. Die sich ergebenden Verdauungsfragmente wurden mit Asp718 und NotI an pDC304 befestigt. Das resultierende IL-1Rrp1/Fc-Fusionsprotein, das von dem rekombinanten Vektor codiert wurde, enthält (vom N- zum C-Terminus) die Aminosäuren 1-329 von SEQ ID NO:4, gefolgt von der H-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>-Region von hlgG1Fc.

**[0098]** In einem Probensatz wurden COS-7-Zellen mit einer pDC206-Kontrolle oder mit dem pDC206-IL-18-Vektor transfiziert. In einem anderen Probensatz von transfizierten COS-7-Zellen wurden die



oben beschriebenen Fc-Fusionsvektoren transfiziert. Der gesamte Probensatz war folgendermaßen aufgebaut:

Probe	Zellen, die mit Vektor(en) transfiziert sind, welche codieren:
A	leerer pDC206-Expressionsvektor (Kontrolle)
B	pDC206hIL-18
1	pDC409 (Kontrolle)
2	IL-1Rrp1/Fc
3	AcPL/Fc
4	AcPL/Fc und IL-1Rrp1/Fc

**[0099]** Zwei Tage nach der Transfektion wurden die Proben A und B in Cys/Met-freiem Medium hungern gelassen, dann mit einem Medium 6 Stunden lang markiert, das  $^{35}\text{S}$ -Cys,  $^{35}\text{S}$ -Met enthielt. Überstände wurden entfernt, zentrifugiert und auf 0,4 M NaCl/1,0% Triton X-100 in Gegenwart von Proteasehemmern eingestellt. Die Überstände von Zellen, die mit den Fc-Fusionsproteinen von Proben 1-4 transfiziert waren, wurden 2 Tage nach der Transfektion entfernt und zentrifugiert. Jeder Fc-Fusionsüberstand wurde entweder mit a) vektor-transfizierten oder b) IL-18-transfizierten  $^{35}\text{S}$ -markierten Überständen kombiniert. Gereinigtes IL-1Rrp1/Fc-Rezeptorprotein wurde einem weiteren Teil des radioaktiv markierten Überstandes als Kontrolle hinzugefügt. Protein-G-Sepharose wurde jeder experimentellen Probe hinzugefügt, und Präzipitationen wurden über Nacht bei 4°C ausgeführt. Dann wurden die Proben ausgiebig in einem 0,4 M NaCl, 0,05% SDS, 1,0% NP-40-Puffer gewaschen und durch Elektrophorese in einem 4-20 % Tris-Glycinegel getrennt. Das Gel wurde fixiert, amplifiziert, getrocknet und dem Film ausgesetzt.

**[0100]** Um die Gesamtwerte von Protein zu beurteilen und unmarkierte Fc-Fusionsproteine zu berücksichtigen, wurde ein Teil von jedem Präzipitat in einem separaten 4-20% Tris-Glycinegel analysiert und silbergefärbt.

**[0101]** Überstände von Zellproben 1-4 präzipitierten keine erkennbaren Mengen von Proteinen im 10-30 Kd-Bereich aus dem Kontrollüberstand (Probe A). IL-18 (Probe B) wurde aus Überstand von Zellprobe 2 (IL-1Rrp1Fc) präzipitiert, aber nicht durch Überstand aus Zellprobe 1 (Kontrolle) oder Zellprobe 3 (AcPL/Fc). Signifikant mehr IL-18 wurde durch Überstand von allen Proben 4 präzipitiert, der aus der Co-Transfektion von IL-1Rrp1/Fc und AcPL/Fc gewonnen wurde.

**[0102]** Also kann IL-1Rrp1 IL-18 binden; AcPL kann IL-18 nicht binden; und co-exprimierte IL-1Rrp1 und AcPL können IL-18 binden, und die co-exprimierten Proteine weisen höhere Bindungsgrade von IL-18 auf als IL-1Rrp1 allein. Das silbergefärbte Gel zeigt, dass es kein IL-1Rrp1 in Überständen mehr gibt, die mit IL-1Rrp1 und AcPL transfiziert wurden, im Vergleich zu Überständen, die mit IL-1Rrp1 allein transfiziert wurden. Dies schließt die Möglichkeit aus, dass es in diesen Proben noch mehr exprimiertes IL-1Rrp1 gibt. Die Ergebnisse zeigen an, dass die IL-18-Bindungsaffinität eines IL-1Rrp1/AcPL-Dimers größer als die Affinität von IL-1Rrp1 allein ist.

## Beispiel 2

### Induktion der NFκB-Aktivität

**[0103]** Zur Bestimmung der Rolle von IL-1Rrp1 und AcPL in der IL-18-Signalgebung wurden AcPL, IL-1Rrp1 und eine Kombination von IL-1Rrp1 und AcPL in COS-Zellen und 549.1-Zellen überexprimiert, und der Effekt der IL-18-Stimulation der NFκB-Aktivität wurde begutachtet.

**[0104]** COS-7-Zellen wurden nach der DEAE/Dextranmethode in einem 12-Schälchen-Format transfiziert. Jedes Schälchen wurde mit einer Gesamtmenge von 200 ng des/der geeigneten Expressionsvektor(s/en) und 800 ng eines NFκB-Luc-Reporterplasmids, das 3 Luciferase-Expression vermittelnde NFκB-Orte enthält, transfiziert. Etwa  $10^7$  S49.1-Zellen wurden durch Elektroporation in 0,7 ml mit 40 µg des NFκB-Luc-Reporterplasmids und einem Gesamtwert von 20 µg des/der geeigneten Expressionsvektor(s/en) transfiziert. Die Elektroporationen wurden bei 960 µF und 320 V durchgeführt.

**[0105]** Die Zellen wurden 2 Tage lang inkubiert und dann mit 40 ng/ml IL-18 (von Pepro-Tech erworben) 4 Stunden lang stimuliert. Die Zellen wurden dann gewaschen, lysiert und auf Luciferase-Aktivität mittels Luciferase-Untersuchungsreagenzien (von Promega Corp. erworben) entsprechend den Instruktionen des Herstellers untersucht.

**[0106]** COS7- oder 549.1-Zellen, die allein mit dem Kontrollvektor, mit dem Vektor, der allein mIL-1Rrp1 codiert, oder mit dem Vektor transfiziert wurden, der allein mAcPL codiert, reagierten nicht auf mIL-18-Stimulation. Weiters reagierten S49.1-Zellen, die mit mAcPL transfiziert wurden, nicht auf die mIL-18-Signalgebung, wenn die Transfektion in Kombination mit einem Expressionsvektor vorgenommen wurde, der mIL-1R Typ I oder mIL-1RAcP codiert. Jedoch wiesen Zellen, die mit mAcPL und mIL-1Rrp1 co-transfiziert und mit mIL-18 stimuliert wurden, einen Anstieg der NFkB-DNA-Bindungsaktivität auf, die 10fach so groß in COS-Zellen und 300fach so groß wie in S49.1-Zellen war. COS7-Zellen, die mit hIL-1Rrp1 transfiziert wurden, zeigten keine Reaktion auf die hIL-18-Stimulation, während COS7-Zellen, die mit hAcPL allein transfiziert und mit hIL-18 stimuliert wurden, einen 8fachen Anstieg der NFkB-Aktivität zeigten. Dies wird der Verknüpfung von hAcPL mit Affen-IL-1Rrp1 zugeschrieben, das in COS7-Zellen endogen ist. Die Überexpression von hIL-1Rrp1 mit hAcPL verstärkte nicht die Stimulation der NFkB-Aktivität als Reaktion auf hIL-18 im Vergleich zu der, die in Zellen mit der Überexpression von hAcPL allein festgestellt wird. Diese dramatische Erhöhung der NFkB-Aktivität zeigt an, dass AcPL und IL-1Rrp1 Teileinheiten des IL-18-Rezeptors sind und bei der Induktion der NFkB-Signalisierung als Reaktion auf die IL-18-Stimulation zusammenarbeiten.

### BEISPIEL 3

#### Herstellung der AcPL- und IL-1Rrp1-Antikörper-Schwer- und Leichtketten-Fusionsproteine

**[0107]** Im Folgenden wird die Herstellung von Fusionsproteinen beschrieben, die AcPL und IL-1Rrp1, verschmolzen mit einem Antikörper-Schwerketten- und einem Antikörper-Leichtketten-Polypeptid, enthalten.

**[0108]** Zuerst wird ein Expressionsvektor aufgebaut, der die ganze konstante Region des menschlichen IgG1 mit einer Linkerregion stromaufwärts codiert. Solch ein Expressionsvektor erleichtert die Erzeugung von Fusionsprotein codierenden Plasmiden. PCR-Verfahren werden genutzt, um die oben genannte konstante IgG1-Region mit Primern zu amplifizieren, die eine Bg1II-Stelle stromaufwärts und eine NotI-Stelle stromabwärts enthalten. Das resultierende PCR-erzeugte Fragment wird digeriert, gereinigt und mit pDC412 verbunden, das mit Bg1II und NotI digeriert wird. Der Expressionsvektor pDC412-hlgG1 wird dann mit Sall und Bg1II digeriert.

**[0109]** Als nächstes wird ein Expressionsvektor, der den konstanten Ig κ-Bereich enthält, dem eine Linkerregion vorangeht und dem eine Linkerregion folgt, und die Poly-His-Region hergestellt. Die Poly-His-Region hilft vorteilhafterweise beim Proteinreinigungsverfahren. PCR-Verfahren werden genutzt, um die konstante Region mit Primern zu amplifizieren, die ein Bg1II-NotI-Fragment enthalten. Das sich ergebende PCR-erzeugte Fragment wird digeriert, gereinigt und mit pDC412 verbunden. Lösliche Rezeptoren von Interesse können stromaufwärts kloniert werden, indem die einmalig vorkommenden Sall- und Bg1II-Stellen genutzt werden.

**[0110]** Zur Herstellung eines IL-1Rrp1-Cκ-Expressionsvektors wird der extrazelluläre Bereich von IL-1Rrp1 mit Primern PCR-amplifiziert, die Sall- (5') und Bg1II- (3') Restriktionsstellen enthalten. Dieses gereinigte und digerierte PCR-Produkt wird mit dem durch Sall/Bg1II digerierten Expressionsvektor pDC412-Ig κ verbunden, um ein im Translationsraster liegendes Konstrukt zu erzeugen, das ein Fusionsprotein codiert, welches den löslichen Anteil von IL-1Rrp1 mit der konstanten Region von Cκ verbindet.

**[0111]** Zur Herstellung eines IL-1Rrp1-hlgG1-Expressionsvektors wird das Sall/Bg1II-Restriktionsfragment, das lösliches IL-1Rrp1 codiert, aus IL-1Rrp1-Cκ entfernt und mit IL-1Rrp1-hlgG1 ligiert, welches mit denselben Restriktionsenzymen digeriert worden ist. Da beide Vektoren den Bg1II-Stelle im selben Leserahmen enthalten, führt dies sofort zur Fusion zwischen löslichem IL-1Rrp1 und hlgG1.

**[0112]** Zur Herstellung eines AcPL-Cκ-Expressionsvektors wird der extrazelluläre Bereich von AcPL mit Primern PCR-amplifiziert, die Sall- (5') und Bg1II- (3') Restriktionsstellen enthalten. Dieses gereinigte und digerierte PCR-Produkt wird mit dem durch Sall/Bg1II digerierten pDC412-Cκ verbunden, um ein im Leserahmen liegendes Fusionsprotein zu erzeugen, welches den löslichen Anteil von AcPL mit der konstanten Region von Cκ verbindet.

**[0113]** Zur Herstellung eines AcPL-hlgG1-Expressionsvektors wird das Sall/Bg1II-Restriktionsfragment, das lösliches AcPL codiert, aus AcPL-Cκ entfernt und mit pDC412-hlgG1 verbunden, welches mit denselben Restriktionsenzymen digeriert worden ist. Da beide Vektoren die Bg1II-Stelle im selben Leserahmen enthalten, führt dies sofort zur Fusion zwischen löslichem AcPL und hlgG1.

**[0114]** COS7-Zellen werden mit den oben beschriebenen Fusionsvektoren transfiziert. Die Zellen werden kul-

tiviert, und die Fusionsproteine werden gewonnen, wie in Beispiel 1 beschrieben.

#### BEISPIEL 4

##### Hemmung einer IL-18-induzierten NFκB-Aktivität

**[0115]** Cos7-Zellen wurden vorübergehend in 12-Schälchen-Platten mit jeweils 10 ng mL-1Rrp1- und mAcPL-Expressionsvektoren sowie 50 ng eines 3XNFκB-Luciferase-Reporterplasmids pro Schälchen transfiziert. Zwei Tage nach der Transfektion wurden die Zellen mit 10 ng/ml mL-18 (von Peprotech erworben) in Gegenwart von steigenden Mengen verschiedener Rezeptor-Fc-Fusionsproteine stimuliert. mL-18 wurde mit den Proteinen 20 Minuten lang bei Raumtemperatur vor dem Hinzufügen zu den Zellen präinkubiert. Die Menge an Fc-Protein wurde von 1 µg/ml bis 50 µg/ml titriert. Zellen wurden 4 Stunden stimuliert, dann lysiert, und die Luciferase-Aktivität wurde mit Promega Luciferase-Untersuchungsreagenzien beurteilt.

**[0116]** Die Präinkubation von IL-18 mit mL-1Rrp1, mL-1Rrp1-Flag-PolyHis oder mAcPL-Fc hatte keinen signifikanten Effekt auf die Induktion von NFκB bei irgendeiner getesteten Konzentration. Im Gegensatz dazu führte die Inkubation von IL-18 mit einer heterogenen mL-1Rrp1-Fc- + mAcPL-Fc-Proteinmischung (die aus Homodimeren von mL-1Rrp1-Fc, Homodimeren von mAcPL-Fc und heterodimeren mL-1Rrp1-Fc/mAcPL-Fc-Molekülen bestand) zu einer dosisabhängigen Hemmung der Induktion von NFκB. Nicht induzierte Zellen zeigten 3X 10<sup>3</sup> RLU, und Zellen, die mit mL-18 in Abwesenheit eines Rezeptor-Fc-Proteins stimuliert wurden, zeigten 25X 10<sup>3</sup> RLU. Maximale Hemmung der Induktion von NFκB wurde mit 20 µg/ml und 50 µg/ml der mL-1Rrp1-Fc/mAcPL-Fc-Mischung beobachtet, die zu 6X 10<sup>3</sup> RLU führte, was eine 87%ige Hemmung der IL-18-Aktivität darstellte.

## Sequenzlisten

<110> Immunex Corporation, Sims, John E., Born, Teresa L.

<120> IL-18 Rezeptoren

<130> 2638-WO

<140> --ist zuzuteilen --

<141> 1999-01-22

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 2681

<212> DNA

<213> menschliches AcPL

<220>

<221> CDS

<222> (484)..(2283)

<400> 1

```

ctctctggat aggaagaaat atagtagaac cctttgaaaa tggatatattt cacatatattt   60
cgttcagata caaaagctgg cagttactga aataaggact tgaagttcct tcctcttttt   120
ttatgtctta agagcaggaa ataaagagac agctgaagggt gtagccttga ccaactgaaa   180
gggaaatctt catcctctga aaaaacatat gtgattctca aaaaacgcat ctggaaaatt   240
gataaagaag cgattctgta gattctccca gcgctgttgg gctctcaatt ccttctgtga   300
aggacaacat atgggtgatgg ggaaatcaga agctttgaga ccctctacac ctggatatga   360
atcccccttc taatacttac cagaaatgaa ggggatactc agggcagagt tctgaatctc   420
aaaacactct actctggcaa aggaatgaag ttattggagt gatgacagga acacggggaga   480
aca atg ctc tgt ttg ggc tgg ata ttt ctt tgg ctt gtt gca gga gag   528
  Met Leu Cys Leu Gly Trp Ile Phe Leu Trp Leu Val Ala Gly Glu
    1             5             10             15

cga att aaa gga ttt aat att tca ggt tgt tcc aca aaa aaa ctc ctt   576
Arg Ile Lys Gly Phe Asn Ile Ser Gly Cys Ser Thr Lys Lys Leu Leu
          20             25             30

tgg aca tat tct aca agg agt gaa gag gaa ttt gtc tta ttt tgt gat   624
Trp Thr Tyr Ser Thr Arg Ser Glu Glu Glu Phe Val Leu Phe Cys Asp
          35             40             45

tta cca gag cca cag aaa tca cat ttc tgc cac aga aat cga ctc tca   672
Leu Pro Glu Pro Gln Lys Ser His Phe Cys His Arg Asn Arg Leu Ser
          50             55             60

cca aaa caa gtc cct gag cac ctg ccc ttc atg ggt agt aac gac cta   720
Pro Lys Gln Val Pro Glu His Leu Pro Phe Met Gly Ser Asn Asp Leu
          65             70             75

tct gat gtc caa tgg tac caa caa cct tcg aat gga gat cca tta gag   768
Ser Asp Val Gln Trp Tyr Gln Gln Pro Ser Asn Gly Asp Pro Leu Glu
    80             85             90             95

```

gac att agg aaa agc tat cct cac atc att cag gac aaa tgt acc ctt Asp Ile Arg Lys Ser Tyr Pro His Ile Ile Gln Asp Lys Cys Thr Leu 100 105 110	816
cac ttt ttg acc cca ggg gtg aat aat tct ggg tca tat att tgt aga His Phe Leu Thr Pro Gly Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Ile Cys Arg 115 120 125	864
ccc aag atg att aag agc ccc tat gat gta gcc tgt tgt gtc aag atg Pro Lys Met Ile Lys Ser Pro Tyr Asp Val Ala Cys Cys Val Lys Met 130 135 140	912
att tta gaa gtt aag ccc cag aca aat gca tcc tgt gag tat tcc gca Ile Leu Glu Val Lys Pro Gln Thr Asn Ala Ser Cys Glu Tyr Ser Ala 145 150 155	960
tca cat aag caa gac cta ctt ctt ggg agc act ggc tct att tct tgc Ser His Lys Gln Asp Leu Leu Leu Gly Ser Thr Gly Ser Ile Ser Cys 160 165 170 175	1008
ccc agt ctc agc tgc caa agt gat gca caa agt cca gcg gta acc tgg Pro Ser Leu Ser Cys Gln Ser Asp Ala Gln Ser Pro Ala Val Thr Trp 180 185 190	1056
tac aag aat gga aaa ctc ctc tct gtg gaa agg agc aac cga atc gta Tyr Lys Asn Gly Lys Leu Leu Ser Val Glu Arg Ser Asn Arg Ile Val 195 200 205	1104
gtg gat gaa gtt tat gac tat cac cag ggc aca tat gta tgt gat tac Val Asp Glu Val Tyr Asp Tyr His Gln Gly Thr Tyr Val Cys Asp Tyr 210 215 220	1152
act cag tcg gat act gtg agt tcg tgg aca gtc aga gct gtt gtt caa Thr Gln Ser Asp Thr Val Ser Ser Trp Thr Val Arg Ala Val Val Gln 225 230 235	1200
gtg aga acc att gtg gga gac act aaa ctc aaa cca gat att ctg gat Val Arg Thr Ile Val Gly Asp Thr Lys Leu Lys Pro Asp Ile Leu Asp 240 245 250 255	1248
cct gtc gag gac aca ctg gaa gta gaa ctt gga aag cct tta act att Pro Val Glu Asp Thr Leu Glu Val Glu Leu Gly Lys Pro Leu Thr Ile 260 265 270	1296
agc tgc aaa gca cga ttt ggc ttt gaa agg gtc ttt aac cct gtc ata Ser Cys Lys Ala Arg Phe Gly Phe Glu Arg Val Phe Asn Pro Val Ile 275 280 285	1344
aaa tgg tac atc aaa gat tct gac cta gag tgg gaa gtc tca gta cct Lys Trp Tyr Ile Lys Asp Ser Asp Leu Glu Trp Glu Val Ser Val Pro 290 295 300	1392
gag gcg aaa agt att aaa tcc act tta aag gat gaa atc att gag cgt Glu Ala Lys Ser Ile Lys Ser Thr Leu Lys Asp Glu Ile Ile Glu Arg 305 310 315	1440
aat atc atc ttg gaa aaa gtc act cag cgt gat ctt cgc agg aag ttt Asn Ile Ile Leu Glu Lys Val Thr Gln Arg Asp Leu Arg Arg Lys Phe 320 325 330 335	1488
gtt tgc ttt gtc cag aac tcc att gga aac aca acc cag tcc gtc caa Val Cys Phe Val Gln Asn Ser Ile Gly Asn Thr Thr Gln Ser Val Gln 340 345 350	1536

ctg aaa gaa aag aga gga gtg gtg ctc ctg tac atc ctg ctt ggc acc 1584  
 Leu Lys Glu Lys Arg Gly Val Val Leu Leu Tyr Ile Leu Leu Gly Thr  
 355 360 365

atc ggg acc ctg gtg gcc gtg ctg gcg gcg agt gcc ctc ctc tac agg 1632  
 Ile Gly Thr Leu Val Ala Val Leu Ala Ala Ser Ala Leu Leu Tyr Arg  
 370 375 380

cac tgg att gaa ata gtg ctg ctg tac cgg acc tac cag agc aag gat 1680  
 His Trp Ile Glu Ile Val Leu Leu Tyr Arg Thr Tyr Gln Ser Lys Asp  
 385 390 395

cag acg ctt ggg gat aaa aag gat ttt gat gct ttc gta tcc tat gca 1728  
 Gln Thr Leu Gly Asp Lys Lys Asp Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ala  
 400 405 410 415

aaa tgg agc tct ttt cca agt gag gcc act tca tct ctg agt gaa gaa 1776  
 Lys Trp Ser Ser Phe Pro Ser Glu Ala Thr Ser Ser Leu Ser Glu Glu  
 420 425 430

cac ttg gcc ctg agc cta ttt cct gat gtt tta gaa aac aaa tat gga 1824  
 His Leu Ala Leu Ser Leu Phe Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Tyr Gly  
 435 440 445

tat agc ctg tgt ttg ctt gaa aga gat gtg gct cca gga gga gtg tat 1872  
 Tyr Ser Leu Cys Leu Leu Glu Arg Asp Val Ala Pro Gly Gly Val Tyr  
 450 455 460

gca gaa gac att gtg agc att att aag aga agc aga aga gga ata ttt 1920  
 Ala Glu Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Arg Ser Arg Arg Gly Ile Phe  
 465 470 475

atc ttg agc ccc aac tat gtc aat gga ccc agt atc ttt gaa cta caa 1968  
 Ile Leu Ser Pro Asn Tyr Val Asn Gly Pro Ser Ile Phe Glu Leu Gln  
 480 485 490 495

gca gca gtg aat ctt gcc ttg gat gat caa aca ctg aaa ctc att tta 2016  
 Ala Ala Val Asn Leu Ala Leu Asp Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile Leu  
 500 505 510

att aag ttc tgt tac ttc caa gag cca gag tct cta cct cat ctc gtg 2064  
 Ile Lys Phe Cys Tyr Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro His Leu Val  
 515 520 525

aaa aaa gct ctc agg gtt ttg ccc aca gtt act tgg aga ggc tta aaa 2112  
 Lys Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Arg Gly Leu Lys  
 530 535 540

tca gtt cct ccc aat tct agg ttc tgg gcc aaa atg cgc tac cac atg 2160  
 Ser Val Pro Pro Asn Ser Arg Phe Trp Ala Lys Met Arg Tyr His Met  
 545 550 555

cct gtg aaa aac tct cag gga ttc acg tgg aac cag ctc aga att acc 2208  
 Pro Val Lys Asn Ser Gln Gly Phe Thr Trp Asn Gln Leu Arg Ile Thr  
 560 565 570 575

tct agg att ttt cag tgg aaa gga ctc agt aga aca gaa acc act ggg 2256  
 Ser Arg Ile Phe Gln Trp Lys Gly Leu Ser Arg Thr Glu Thr Thr Gly  
 580 585 590

agg agc tcc cag cct aag gaa tgg tga aatgagccct ggagcccccct 2303  
 Arg Ser Ser Gln Pro Lys Glu Trp 600

ccagtcacagt ccctggggata gagatgttgc tggacagaac tcacagctct gtgtgtgtgt 2363

gttcaggctg ataggaaatt caaagagtc cctgccagca ccaagcaagc ttgatggaca 2423

atggaatggg attgagactg tggtttagag ccttgattt cctggactgg acagacggcg 2483  
 agtgaattct ctagaccttg ggtactttca gtacacaaca cccctaagat ttcccagtg 2543  
 tccgagcaga atcagaaaat acagctactt ctgccttatg gctaggggaac tgrcatgtct 2603  
 accatgtatt gtacatatga ctttatgtat acttgcaatc aaataaatat tattttatta 2663  
 gaaaaaaaaac cggaattc 2681

<210> 2

<211> 599

<212> PRT

<213> menschliches AcPL

<400> 2

Met Leu Cys Leu Gly Trp Ile Phe Leu Trp Leu Val Ala Gly Glu Arg  
 1 5 10 15  
 Ile Lys Gly Phe Asn Ile Ser Gly Cys Ser Thr Lys Lys Leu Leu Trp  
 20 25 30  
 Thr Tyr Ser Thr Arg Ser Glu Glu Glu Phe Val Leu Phe Cys Asp Leu  
 35 40 45  
 Pro Glu Pro Gln Lys Ser His Phe Cys His Arg Asn Arg Leu Ser Pro  
 50 55 60  
 Lys Gln Val Pro Glu His Leu Pro Phe Met Gly Ser Asn Asp Leu Ser  
 65 70 75 80  
 Asp Val Gln Trp Tyr Gln Gln Pro Ser Asn Gly Asp Pro Leu Glu Asp  
 85 90 95  
 Ile Arg Lys Ser Tyr Pro His Ile Ile Gln Asp Lys Cys Thr Leu His  
 100 105 110  
 Phe Leu Thr Pro Gly Val Asn Asn Ser Gly Ser Tyr Ile Cys Arg Pro  
 115 120 125  
 Lys Met Ile Lys Ser Pro Tyr Asp Val Ala Cys Cys Val Lys Met Ile  
 130 135 140  
 Leu Glu Val Lys Pro Gln Thr Asn Ala Ser Cys Glu Tyr Ser Ala Ser  
 145 150 155 160  
 His Lys Gln Asp Leu Leu Leu Gly Ser Thr Gly Ser Ile Ser Cys Pro  
 165 170 175  
 Ser Leu Ser Cys Gln Ser Asp Ala Gln Ser Pro Ala Val Thr Trp Tyr  
 180 185 190  
 Lys Asn Gly Lys Leu Leu Ser Val Glu Arg Ser Asn Arg Ile Val Val  
 195 200 205  
 Asp Glu Val Tyr Asp Tyr His Gln Gly Thr Tyr Val Cys Asp Tyr Thr  
 210 215 220  
 Gln Ser Asp Thr Val Ser Ser Trp Thr Val Arg Ala Val Val Gln Val  
 225 230 235 240  
 Arg Thr Ile Val Gly Asp Thr Lys Leu Lys Pro Asp Ile Leu Asp Pro  
 245 250 255  
 Val Glu Asp Thr Leu Glu Val Glu Leu Gly Lys Pro Leu Thr Ile Ser  
 260 265 270

Cys Lys Ala Arg Phe Gly Phe Glu Arg Val Phe Asn Pro Val Ile Lys  
 275 280 285  
 Trp Tyr Ile Lys Asp Ser Asp Leu Glu Trp Glu Val Ser Val Pro Glu  
 290 295 300  
 Ala Lys Ser Ile Lys Ser Thr Leu Lys Asp Glu Ile Ile Glu Arg Asn  
 305 310 315 320  
 Ile Ile Leu Glu Lys Val Thr Gln Arg Asp Leu Arg Arg Lys Phe Val  
 325 330 335  
 Cys Phe Val Gln Asn Ser Ile Gly Asn Thr Thr Gln Ser Val Gln Leu  
 340 345 350  
 Lys Glu Lys Arg Gly Val Val Leu Leu Tyr Ile Leu Leu Gly Thr Ile  
 355 360 365  
 Gly Thr Leu Val Ala Val Leu Ala Ala Ser Ala Leu Leu Tyr Arg His  
 370 375 380  
 Trp Ile Glu Ile Val Leu Leu Tyr Arg Thr Tyr Gln Ser Lys Asp Gln  
 385 390 395 400  
 Thr Leu Gly Asp Lys Lys Asp Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ala Lys  
 405 410 415  
 Trp Ser Ser Phe Pro Ser Glu Ala Thr Ser Ser Leu Ser Glu Glu His  
 420 425 430  
 Leu Ala Leu Ser Leu Phe Pro Asp Val Leu Glu Asn Lys Tyr Gly Tyr  
 435 440 445  
 Ser Leu Cys Leu Leu Glu Arg Asp Val Ala Pro Gly Gly Val Tyr Ala  
 450 455 460  
 Glu Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Arg Ser Arg Arg Gly Ile Phe Ile  
 465 470 475 480  
 Leu Ser Pro Asn Tyr Val Asn Gly Pro Ser Ile Phe Glu Leu Gln Ala  
 485 490 495  
 Ala Val Asn Leu Ala Leu Asp Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile Leu Ile  
 500 505 510  
 Lys Phe Cys Tyr Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro His Leu Val Lys  
 515 520 525  
 Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Arg Gly Leu Lys Ser  
 530 535 540  
 Val Pro Pro Asn Ser Arg Phe Trp Ala Lys Met Arg Tyr His Met Pro  
 545 550 555 560  
 Val Lys Asn Ser Gln Gly Phe Thr Trp Asn Gln Leu Arg Ile Thr Ser  
 565 570 575  
 Arg Ile Phe Gln Trp Lys Gly Leu Ser Arg Thr Glu Thr Thr Gly Arg  
 580 585 590  
 Ser Ser Gln Pro Lys Glu Trp  
 595

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 1626

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; menschliches IL-1Rrp1



&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)..(1626)

&lt;400&gt; 3

atg aat tgt aga gaa tta ccc ttg acc ctt tgg gtg ctt ata tct gta	48
Met Asn Cys Arg Glu Leu Pro Leu Thr Leu Trp Val Leu Ile Ser Val	
1 5 10 15	
agc act gca gaa tct tgt act tca cgt ccc cac att act gtg gtt gaa	96
Ser Thr Ala Glu Ser Cys Thr Ser Arg Pro His Ile Thr Val Val Glu	
20 25 30	
ggg gaa cct ttc tat ctg aaa cat tgc tgc tgt tca ctt gca cat gag	144
Gly Glu Pro Phe Tyr Leu Lys His Cys Ser Cys Ser Leu Ala His Glu	
35 40 45	
att gaa aca acc acc aaa agc tgg tac aaa agc agt gga tca cag gaa	192
Ile Glu Thr Thr Thr Lys Ser Trp Tyr Lys Ser Ser Gly Ser Gln Glu	
50 55 60	
cat gtg gag ctg aac cca agg agt tcc tgc aga att gct ttg cat gat	240
His Val Glu Leu Asn Pro Arg Ser Ser Ser Arg Ile Ala Leu His Asp	
65 70 75 80	
tgt gtt ttg gag ttt tgg cca gtt gag ttg aat gac aca gga tct tac	288
Cys Val Leu Glu Phe Trp Pro Val Glu Leu Asn Asp Thr Gly Ser Tyr	
85 90 95	
ttt ttc caa atg aaa aat tat act cag aaa tgg aaa tta aat gtc atc	336
Phe Phe Gln Met Lys Asn Tyr Thr Gln Lys Trp Lys Leu Asn Val Ile	
100 105 110	
aga aga aat aaa cac agc tgt ttc act gaa aga caa gta act agt aaa	384
Arg Arg Asn Lys His Ser Cys Phe Thr Glu Arg Gln Val Thr Ser Lys	
115 120 125	
att gtg gaa gtt aaa aaa ttt ttt cag ata acc tgt gaa aac agt tac	432
Ile Val Glu Val Lys Lys Phe Phe Gln Ile Thr Cys Glu Asn Ser Tyr	
130 135 140	
tat caa aca ctg gtc aac agc aca tca ttg tat aag aac tgt aaa aag	480
Tyr Gln Thr Leu Val Asn Ser Thr Ser Leu Tyr Lys Asn Cys Lys Lys	
145 150 155 160	
cta cta ctg gag aac aat aaa aac cca acg ata aag aag aac gcc gag	528
Leu Leu Leu Glu Asn Asn Lys Asn Pro Thr Ile Lys Lys Asn Ala Glu	
165 170 175	
ttt gaa gat cag ggg tat tac tcc tgc gtg cat ttc ctt cat cat aat	576
Phe Glu Asp Gln Gly Tyr Tyr Ser Cys Val His Phe Leu His His Asn	
180 185 190	
gga aaa cta ttt aat atc acc aaa acc ttc aat ata aca ata gtg gaa	624
Gly Lys Leu Phe Asn Ile Thr Lys Thr Phe Asn Ile Thr Ile Val Glu	
195 200 205	
gat cgc agt aat ata gtt ccg gtt ctt ctt gga cca aag ctt aac cat	672
Asp Arg Ser Asn Ile Val Pro Val Leu Leu Gly Pro Lys Leu Asn His	
210 215 220	
gtt gca gtg gaa tta gga aaa aac gta agg ctc aac tgc tct gct ttg	720
Val Ala Val Glu Leu Gly Lys Asn Val Arg Leu Asn Cys Ser Ala Leu	
225 230 235 240	

ctg aat gaa gag gat gta att tat tgg atg ttt ggg gaa gaa aat gga Leu Asn Glu Glu Asp Val Ile Tyr Trp Met Phe Gly Glu Glu Asn Gly 245 250 255	768
tcg gat cct aat ata cat gaa gag aaa gaa atg aga att atg act cca Ser Asp Pro Asn Ile His Glu Glu Lys Glu Met Arg Ile Met Thr Pro 260 265 270	816
gaa ggc aaa tgg cat gct tca aaa gta ttg aga att gaa aat att ggt Glu Gly Lys Trp His Ala Ser Lys Val Leu Arg Ile Glu Asn Ile Gly 275 280 285	864
gaa agc aat cta aat gtt tta tat aat tgc act gtg gcc agc acg gga Glu Ser Asn Leu Asn Val Leu Tyr Asn Cys Thr Val Ala Ser Thr Gly 290 295 300	912
ggc aca gac acc aaa agc ttc atc ttg gtg aga aaa gca gac atg gct Gly Thr Asp Thr Lys Ser Phe Ile Leu Val Arg Lys Ala Asp Met Ala 305 310 315 320	960
gat atc cca ggc cac gtc ttc aca aga gga atg atc ata gct gtt ttg Asp Ile Pro Gly His Val Phe Thr Arg Gly Met Ile Ile Ala Val Leu 325 330 335	1008
atc ttg gtg gca gta gtg tgc cta gtg act gtg tgt gtc att tat aga Ile Leu Val Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg 340 345 350	1056
gtt gac ttg gtt cta ttt tat aga cat tta acg aga aga gat gaa aca Val Asp Leu Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr 355 360 365	1104
tta aca gat gga aaa aca tat gat gct ttt gtg tct tac cta aaa gaa Leu Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu 370 375 380	1152
tgc cga cct gaa aat gga gag gag cac acc ttt gct gtg gag att ttg Cys Arg Pro Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu 385 390 395 400	1200
ccc agg gtg ttg gag aaa cat ttt ggg tat aag tta tgc ata ttt gaa Pro Arg Val Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu 405 410 415	1248
agg gat gta gtg cct gga gga gct gtt gtt gat gaa atc cac tca ctg Arg Asp Val Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu 420 425 430	1296
ata gag aaa agc cga aga cta atc att gtc cta agt aaa agt tat atg Ile Glu Lys Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met 435 440 445	1344
tct aat gag gtc agg tat gaa ctt gaa agt gga ctc cat gaa gca ttg Ser Asn Glu Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu 450 455 460	1392
gtg gaa aga aaa att aaa ata atc tta att gaa ttt aca cct gtt act Val Glu Arg Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr 465 470 475 480	1440
gac ttc aca ttc ttg ccc caa tca cta aag ctt ttg aaa tct cac aga Asp Phe Thr Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg 485 490 495	1488
gtt ctg aag tgg aag gcc gat aaa tct ctt tct tat aac tca agg ttc Val Leu Lys Trp Lys Ala Asp Lys Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Arg Phe 500 505 510	1536

tgg aag aac ctt ctt tac tta atg cct gca aaa aca gtc aag cca ggt 1584  
 Trp Lys Asn Leu Leu Tyr Leu Met Pro Ala Lys Thr Val Lys Pro Gly  
           515                                  520                                  525

aga gac gaa ccg gaa gtc ttg cct gtt ctt tcc gag tct taa 1626  
 Arg Asp Glu Pro Glu Val Leu Pro Val Leu Ser Glu Ser  
           530                                  535                                  540

<210> 4

<211> 541

<212> PRT

<213> menschliches IL-1Rrp1

<400> 4

Met Asn Cys Arg Glu Leu Pro Leu Thr Leu Trp Val Leu Ile Ser Val  
   1                                  5                                  10                                  15

Ser Thr Ala Glu Ser Cys Thr Ser Arg Pro His Ile Thr Val Val Glu  
                                   20                                  25                                  30

Gly Glu Pro Phe Tyr Leu Lys His Cys Ser Cys Ser Leu Ala His Glu  
                                   35                                  40                                  45

Ile Glu Thr Thr Thr Lys Ser Trp Tyr Lys Ser Ser Gly Ser Gln Glu  
           50                                  55                                  60

His Val Glu Leu Asn Pro Arg Ser Ser Ser Arg Ile Ala Leu His Asp  
   65                                  70                                  75                                  80

Cys Val Leu Glu Phe Trp Pro Val Glu Leu Asn Asp Thr Gly Ser Tyr  
                                   85                                  90                                  95

Phe Phe Gln Met Lys Asn Tyr Thr Gln Lys Trp Lys Leu Asn Val Ile  
                                   100                                  105                                  110

Arg Arg Asn Lys His Ser Cys Phe Thr Glu Arg Gln Val Thr Ser Lys  
           115                                  120                                  125

Ile Val Glu Val Lys Lys Phe Phe Gln Ile Thr Cys Glu Asn Ser Tyr  
   130                                  135                                  140

Tyr Gln Thr Leu Val Asn Ser Thr Ser Leu Tyr Lys Asn Cys Lys Lys  
   145                                  150                                  155                                  160

Leu Leu Leu Glu Asn Asn Lys Asn Pro Thr Ile Lys Lys Asn Ala Glu  
                                   165                                  170                                  175

Phe Glu Asp Gln Gly Tyr Tyr Ser Cys Val His Phe Leu His His Asn  
                                   180                                  185                                  190

Gly Lys Leu Phe Asn Ile Thr Lys Thr Phe Asn Ile Thr Ile Val Glu  
           195                                  200                                  205

Asp Arg Ser Asn Ile Val Pro Val Leu Leu Gly Pro Lys Leu Asn His  
   210                                  215                                  220

Val Ala Val Glu Leu Gly Lys Asn Val Arg Leu Asn Cys Ser Ala Leu  
   225                                  230                                  235                                  240

Leu Asn Glu Glu Asp Val Ile Tyr Trp Met Phe Gly Glu Glu Asn Gly  
                                   245                                  250                                  255

Ser Asp Pro Asn Ile His Glu Glu Lys Glu Met Arg Ile Met Thr Pro  
           260                                  265                                  270

Glu Gly Lys Trp His Ala Ser Lys Val Leu Arg Ile Glu Asn Ile Gly  
           275                                  280                                  285

Glu Ser Asn Leu Asn Val Leu Tyr Asn Cys Thr Val Ala Ser Thr Gly  
 290 295 300  
 Gly Thr Asp Thr Lys Ser Phe Ile Leu Val Arg Lys Ala Asp Met Ala  
 305 310 315 320  
 Asp Ile Pro Gly His Val Phe Thr Arg Gly Met Ile Ile Ala Val Leu  
 325 330 335  
 Ile Leu Val Ala Val Val Cys Leu Val Thr Val Cys Val Ile Tyr Arg  
 340 345 350  
 Val Asp Leu Val Leu Phe Tyr Arg His Leu Thr Arg Arg Asp Glu Thr  
 355 360 365  
 Leu Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu  
 370 375 380  
 Cys Arg Pro Glu Asn Gly Glu Glu His Thr Phe Ala Val Glu Ile Leu  
 385 390 395 400  
 Pro Arg Val Leu Glu Lys His Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu  
 405 410 415  
 Arg Asp Val Val Pro Gly Gly Ala Val Val Asp Glu Ile His Ser Leu  
 420 425 430  
 Ile Glu Lys Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Lys Ser Tyr Met  
 435 440 445  
 Ser Asn Glu Val Arg Tyr Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu  
 450 455 460  
 Val Glu Arg Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Val Thr  
 465 470 475 480  
 Asp Phe Thr Phe Leu Pro Gln Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser His Arg  
 485 490 495  
 Val Leu Lys Trp Lys Ala Asp Lys Ser Leu Ser Tyr Asn Ser Arg Phe  
 500 505 510  
 Trp Lys Asn Leu Leu Tyr Leu Met Pro Ala Lys Thr Val Lys Pro Gly  
 515 520 525  
 Arg Asp Glu Pro Glu Val Leu Pro Val Leu Ser Glu Ser  
 530 535 540

&lt;210&gt; 5

&lt;211&gt; 2481

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mäuse AcPL

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (428)..(2272)

&lt;400&gt; 5

gcaggcttac tcaccatttc aactaaacct aaccacaacc cctttcttgc caaggaggct 60

ggccagagga cagctttgaa tgctttatctt caggagtctt cttccgtgga taaagatgca 120

caagctggca ttactgaca taaagacttg aatttcttta tttgttgcgc atgtaagagc 180

aggaaacaaa ggaaagagac cttgcagatc ttcatatcat ctaccgggc tccgacctcc 240

```

ttctgtagag aaggcgaata gctggtggcaa gatgagaaac tttgaaaccc tcttcctcca 300
gatatgattc tcccttctac tactgaacag aagtgaagag gatgccagag aaagaggttt 360
gcctctctgc actctccaca ctggcgatca gaagtagctg aagccatgac aggagcaaaag 420

gggaacc atg ctc tgt ttg ggc tgg gtg ttt ctt tgg ttt gtt gca gga 469
      Met Leu Cys Leu Gly Trp Val Phe Leu Trp Phe Val Ala Gly
          1             5             10

gag aag acc aca gga ttt aat cat tca gct tgt gcc acc aaa aaa ctt 517
Glu Lys Thr Thr Gly Phe Asn His Ser Ala Cys Ala Thr Lys Lys Leu
  15             20             25             30

ctg tgg aca tat tct gca agg ggt gca gag aat ttt gtc cta ttt tgt 565
Leu Trp Thr Tyr Ser Ala Arg Gly Ala Glu Asn Phe Val Leu Phe Cys
          35             40             45

gac tta caa gag ctt cag gag caa aaa ttc tcc cat gca agt caa ctg 613
Asp Leu Gln Glu Leu Gln Glu Gln Lys Phe Ser His Ala Ser Gln Leu
          50             55             60

tca cca aca caa agt cct gct cac aaa cct tgc agt ggc agt cag aag 661
Ser Pro Thr Gln Ser Pro Ala His Lys Pro Cys Ser Gly Ser Gln Lys
          65             70             75

gac cta tct gat gtc cag tgg tac atg caa cct cgg agt gga agt cca 709
Asp Leu Ser Asp Val Gln Trp Tyr Met Gln Pro Arg Ser Gly Ser Pro
          80             85             90

cta gag gag atc agt aga aac tct ccc cat atg cag agt gaa ggc atg 757
Leu Glu Glu Ile Ser Arg Asn Ser Pro His Met Gln Ser Glu Gly Met
          95             100             105             110

ctg cat ata ttg gcc cca cag acg aac agc att tgg tca tat att tgt 805
Leu His Ile Leu Ala Pro Gln Thr Asn Ser Ile Trp Ser Tyr Ile Cys
          115             120             125

aga ccc aga att agg agc ccc cag gat atg gcc tgt tgt atc aag aca 853
Arg Pro Arg Ile Arg Ser Pro Gln Asp Met Ala Cys Cys Ile Lys Thr
          130             135             140

gtc tta gaa gtt aag cct cag aga aac gtg tcc tgt ggg aac aca gca 901
Val Leu Glu Val Lys Pro Gln Arg Asn Val Ser Cys Gly Asn Thr Ala
          145             150             155

caa gat gaa caa gtc cta ctt ctt ggc agt act ggc tcc att cat tgt 949
Gln Asp Glu Gln Val Leu Leu Leu Gly Ser Thr Gly Ser Ile His Cys
          160             165             170

ccc agt ctc agc tgc caa agt gat gta cag agt cca gag atg acc tgg 997
Pro Ser Leu Ser Cys Gln Ser Asp Val Gln Ser Pro Glu Met Thr Trp
          175             180             185             190

tac aag gat gga aga cta ctt cct gag cac aag aaa aat cca att gag 1045
Tyr Lys Asp Gly Arg Leu Leu Pro Glu His Lys Lys Asn Pro Ile Glu
          195             200             205

atg gca gat att tat gtt ttt aat caa ggc ttg tat gta tgt gat tac 1093
Met Ala Asp Ile Tyr Val Phe Asn Gln Gly Leu Tyr Val Cys Asp Tyr
          210             215             220

aca cag tca gat aat gtg agt tcc tgg aca gtc cga gct gtg gtt aaa 1141
Thr Gln Ser Asp Asn Val Ser Ser Trp Thr Val Arg Ala Val Val Lys
          225             230             235

```

gtg aga acc att ggt aag gac atc aat gtg aag ccg gaa att ctg gat Val Arg Thr Ile Gly Lys Asp Ile Asn Val Lys Pro Glu Ile Leu Asp 240 245 250	1189
ccc att aca gat aca ctg gac gta gag ctt gga aag cct tta act ctc Pro Ile Thr Asp Thr Leu Asp Val Glu Leu Gly Lys Pro Leu Thr Leu 255 260 265 270	1237
ccc tgc aga gta cag ttt ggc ttc caa aga ctt tca aag cct gtg ata Pro Cys Arg Val Gln Phe Gly Phe Gln Arg Leu Ser Lys Pro Val Ile 275 280 285	1285
aag tgg tat gtc aaa gaa tct aca cag gag tgg gaa atg tca gta ttt Lys Trp Tyr Val Lys Glu Ser Thr Gln Glu Trp Glu Met Ser Val Phe 290 295 300	1333
gag gag aaa aga att caa tcc act ttc aag aat gaa gtc att gaa cgt Glu Glu Lys Arg Ile Gln Ser Thr Phe Lys Asn Glu Val Ile Glu Arg 305 310 315	1381
acc atc ttc ttg aga gaa gtt acc cag aga gat ctc agc aga aag ttt Thr Ile Phe Leu Arg Glu Val Thr Gln Arg Asp Leu Ser Arg Lys Phe 320 325 330	1429
gtt tgc ttt gcc cag aac tcc att ggg aac aca aca cgg acc ata cgg Val Cys Phe Ala Gln Asn Ser Ile Gly Asn Thr Thr Arg Thr Ile Arg 335 340 345 350	1477
ctg agg aag aag gaa gag gtg gtg ttt gta tac atc ctt ctc ggc acg Leu Arg Lys Lys Glu Glu Val Val Phe Val Tyr Ile Leu Leu Gly Thr 355 360 365	1525
gcc ttg atg ctg gtg ggc gtt ctg gtg gca gct gct ttc ctc tac tgg Ala Leu Met Leu Val Gly Val Leu Val Ala Ala Phe Leu Tyr Trp 370 375 380	1573
tac tgg att gaa gtt gtc ctg ctc tgt cga acc tac aag aac aaa gat Tyr Trp Ile Glu Val Val Leu Leu Cys Arg Thr Tyr Lys Asn Lys Asp 385 390 395	1621
gag act ctg ggg gat aag aag gaa ttc gat gca ttt gta tcc tac tcg Glu Thr Leu Gly Asp Lys Lys Glu Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ser 400 405 410	1669
aat tgg agc tct cct gag act gac gcc gtg gga tct ctg agt gag gaa Asn Trp Ser Ser Pro Glu Thr Asp Ala Val Gly Ser Leu Ser Glu Glu 415 420 425 430	1717
cac ctg gct ctg aat ctt ttc ccg gaa gtg cta gaa gac acc tat ggg His Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Glu Val Leu Glu Asp Thr Tyr Gly 435 440 445	1765
tac aga ttg tgt ttg ctt gac cga gat gtg acc cca gga gga gtg tat Tyr Arg Leu Cys Leu Leu Asp Arg Asp Val Thr Pro Gly Gly Val Tyr 450 455 460	1813
gca gat gac att gtg agc atc att aag aaa agc cga aga gga ata ttt Ala Asp Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Lys Ser Arg Arg Gly Ile Phe 465 470 475	1861
atc ctg agt ccc agc tac ctc aat gga ccc cgt gtc ttt gag cta caa Ile Leu Ser Pro Ser Tyr Leu Asn Gly Pro Arg Val Phe Glu Leu Gln 480 485 490	1909
gca gca gtg aat ctt gcc ttg gtt gat cag aca ctg aag ttg att tta Ala Ala Val Asn Leu Ala Leu Val Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile Leu 495 500 505 510	1957

att aag ttc tgt tcc ttc caa gag cca gaa tct ctt cct tac ctt gtc 2005  
 Ile Lys Phe Cys Ser Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro Tyr Leu Val  
 515 520 525

aaa aag gct ctg cgg gtt ctc ccc aca gtc aca tgg aaa ggc ttg aag 2053  
 Lys Lys Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Lys Gly Leu Lys  
 530 535 540

tcg gtc cac gcc agt tcc agg ttc tgg acc caa att cgt tac cac atg 2101  
 Ser Val His Ala Ser Ser Arg Phe Trp Thr Gln Ile Arg Tyr His Met  
 545 550 555

cct gtg aag aac tcc aac agg ttt atg ttc aac ggg ctc aga att ttc 2149  
 Pro Val Lys Asn Ser Asn Arg Phe Met Phe Asn Gly Leu Arg Ile Phe  
 560 565 570

ctg aag ggc ttt tcc cct gaa aag gac cta gtg aca cag aaa ccc ctg 2197  
 Leu Lys Gly Phe Ser Pro Glu Lys Asp Leu Val Thr Gln Lys Pro Leu  
 575 580 585 590

gaa gga atg ccc aag tct ggg aat gac cac gga gct cag aac ctc ctt 2245  
 Glu Gly Met Pro Lys Ser Gly Asn Asp His Gly Ala Gln Asn Leu Leu  
 595 600 605

ctc tac agt gac cag aag agg tgc tga tgggtagaac ttgctgtgtg 2292  
 Leu Tyr Ser Asp Gln Lys Arg Cys  
 610 615

gatcaggctg atagaaattg agcctttctg ctctcagtgc caagcaagct tgacaggcag 2352

tggaatgaag cggcatctgt ggttttaggg tctgggttcc tggaacagac acagagcaat 2412

actccagacc tctgccgtgt gcttagcaca catttccctg agagtccca agtagcctga 2472

acagaatca 2481

<210> 6  
 <211> 614  
 <212> PRT  
 <213> Mäuse AcPL

<400> 6  
 Met Leu Cys Leu Gly Trp Val Phe Leu Trp Phe Val Ala Gly Glu Lys  
 1 5 10 15  
 Thr Thr Gly Phe Asn His Ser Ala Cys Ala Thr Lys Lys Leu Leu Trp  
 20 25 30  
 Thr Tyr Ser Ala Arg Gly Ala Glu Asn Phe Val Leu Phe Cys Asp Leu  
 35 40 45  
 Gln Glu Leu Gln Glu Gln Lys Phe Ser His Ala Ser Gln Leu Ser Pro  
 50 55 60  
 Thr Gln Ser Pro Ala His Lys Pro Cys Ser Gly Ser Gln Lys Asp Leu  
 65 70 75 80  
 Ser Asp Val Gln Trp Tyr Met Gln Pro Arg Ser Gly Ser Pro Leu Glu  
 85 90 95  
 Glu Ile Ser Arg Asn Ser Pro His Met Gln Ser Glu Gly Met Leu His  
 100 105 110  
 Ile Leu Ala Pro Gln Thr Asn Ser Ile Trp Ser Tyr Ile Cys Arg Pro  
 115 120 125

Arg Ile Arg Ser Pro Gln Asp Met Ala Cys Cys Ile Lys Thr Val Leu  
 130 135 140  
 Glu Val Lys Pro Gln Arg Asn Val Ser Cys Gly Asn Thr Ala Gln Asp  
 145 150 155 160  
 Glu Gln Val Leu Leu Leu Gly Ser Thr Gly Ser Ile His Cys Pro Ser  
 165 170 175  
 Leu Ser Cys Gln Ser Asp Val Gln Ser Pro Glu Met Thr Trp Tyr Lys  
 180 185 190  
 Asp Gly Arg Leu Leu Pro Glu His Lys Lys Asn Pro Ile Glu Met Ala  
 195 200 205  
 Asp Ile Tyr Val Phe Asn Gln Gly Leu Tyr Val Cys Asp Tyr Thr Gln  
 210 215 220  
 Ser Asp Asn Val Ser Ser Trp Thr Val Arg Ala Val Val Lys Val Arg  
 225 230 235 240  
 Thr Ile Gly Lys Asp Ile Asn Val Lys Pro Glu Ile Leu Asp Pro Ile  
 245 250 255  
 Thr Asp Thr Leu Asp Val Glu Leu Gly Lys Pro Leu Thr Leu Pro Cys  
 260 265 270  
 Arg Val Gln Phe Gly Phe Gln Arg Leu Ser Lys Pro Val Ile Lys Trp  
 275 280 285  
 Tyr Val Lys Glu Ser Thr Gln Glu Trp Glu Met Ser Val Phe Glu Glu  
 290 295 300  
 Lys Arg Ile Gln Ser Thr Phe Lys Asn Glu Val Ile Glu Arg Thr Ile  
 305 310 315 320  
 Phe Leu Arg Glu Val Thr Gln Arg Asp Leu Ser Arg Lys Phe Val Cys  
 325 330 335  
 Phe Ala Gln Asn Ser Ile Gly Asn Thr Thr Arg Thr Ile Arg Leu Arg  
 340 345 350  
 Lys Lys Glu Glu Val Val Phe Val Tyr Ile Leu Leu Gly Thr Ala Leu  
 355 360 365  
 Met Leu Val Gly Val Leu Val Ala Ala Ala Phe Leu Tyr Trp Tyr Trp  
 370 375 380  
 Ile Glu Val Val Leu Leu Cys Arg Thr Tyr Lys Asn Lys Asp Glu Thr  
 385 390 395 400  
 Leu Gly Asp Lys Lys Glu Phe Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ser Asn Trp  
 405 410 415  
 Ser Ser Pro Glu Thr Asp Ala Val Gly Ser Leu Ser Glu Glu His Leu  
 420 425 430  
 Ala Leu Asn Leu Phe Pro Glu Val Leu Glu Asp Thr Tyr Gly Tyr Arg  
 435 440 445  
 Leu Cys Leu Leu Asp Arg Asp Val Thr Pro Gly Gly Val Tyr Ala Asp  
 450 455 460  
 Asp Ile Val Ser Ile Ile Lys Lys Ser Arg Arg Gly Ile Phe Ile Leu  
 465 470 475 480  
 Ser Pro Ser Tyr Leu Asn Gly Pro Arg Val Phe Glu Leu Gln Ala Ala  
 485 490 495



Val Asn Leu Ala Leu Val Asp Gln Thr Leu Lys Leu Ile Leu Ile Lys  
 500 505 510

Phe Cys Ser Phe Gln Glu Pro Glu Ser Leu Pro Tyr Leu Val Lys Lys  
 515 520 525

Ala Leu Arg Val Leu Pro Thr Val Thr Trp Lys Gly Leu Lys Ser Val  
 530 535 540

His Ala Ser Ser Arg Phe Trp Thr Gln Ile Arg Tyr His Met Pro Val  
 545 550 555 560

Lys Asn Ser Asn Arg Phe Met Phe Asn Gly Leu Arg Ile Phe Leu Lys  
 565 570 575

Gly Phe Ser Pro Glu Lys Asp Leu Val Thr Gln Lys Pro Leu Glu Gly  
 580 585 590

Met Pro Lys Ser Gly Asn Asp His Gly Ala Gln Asn Leu Leu Leu Tyr  
 595 600 605

Ser Asp Gln Lys Arg Cys  
 610

<210> 7  
 <211> 2830  
 <212> DNA  
 <213> Mäuse IL-1Rrp1

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (381)..(1994)

<400> 7  
 tcccagccct ccacctccct acccccgggc gttggcttct tcttcttctt cttctttttt 60  
 ttttttctctg cgataattct ctggtttgcc aaatctctct aatcaagctc ctggccttgc 120  
 ctcaactgtgc cttccctccc tgtctgttgt cacagttgtg gaccaggagg tatttagtct 180  
 caattgtctgg gcgaatcctg cttcacagat gtaagcgaag gagaagccac tgcccaggcc 240  
 tgtgtgtggg ccacctctct gaaggtaagg gcagactctg atgtccagtc ctcaactgtct 300  
 tctgctgtct ggagcaagga gaggaaccac ccacaacgat cctgaaaaca agagatacca 360  
 ttcaaagtgg aagcctaaac atg cat cat gaa gaa tta atc ttg aca ctc tgc 413  
 Met His His Glu Glu Leu Ile Leu Thr Leu Cys  
 1 5 10

att ctc att gtt aaa agt gcc tca aaa agt tgt att cac cga tca caa 461  
 Ile Leu Ile Val Lys Ser Ala Ser Lys Ser Cys Ile His Arg Ser Gln  
 15 20 25

att cat gtg gta gag gga gaa cct ttt tat ctg aag cca tgt ggc ata 509  
 Ile His Val Val Glu Gly Glu Pro Phe Tyr Leu Lys Pro Cys Gly Ile  
 30 35 40

tct gca cca gtg cac agg aat gaa aca gcc acc atg aga tgg ttc aaa 557  
 Ser Ala Pro Val His Arg Asn Glu Thr Ala Thr Met Arg Trp Phe Lys  
 45 50 55

ggc agt gct tca cat gag tat aga gag ctg aac aac aga agc tcg ccc 605  
 Gly Ser Ala Ser His Glu Tyr Arg Glu Leu Asn Asn Arg Ser Ser Pro  
 60 65 70 75

aga gtc act ttt cat gat cac acc ttg gaa ttc tgg cca gtt gag atg	653
Arg Val Thr Phe His Asp His Thr Leu Glu Phe Trp Pro Val Glu Met	
80 85 90	
gag gat gag gga acg tac att tct caa gtc gga aat gat cgt cgc aat	701
Glu Asp Glu Gly Thr Tyr Ile Ser Gln Val Gly Asn Asp Arg Arg Asn	
95 100 105	
tgg acc tta aat gtc acc aaa aga aac aaa cac agc tgt ttc tct gac	749
Trp Thr Leu Asn Val Thr Lys Arg Asn Lys His Ser Cys Phe Ser Asp	
110 115 120	
aag ctc gtg aca agc aga gat gtt gaa gtt aac aaa tct ctg cat atc	797
Lys Leu Val Thr Ser Arg Asp Val Glu Val Asn Lys Ser Leu His Ile	
125 130 135	
act tgt aag aat cct aac tat gaa gag ctg atc cag gac aca tgg ctg	845
Thr Cys Lys Asn Pro Asn Tyr Glu Glu Leu Ile Gln Asp Thr Trp Leu	
140 145 150 155	
tat aag aac tgt aag gaa ata tcc aaa acc cca agg atc ctg aag gat	893
Tyr Lys Asn Cys Lys Glu Ile Ser Lys Thr Pro Arg Ile Leu Lys Asp	
160 165 170	
gcc gag ttt gga gat gag ggc tac tac tcc tgc gtg ttt tct gtc cac	941
Ala Glu Phe Gly Asp Glu Gly Tyr Tyr Ser Cys Val Phe Ser Val His	
175 180 185	
cat aat ggg aca cgg tac aac atc acc aag act gtc aat ata aca gtt	989
His Asn Gly Thr Arg Tyr Asn Ile Thr Lys Thr Val Asn Ile Thr Val	
190 195 200	
att gaa gga agg agt aaa gta act cca gct att tta gga cca aag tgt	1037
Ile Glu Gly Arg Ser Lys Val Thr Pro Ala Ile Leu Gly Pro Lys Cys	
205 210 215	
gag aag gtt ggt gta gaa cta gga aag gat gtg gag ttg aac tgc agt	1085
Glu Lys Val Gly Val Glu Leu Gly Lys Asp Val Glu Leu Asn Cys Ser	
220 225 230 235	
gct tca ttg aat aaa gac gat ctg ttt tat tgg agc atc agg aaa gag	1133
Ala Ser Leu Asn Lys Asp Asp Leu Phe Tyr Trp Ser Ile Arg Lys Glu	
240 245 250	
gac agc tca gac cct aat gtg caa gaa gac agg aag gag acg aca aca	1181
Asp Ser Ser Asp Pro Asn Val Gln Glu Asp Arg Lys Glu Thr Thr Thr	
255 260 265	
tgg att tct gaa ggc aaa ctg cat gct tca aaa ata ctg aga ttt cag	1229
Trp Ile Ser Glu Gly Lys Leu His Ala Ser Lys Ile Leu Arg Phe Gln	
270 275 280	
aaa att act gaa aac tat ctc aat gtt tta tat aat tgc acc gtg gcc	1277
Lys Ile Thr Glu Asn Tyr Leu Asn Val Leu Tyr Asn Cys Thr Val Ala	
285 290 295	
aac gaa gaa gcc ata gac acc aag agc ttc gtc ttg gtg aga aaa gaa	1325
Asn Glu Glu Ala Ile Asp Thr Lys Ser Phe Val Leu Val Arg Lys Glu	
300 305 310 315	
ata cct gat atc cca ggc cat gtc ttt aca gga gga gta act gtg ctt	1373
Ile Pro Asp Ile Pro Gly His Val Phe Thr Gly Gly Val Thr Val Leu	
320 325 330	
ggt ctc gcc tct gtg gca gca gtg tct ata gtg att ttg tgt gtc att	1421
Val Leu Ala Ser Val Ala Ala Val Cys Ile Val Ile Leu Cys Val Ile	
335 340 345	

tat aaa gtt gac ttg gtt ctg ttc tat agg cgc ata gcg gaa aga gac	1469
Tyr Lys Val Asp Leu Val Leu Phe Tyr Arg Arg Ile Ala Glu Arg Asp	
350 355 360	
gag aca cta aca gat ggt aaa aca tat gat gcc ttt gtg tct tac ctg	1517
Glu Thr Leu Thr Asp Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu	
365 370 375	
aaa gag tgt cat cct gag aat aaa gaa gag tat act ttt gct gtg gag	1565
Lys Glu Cys His Pro Glu Asn Lys Glu Glu Tyr Thr Phe Ala Val Glu	
380 385 390 395	
acg tta ccc agg gtc ctg gag aaa cag ttt ggg tat aag tta tgc ata	1613
Thr Leu Pro Arg Val Leu Glu Lys Gln Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile	
400 405 410	
ttt gaa aga gat gtg gtg cct ggc gga gct gtt gtc gag gag atc cat	1661
Phe Glu Arg Asp Val Val Pro Gly Gly Ala Val Val Glu Glu Ile His	
415 420 425	
tca ctg ata gag aaa agc cgg agg cta atc atc gtt ctc agc cag agt	1709
Ser Leu Ile Glu Lys Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Gln Ser	
430 435 440	
tac ctg act aac gga gcc agg cgt gag ctc gag agt gga ctc cac gaa	1757
Tyr Leu Thr Asn Gly Ala Arg Arg Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu	
445 450 455	
gca ctg gta gag agg aag att aag atc atc tta att gag ttt act cca	1805
Ala Leu Val Glu Arg Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro	
460 465 470 475	
gcc agc aac atc acc ttt ctc ccc ccg tcg ctg aaa ctc ctg aag tcc	1853
Ala Ser Asn Ile Thr Phe Leu Pro Pro Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser	
480 485 490	
tac aga gtt cta aaa tgg agg gct gac agt ccc tcc atg aac tca agg	1901
Tyr Arg Val Leu Lys Trp Arg Ala Asp Ser Pro Ser Met Asn Ser Arg	
495 500 505	
ttc tgg aag aat ctt gtt tac ctg atg ccc gca aaa gcc gtc aag cca	1949
Phe Trp Lys Asn Leu Val Tyr Leu Met Pro Ala Lys Ala Val Lys Pro	
510 515 520	
tgg aga gag gag tgg gag gcg cgg tct gtt ctc tca gca cct tga	1994
Trp Arg Glu Glu Ser Glu Ala Arg Ser Val Leu Ser Ala Pro	
525 530 535	
gctccagacg agcttgatgt caaaagcaag tgaagcgctg ctgaggttca tgcgtgtgcc	2054
tattcacagc ggtagctgtg gttcaaaagg ctgaattttg tgactatacc cccactccc	2114
agttaggaga gttgtcatcg ggtcatcaca gatgaaacag agccttggtt gtgatcctga	2174
actcgcagag ggggccttgg gattcacaag aaatcagttt gttattcttt cttcctctgg	2234
agcagtgatt cccaacctgt gggttgtggc ccctttggca aacctttatc tccaaaatag	2294
atgtacgcta tgattcataa ctgtagccaa ctacagtta caaagtagca acgaaaaaag	2354
ttttatgggtt ggggggtttca ccacagtgtg aagaactgta ttaaagggtt gaagcattag	2414
gaaggttgag aaccgctggc ctgagctgtg ctgcccaaag cttcttgtga ccttgcaagt	2474
gcctgagtga agcaagaata ttctagggaa ctctagagca gagactgtgc tgaacaaaca	2534
cagtagattt taggaaaacc aaaccaaacc aaatgaaagg aaaggaaaca gaaaaaaaaa	2594

caagaagaat ggggattctt aagtaatttt tgtaactcat gacttcatgt gctatttgac 2654  
 tgacttgaga aaagaaggta aattcattca acatctgctg tcacaacagc tgtgtgtgaa 2714  
 aacctagcat cagaagagag ttgggagagt ttgagacttc gctttgttct tctatcagcc 2774  
 aagcttcgac acatgaagtt tattttatat gaaatatatt ttgtattaaa tctgcc 2830

<210> 8

<211> 537

<212> PRT

<213> Mäuse IL-1Rrp1

<400> 8

Met His His Glu Glu Leu Ile Leu Thr Leu Cys Ile Leu Ile Val Lys  
 1 5 10 15

Ser Ala Ser Lys Ser Cys Ile His Arg Ser Gln Ile His Val Val Glu  
 20 25 30

Gly Glu Pro Phe Tyr Leu Lys Pro Cys Gly Ile Ser Ala Pro Val His  
 35 40 45

Arg Asn Glu Thr Ala Thr Met Arg Trp Phe Lys Gly Ser Ala Ser His  
 50 55 60

Glu Tyr Arg Glu Leu Asn Asn Arg Ser Ser Pro Arg Val Thr Phe His  
 65 70 75 80

Asp His Thr Leu Glu Phe Trp Pro Val Glu Met Glu Asp Glu Gly Thr  
 85 90 95

Tyr Ile Ser Gln Val Gly Asn Asp Arg Arg Asn Trp Thr Leu Asn Val  
 100 105 110

Thr Lys Arg Asn Lys His Ser Cys Phe Ser Asp Lys Leu Val Thr Ser  
 115 120 125

Arg Asp Val Glu Val Asn Lys Ser Leu His Ile Thr Cys Lys Asn Pro  
 130 135 140

Asn Tyr Glu Glu Leu Ile Gln Asp Thr Trp Leu Tyr Lys Asn Cys Lys  
 145 150 155 160

Glu Ile Ser Lys Thr Pro Arg Ile Leu Lys Asp Ala Glu Phe Gly Asp  
 165 170 175

Glu Gly Tyr Tyr Ser Cys Val Phe Ser Val His His Asn Gly Thr Arg  
 180 185 190

Tyr Asn Ile Thr Lys Thr Val Asn Ile Thr Val Ile Glu Gly Arg Ser  
 195 200 205

Lys Val Thr Pro Ala Ile Leu Gly Pro Lys Cys Glu Lys Val Gly Val  
 210 215 220

Glu Leu Gly Lys Asp Val Glu Leu Asn Cys Ser Ala Ser Leu Asn Lys  
 225 230 235 240

Asp Asp Leu Phe Tyr Trp Ser Ile Arg Lys Glu Asp Ser Ser Asp Pro  
 245 250 255

Asn Val Gln Glu Asp Arg Lys Glu Thr Thr Thr Trp Ile Ser Glu Gly  
 260 265 270

Lys Leu His Ala Ser Lys Ile Leu Arg Phe Gln Lys Ile Thr Glu Asn  
 275 280 285

```

Tyr Leu Asn Val Leu Tyr Asn Cys Thr Val Ala Asn Glu Glu Ala Ile
 290                295                300

Asp Thr Lys Ser Phe Val Leu Val Arg Lys Glu Ile Pro Asp Ile Pro
 305                310                315                320

Gly His Val Phe Thr Gly Gly Val Thr Val Leu Val Leu Ala Ser Val
                325                330                335

Ala Ala Val Cys Ile Val Ile Leu Cys Val Ile Tyr Lys Val Asp Leu
                340                345                350

Val Leu Phe Tyr Arg Arg Ile Ala Glu Arg Asp Glu Thr Leu Thr Asp
                355                360                365

Gly Lys Thr Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Leu Lys Glu Cys His Pro
 370                375                380

Glu Asn Lys Glu Glu Tyr Thr Phe Ala Val Glu Thr Leu Pro Arg Val
 385                390                395                400

Leu Glu Lys Gln Phe Gly Tyr Lys Leu Cys Ile Phe Glu Arg Asp Val
                405                410                415

Val Pro Gly Gly Ala Val Val Glu Glu Ile His Ser Leu Ile Glu Lys
                420                425                430

Ser Arg Arg Leu Ile Ile Val Leu Ser Gln Ser Tyr Leu Thr Asn Gly
                435                440                445

Ala Arg Arg Glu Leu Glu Ser Gly Leu His Glu Ala Leu Val Glu Arg
                450                455                460

Lys Ile Lys Ile Ile Leu Ile Glu Phe Thr Pro Ala Ser Asn Ile Thr
 465                470                475                480

Phe Leu Pro Pro Ser Leu Lys Leu Leu Lys Ser Tyr Arg Val Leu Lys
                485                490                495

Trp Arg Ala Asp Ser Pro Ser Met Asn Ser Arg Phe Trp Lys Asn Leu
                500                505                510

Val Tyr Leu Met Pro Ala Lys Ala Val Lys Pro Trp Arg Glu Glu Ser
                515                520                525

Glu Ala Arg Ser Val Leu Ser Ala Pro
 530                535

```

### Patentansprüche

1. Rezeptor, der mindestens ein IL-1Rrp1-Polypeptid enthält, das mit mindestens einem AcPL-Polypeptid verknüpft ist, wobei das IL-1Rrp1-Polypeptid durch eine DNA codiert ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die besteht aus

a) DNA, die eine Nukleotidsequenz enthält, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus dem codierenden Bereich der in SEQ ID NO:3 wiedergegebenen Nukleotidsequenz und dem codierenden Bereich der in SEQ ID NO:7 wiedergegebenen Nukleotidsequenz besteht;

b) DNA, die zur DNA komplementär ist, die an die DNA von (a) hybridisieren kann, wobei die Hybridisierungsbedingungen Vorwaschen mit 5X SSC, 0,5 % SDS, 1,0 mM EDTA (pH-Wert 8,0) und Hybridisieren bei 55°C und 5X SSC über Nacht einschließen; und

c) DNA, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus DNA, die ein Polypeptid codiert, das die in SEQ ID NO:4 wiedergegebene Aminosäuresequenz aufweist, und DNA besteht, welche ein Polypeptid codiert, das die in SEQ ID NO:8 wiedergegebene Aminosäuresequenz aufweist; und

wobei das AcPL-Polypeptid durch eine DNA codiert ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

a') DNA, die eine Nukleotidsequenz aufweist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus dem codierenden Bereich der in SEQ ID NO:1 wiedergegebenen Nukleotidsequenz und dem codierenden Bereich der in SEQ ID NO:5 wiedergegebenen Nukleotidsequenz besteht;

b') DNA, die zur DNA komplementär ist, die an die DNA von (a') hybridisieren kann, wobei die Hybridisierungs-

bedingungen Vorwaschen mit 5X SSC, 0,5 % SDS, 1,0 mM EDTA (ph-Wert 8,0) und Hybridisieren bei 55°C und 5X SSC über Nacht einschließen, und

c') DNA, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus DNA, die ein Polypeptid codiert, das die in SEQ ID NO:2 wiedergegebene Aminosäure-sequenz aufweist, und DNA besteht, welche die in SEQ ID NO:6 wiedergegebene Aminosäuresequenz codiert.

2. Rezeptor, der mindestens ein erstes Polypeptid aufweist, das mit mindestens einem zweiten Polypeptid verknüpft ist, wobei das erste Polypeptid durch eine DNA codiert ist, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

a) DNA, welche ein Polypeptid codiert, das Aminosäuren y-329 von SEQ ID NO:4 aufweist, wobei y für eine ganze Zahl steht, die 1 oder 20 ist; und

b) DNA, welche ein Polypeptid codiert, das Aminosäuren y'-322 von SEQ ID NO:8 aufweist, wobei y' für eine ganze Zahl steht, die 1 oder 19 ist; und

c) DNA, die zur DNA komplementär ist, die an die DNA von a) oder b) hybridisieren kann, wobei die Hybridisierungsbedingungen Vorwaschen mit 5 X SSC, 0,5 % SDS, 1,0 mM EDTA (ph-Wert 8,0) und Hybridisieren bei 55°C und 5X SSC über Nacht einschließen;

und wobei das zweite Polypeptid durch eine DNA codiert wird, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die Folgendes umfasst:

a') DNA, die ein Polypeptid codiert, das Aminosäuren x-365 von SEQ ID NO:2 aufweist, wobei x eine ganze Zahl zwischen und einschließlich 1 und 15 ist; und

b') DNA, die ein Polypeptid codiert, das Aminosäuren x'-356 von SEQ ID NO:6 aufweist, wobei x' eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 15 ist, und

c') DNA, die zur DNA komplementär ist, die an die DNA von a') oder b') hybridisieren kann, wobei die Hybridisierungsbedingungen Vorwaschen mit 5X SSC, 0,5 % SDS, 1,0 mM EDTA (ph-Wert 8,0) und Hybridisieren bei 55°C und 5X SSC über Nacht einschließen.

3. Polypeptid, das mindestens ein IL-1Rrp1-Polypeptid aufweist, das mit mindestens einem AcPL-Polypeptid verknüpft ist, wobei das IL-1Rrp1-Polypeptid das Polypeptid von SEQ ID NO:4 und das AcPL-Polypeptid das Polypeptid von SEQ ID NO:2 aufweist.

4. Polypeptid nach Anspruch 3, wobei das IL-1Rrp1-Polypeptid und das AcPL-Polypeptid über einen Peptid-Linker verknüpft sind.

5. Polypeptid, das mindestens ein IL-1Rrp1-Polypeptid aufweist, das mit mindestens einem AcPL-Polypeptid verknüpft ist, wobei das IL-1Rrp1-Polypeptid ein Polypeptid mit Aminosäuren y-329 von SEQ ID NO: 4 aufweist, wobei y für eine ganze Zahl steht, die 1 oder 20 ist; und SEQ ID NO: 4; und das AcPL-Polypeptid ein Polypeptid aufweist, das Aminosäuren x-356 von SEQ ID NO:2 aufweist, wobei x eine ganze Zahl zwischen und einschließlich 1 und 15 ist.

6. Polypeptid, das mindestens ein IL-1Rrp1-Polypeptid aufweist, das mit mindestens einem AcPL-Polypeptid verknüpft ist, wobei das AcPL-Polypeptid ein Polypeptid aufweist, das mindestens zu 80 % mit einem Polypeptid mit Aminosäuren x-356 von SEQ ID NO:2 identisch ist, wobei x eine ganze Zahl zwischen und einschließlich 1 und 15 ist; und wobei das IL-1Rrp1-Polypeptid ein Polypeptid enthält, das zu mindestens 80 % mit einem Polypeptid IL-1Rrp1 identisch ist, wobei das Polypeptid ein Polypeptid mit Aminosäuren y-329 von SEQ ID NO:4 aufweist, wobei y eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 20 ist, und wobei die %-Identität unter Verwendung des GAP-Programmes bestimmt wird.

7. Polypeptid mit einer Formel, die aus der Gruppe ausgewählt wird, die aus Folgendem besteht:

$R_1-L_1:R_2-L_2$ ,  $R_2-L_2:R_1-L_1$ ,  $R_1-L_2:R_2-L_1$ ,  $R_2-L_1:R_1-L_2$ ,  $R_1-L_1:R_2-L_2/R_2-L_2:R_1-L_1$  und  $R_1-L_2:R_2-L_1/R_2-L_1:R_1-L_2$ , wobei  $L_1$  ein Immunoglobulin-Fragment schwerer Kette,  $L_2$  ein Immunoglobulinfragment leichter Kette,  $R_1$  AcPL oder ein AcPL-Fragment;  $R_2$  IL-1Rrp1 oder ein IL-1Rrp1-Fragment; : eine Verknüpfung zwischen einer Schwerketten- und einer Leichtketten-Antikörperregion und / eine Verknüpfung zwischen einer Schwerketten- und einer Schwerketten-Antikörperregion ist, und

wobei  $R_2$  aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

a) Polypeptiden, die Aminosäuren y-329 von SEQ ID NO:4 aufweisen, wobei y eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 20 ist; und

b) Polypeptiden, die Aminosäuren y'-322 von SEQ ID NO:8 aufweisen, wobei y' eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 19 ist;

und wobei  $R_2$  aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

a') Polypeptiden, die Aminosäuren x-356 von SEQ ID NO:2 aufweisen, wobei x eine ganze Zahl darstellt, die

1 oder 15 ist, und

b') Polypeptiden, die Aminosäuren x'-356 von SEQ ID NO:6 aufweisen, wobei x' eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 15 ist.

8. Polypeptid, das ein erstes Fusionspolypeptid, das ein Antikörper-Leichtkettenpolypeptid aufweist, das an den C-Terminus eines löslichen IL-1Rrp1 oder eines löslichen AcPL angeheftet ist, und ein zweites Fusionspolypeptid enthält, das ein Antikörper-Schwerkettenpolypeptid aufweist, das an den C-Terminus eines löslichen AcPL oder eines löslichen IL-1Rrp1 angeheftet ist, wobei das erste Fusionspolypeptid mit dem zweiten Fusionspolypeptid über Disulfidverbindungen zwischen den Schwerketten- und Leichtkettenpolypeptiden verknüpft ist; und

wobei das lösliche IL-1Rrp1 aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

c) Polypeptiden, die Aminosäuren y-329 von SEQ ID NO:4 aufweisen, wobei y eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 20 ist, und

d) Polypeptiden, die Aminosäuren y'-322 von SEQ ID NO:8 aufweisen, wobei y' eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 19 ist, und wobei das lösliche AcPL aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

a') Polypeptiden, die Aminosäuren x-356 von SEQ ID NO:2 aufweisen, wobei x eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 15 ist, und

b') Polypeptiden, die Aminosäuren x'-356 von SEQ ID NO:6 aufweisen, wobei x' eine ganze Zahl darstellt, die 1 oder 15 ist.

9. Erstes Polypeptid mit einer Formel, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Folgendem besteht:

$R_1-L_1-R_2-L_2$ ,  $R_2-L_2-R_1-L_1$ ,  $R_1-L_2-R_2-L_1$ ,  $R_2-L_1-R_1-L_2$ ,  $R_1-L_1-R_2-L_2/R_2-L_2-R_1-L_1$  und  $R_1-L_2-R_2-L_1/R_2-L_1-R_1-L_2$ , wobei  $L_1$  ein Immunoglobulin-Fragment schwerer Kette,  $L_2$  ein Immunoglobulinfragment leichter Kette,  $R_1$  ein AcPL-Fragment;  $R_2$  ein IL-1Rrp1-Fragment; eine Verknüpfung zwischen einer Schwerketten- und einer Leichtketten-Antikörperregion und / eine Verknüpfung zwischen einer Schwerketten- und einer Schwerketten-Antikörperregion ist, wobei das AcPL-Fragment ein Teil der extrazellulären Region eines nativen AcPL-Polypeptids mit Aminosäuren 1-356 von SEQ ID NO:6 und das IL-1Rrp1-Fragment ein Teil der extrazellulären Region eines nativen IL-1Rrp1-Polypeptids mit Aminosäuren 1-329 von SEQ ID NO:4 ist und wobei das erste Polypeptid IL-18 mit größerer Affinität bindet als IL-1Rrp1 alleine.

10. Isoliertes DNA-Molekül, das ausgewählt wird aus:

a) DNA, die das Polypeptid nach Anspruch 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 oder 9 codiert, und

b) DNA, die zur DNA komplementär ist, die an die DNA von a) hybridisieren kann, wobei die Hybridisierungsbedingungen Vorwaschen mit 5X SSC, 0,5 % SDS, 1,0 mM EDTA (pH-Wert 8,0) und Hybridisieren bei 55°C und 5X SSC über Nacht einschließen.

11. Rekombinanter Expressionsvektor, der eines der DNA-Moleküle nach Anspruch 10 enthält.

12. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, wobei das Verfahren das Züchten einer Wirtszelle aufweist, welche mit einem der Expressionsvektoren nach Anspruch 11 unter Bedingungen transformiert wird, welche die Expression des Polypeptids fördern.

13. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids nach Anspruch 8, wobei das Verfahren das Züchten einer Wirtszelle aufweist, welche mit einem ersten Expressionsvektor, der das erste Fusionspolypeptid codiert, und mit einem zweiten Expressionsvektor, der das zweite Fusionspolypeptid codiert, unter Bedingungen co-transfiziert, welche die Expression des ersten und des zweiten Fusionspolypeptids fördern.

14. Zusammensetzung, welche ein Polypeptid nach Anspruch 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 oder 8 und ein geeignetes Verdünnungsmittel oder einen geeigneten Träger aufweist.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 14 zur Verwendung beim Hemmen der Auswirkungen von IL-18 zur Behandlung von Entzündungs- und/oder Autoimmunerkrankungen, die auf IL-18-Signalisierung zurückzuführen sind.

16. Polypeptid, das mindestens ein erstes Polypeptid aufweist, das mit mindestens einem zweiten Polypeptid verknüpft ist, wobei das erste Polypeptid einen Teil der extrazellulären Region eines nativen IL-Rrp1-Polypeptids mit Aminosäuren 1-329 von SEQ ID NO:4 aufweist, und wobei das zweite Polypeptid einen Teil der extrazellulären Region eines nativen AcPL-Polypeptids mit Aminosäuren 1-356 von SEQ ID NO:2 aufweist, wobei das Polypeptid IL-18 mit einer größeren Affinität bindet, als das erste Polypeptid alleine.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen