

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12N 15/12

[12] 发明专利申请公开说明书

C12N 15/19 C12N 5/00

C12N 5/10 C07K 14/47

C07K 14/52 A61K 38/17

A61K 38/20 A61K 48/00

[21] 申请号 99815591.8

[43] 公开日 2002 年 6 月 5 日

[11] 公开号 CN 1352686A

[22] 申请日 1999.12.13 [21] 申请号 99815591.8

[30] 优先权

[32] 1998.12.14 [33] US [31] 09/211,335

[86] 国际申请 PCT/US99/29493 1999.12.13

[87] 国际公布 WO00/36103 英 2000.6.22

[85] 进入国家阶段日期 2001.7.12

[71] 申请人 遗传学院有限公司

地址 美国马萨诸塞州

共同申请人 约翰斯霍普金斯大学

[72] 发明人 玛丽·柯林斯 德布拉·唐纳德森

洛丽·菲特茨 特玛林·内本

马修·J·惠蒂尔斯 克莱夫·伍德

马歇·威尔斯-卡尔普

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 16 页 说明书 35 页 附图页数 4 页

[54] 发明名称 细胞因子受体链

[57] 摘要

本发明公开了编码 IL-13 受体和其片段的多核苷酸。本发明还公开了 IL-13 受体蛋白质,制备它们的方法,IL-13 与其受体结合的抑制剂和它们的鉴别方法。本发明还提供了使用这些分子和 IL-13/IL-13R 相互作用的拮抗剂的医学治疗方法。

ISSN 1008-4274

权 利 要 求 书

1. 一种分离的多核苷酸，包括从下列组中选取的核苷酸序列：
 - (a) 从核苷酸 256 到核苷酸 1404 的 SEQ ID NO: 1 核苷酸序列；
 - (b) 从核苷酸 103 到核苷酸 1242 的 SEQ ID NO: 3 核苷酸序列；
 - (c) 由于遗传密码的简并从 (a) 或 (b) 定义的核苷酸序列的序列中变化而来的核苷酸序列；
 - (d) 在严格条件下能与 (a) 或 (b) 定义的核苷酸杂交的核苷酸序列；
 - (e) 编码 (a) 或 (b) 定义的序列的物种同族体的核苷酸序列；
 - (f) (a) 或 (b) 定义的核苷酸序列的等位基因变体。
2. 依据权利要求 1 的多核苷酸，其中所说的核苷酸序列编码具有 IL-13R 结合链生物活性的蛋白质。
3. 依据权利要求 1 的多核苷酸，其中所说的核苷酸序列是可操作地结合表达控制序列。
4. 依据权利要求 1 的多核苷酸，包括从核苷酸 319 到核苷酸 1257 的 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列。
5. 依据权利要求 1 的多核苷酸，包括从核苷酸 1324 到核苷酸 1404 的 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列。

6. 依据权利要求 1 的多核苷酸, 包括从核苷酸 178 到核苷酸 1125 的 SEQ ID NO: 3 的核苷酸序列。
7. 依据权利要求 1 的多核苷酸, 包括从核苷酸 1189 到核苷酸 1242 的 SEQ ID NO: 3 的核苷酸序列。
8. 一种用权利要求 3 的多核苷酸转化的宿主细胞。
9. 依据权利要求 8 的宿主细胞, 其中所说的细胞是哺乳动物细胞。
10. 一种制备 IL-13bc 蛋白质的方法, 所说的方法包括:
 - (a) 在适当的培养介质中培养权利要求 8 的宿主细胞培养物;
 - (b) 从培养物中提纯 IL-13bc 蛋白质。
11. 一种分离的 IL-13bc 蛋白质, 包括从下列组中选取的氨基酸序列:
 - (a) SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;
 - (b) 从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;
 - (c) 从氨基酸 357 到氨基酸 383 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;
 - (d) SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;
 - (e) 从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;
 - (f) 从氨基酸 363 到氨基酸 380 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;
 - (g) 具有 IL-13 受体结合链生物活性的 (a) - (f) 的片段。

12. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。
13. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的序列。
14. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列。
15. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的序列。
16. 一种药学组合物，包括权利要求 11 的蛋白质和药学可接受的载体。
17. 一种依据权利要求 10 制备的蛋白质。
18. 一种组合物，包括特异与权利要求 11 的蛋白质反应的抗体。

19. 一种鉴别结合 IL - 13 或 IL - 13 受体的抑制剂的方法，其包括：

(a)将权利要求 11 的蛋白质与 IL - 13 或其片段结合，所说的结合形成第一结合混合物；

(b)测定在第一结合混合物中蛋白质和 IL - 13 或片段结合的量；

(c)将一种化合物与蛋白质和 IL - 13 或片段结合形成第二结合混合物；

(d)测定在第二结合混合物中结合的量；

(e)比较在第一结合混合物中的结合量和在第二结合混合物中的结合量；

其中当第二结合混合物的结合量降低发生时，化合物能抑制 IL - 13 与 IL - 13 受体的结合。

20. 一种由权利要求 19 的方法鉴别的抑制剂。

21. 一种药学组合物，包括权利要求 20 的抑制剂和药学可接受的载体。

22. 一种在哺乳动物受试体中抑制 IL - 13 结合 IL - 13 受体的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的权利要求 21 的组合物。

23. 一种在哺乳动物受试体中抑制 IL - 13 结合 IL - 13 受体的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的权利要求 16 的组合物。

24. 一种在哺乳动物受试体中抑制 IL - 13 结合 IL - 13 受体的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的权利要求 18 的组合物。
25. 一种分离的多核苷酸，包括编码含有从下列组中选取的氨基酸序列的肽或蛋白质的核苷酸序列：
- (a)SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列；
 - (b)从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列；
 - (c)从氨基酸 357 到氨基酸 383 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列；
 - (d)SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列；
 - (e)从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列；
 - (f)从氨基酸 363 到氨基酸 380 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列；
 - (g)具有 IL - 13 受体结合链生物活性的 (a) - (f) 的片段。
26. 依据权利要求 11 的蛋白质，其中所说的氨基酸序列是部分融合蛋白质。
27. 依据权利要求 26 的蛋白质，包括 Fc 片段。
28. 一种在哺乳动物受试体内治疗 IL - 13 相关的病况的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的权利要求 16 的组合物。

29. 依据权利要求 28 的方法，其中所说的包括是 IgE - 调节的病况。
30. 依据权利要求 29 的方法，其中所说的病况是从下列组中选取的，包括遗传性过敏症，过敏性病况，哮喘和免疫复合疾病。
31. 依据权利要求 30 的方法，其中所说的病况是从下列组中选取的，病况狼疮，肾炎，甲状腺炎和 Grave 症。
32. 一种改善 IL - 13 活性的方法，所说的方法包括将具有 IL - 13 活性的蛋白质与权利要求 11 的蛋白质结合，并将这样的组合物与除了 IL - 13bc 外表达至少一条 IL - 13R 链的细胞接触。
33. 依据权利要求 32 的方法，其中接触步骤通过给哺乳动物受试体服用治疗上有效量的这种组合物来实施。
34. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括从氨基酸 1 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。
35. 依据权利要求 11 的蛋白质，包括从氨基酸 26 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。
36. 依据权利要求 25 的多核苷酸，其编码包括从氨基酸 1 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列肽或蛋白质。
37. 依据权利要求 25 的多核苷酸，其编码包括从氨基酸 26 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列肽或蛋白质。
38. 依据权利要求 28 的方法，其中所说的病况是肺的炎症病况。

39. 一种在哺乳动物受试体内治疗 IL-13 相关的病况的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的包括 IL-13 拮抗剂和药学可接受的载体的组合物。
40. 依据权利要求 39 的方法，其中所说的病况是 IgE-调节的病况。
41. 依据权利要求 40 的方法，其中所说的病况是从下列组中选取的，包括遗传性过敏症，过敏性病况，哮喘和免疫复合疾病。
42. 依据权利要求 41 的方法，其中所说的病况是从下列组中选取的，包括狼疮，肾炎，甲状腺炎和 Grave 症。
43. 依据权利要求 39 的方法，其中所说的拮抗剂是从下列组中选取的，包括 IL-13bc 蛋白质，IL-13R α 1 的可溶形式，IL-13 或其 IL-13 结合片段的抗体，IL-13bc 或其 IL-13bc 结合片段的抗体，IL-13R α 1 或其 IL-13R α 1 结合片段的抗体，IL-4 的 IL-13R 结合突变体，能炎症 IL-13 与 IL-13bc 相互作用的小分子，和能炎症 IL-13 与 IL-13R α 1 相互作用的小分子。
44. 依据权利要求 43 的方法，其中所说的 IL-13bc 蛋白质是权利要求 11 的蛋白质。
45. 一种在哺乳动物受试体中抑制 IL-13 与 IL-13bc 蛋白质相互作用的方法，所说的方法包括服用治疗上有效量的含有 IL-13 拮抗剂和药学可接受的载体的组合物。

46. 依据权利要求 45 的方法，其中所说的拮抗剂是从下列组中选取的，包括 IL-13bc 蛋白质，IL-13R α 1 的可溶形式，IL-13 或其 IL-13 结合片段的抗体，IL-13bc 或其 IL-13bc 结合片段的抗体，IL-13R α 1 或其 IL-13R α 1 结合片段的抗体，IL-4 的 IL-13R 结合突变体，能炎症 IL-13 与 IL-13bc 相互作用的小分子，和能炎症 IL-13 与 IL-13R α 1 相互作用的小分子。
47. 依据权利要求 46 的方法，其中所说的 IL-13bc 蛋白质是权利要求 11 的蛋白质。

说明书

细胞因子受体链

本发明是 1997 年 4 月 30 日提交的申请序列号 No.08/841,751 申请的部分继续申请, 而序列号为 No.08/841,751 的申请是 1996 年 3 月 1 日提交的序列号 No. 08/609,572 申请的分案申请。

本发明的领域

本发明涉及对 IL-13 具有亲和力的哺乳动物细胞因子受体蛋白质(包括但不限于人类和鼠科动物受体蛋白质), 其片段和用来表达这种蛋白质的重组多核苷酸和细胞。

本发明的背景

已有多种调节分子, 称为细胞因子被确定, 包括白细胞介素-13 (IL-13)。IL-13 的多种蛋白质形式和编码多种形式的 IL-13 活性的 DNA 也在 McKenzie 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA90: 3735 (1993); Minty 等人, 自然 362: 248 (1993); 和 Aversa 等人, WO94/04680 中作了描述。因此, “IL-13” 包括具有这些文献中所描述的序列和/或生物活性的蛋白质, 不论是通过重组基因工程技术制备的, 从自然产生因子或用其他因子诱导产生因子的细胞源中提纯的, 或是通过化学技术合成的, 或前述技术的组合中获得的。

IL-13 是与几种生物活性的产生有关的细胞因子, 包括诱导 IgG4 和 IgE 转换, 包含在人类未成熟 B 细胞中[Punnonen 等人, 免疫学期刊, 152: 1094 (1994)]; 在正常人类 B 细胞中

诱导种系 IgE 重链 (ϵ) 转录和 CD23 表达[Punnonen 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 3730(1993)]; 在存在 CD40L 或抗 CD40 mAb 情况下诱导 B 细胞增殖[Cocks 等人, 国际免疫学, 5: 657 (1993)]。尽管 IL-13 的许多活性与 IL-4 的活性相似, 但与 IL-4 相反, IL-13 对活化的 T 细胞或 T 细胞克隆体没有生长促进作用[Zurawski 等人, EMBO J. 12:2663 (1993)]。

如同多数细胞因子, IL-13 通过与在靶细胞表面的 IL-13 受体 (“IL-13R”) 相互作用表现出某些生物活性。IL-13R 和 IL-4 受体 (“IL-4R”) 具有相同的组分, 其是受体活化所需的; 然而, IL-13 不与用 130 kD IL-4R 转染的细胞结合 (Zurawski 等人, 同上)。因此, IL-13R 必须含有至少一条其他配体结合链。细胞因子受体通常含有两条或三条链。IL-13 的一条配体结合链的克隆最近已有报道(Hilton 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. 93: 497-501)。

因此需要鉴别和克隆 IL-13R 的任何其他 IL-13 结合链的序列, 以使 IL-13R 蛋白质可为各种目的制备, 包括制备治疗试剂, 筛查 IL-13 结合受体的抑制剂和受体信号传递。

本发明的概述

依据本发明, 公开了编码白细胞介素-13 受体的 IL-13 结合链的多核苷酸, 包括但不限于鼠科动物和人类受体的多核苷酸。在某些实施方案中, 本发明提供了包括从下列组中选取的核苷酸序列的分离多核苷酸:

(a) 从核苷酸 256 到核苷酸 1404 的 SEQ ID NO: 1 核苷酸序列;

(b) 从核苷酸 103 到核苷酸 1242 的 SEQ ID NO: 3 核苷酸序列;

(c) 由于遗传密码的简并从 (a) 或 (b) 定义的核苷酸序列的序列中变化而来的核苷酸序列;

(d) 在严格条件下能与 (a) 或 (b) 定义的核苷酸杂交的核苷酸序列;

(e) 编码 (a) 或 (b) 定义的序列的物种同源体的核苷酸序列;

(f) (a) 或 (b) 定义的核苷酸序列的等位基因变体。

较好地, 核苷酸序列编码具有人类 IL-13 受体生物活性的蛋白质。核苷酸序列可操作地与表达控制序列结合。在较好的实施方案中, 多核苷酸包括从核苷酸 256 到核苷酸 1404 的 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列; 从核苷酸 319 到核苷酸 1257 的 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列; 从核苷酸 1324 到核苷酸 1404 的 SEQ ID NO: 1 的核苷酸序列; 从核苷酸 103 到核苷酸 1242 的 SEQ ID NO: 3 的核苷酸序列; 从核苷酸 178 到核苷酸 1125 的 SEQ ID NO: 3 的核苷酸序列; 从核苷酸 1189 到核苷酸 1242 的 SEQ ID NO: 3 的核苷酸序列。

本发明还提供了含有编码包括在下列组中选取的氨基酸序列的肽或蛋白质的核苷酸序列的分离多核苷酸:

(a) SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(b) 从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(c) 从氨基酸 357 到氨基酸 383 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(d) SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(e) 从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(f) 从氨基酸 363 到氨基酸 380 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(g) 具有 IL-13 受体结合链生物活性的 (a) - (f) 的片段。

其他较好的实施方案编码从氨基酸 1 到 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列和从氨基酸 26 到 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。

本发明还提供了用多核苷酸转化的宿主细胞, 较好地是哺乳动物细胞。

在其他实施方案中, 本发明提供了制备 IL-13bc 蛋白质的方法。该方法包括:

(a) 在适当的培养介质中培养本发明的宿主细胞培养物;

(b) 从培养物中提纯 IL-13bc 蛋白质。

本发明还提供了包括在下列组中选取的氨基酸序列的分离 IL-13bc 蛋白质:

(a) SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(b) 从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(c) 从氨基酸 357 到氨基酸 383 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列;

(d) SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(e) 从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(f) 从氨基酸 363 到氨基酸 380 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列;

(g) 具有 IL-13 受体结合链生物活性的 (a) - (f) 的片段。

较好地, 蛋白质包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列; 从氨基酸 22 到氨基酸 334 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列; SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列; 从氨基酸 26 到氨基酸 341 的 SEQ ID NO: 4 的氨基酸序列。在其他较好的实施方案中, 特异氨基酸序列组成融合蛋白 (含有不是从 IL-13bc 衍生的其他氨基酸序列)。较好的融合蛋白质包括抗体片段, 如 Fc 片段。特别较好的实施方案包括从氨基酸 1 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列和从氨基酸 26 到氨基酸 331 的 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列。

本发明还提供了含有本发明的蛋白质和药学可接受的载体的药学组合物。

本发明进一步提供了包括与本发明的蛋白质特异反应的抗体的组合物。

本发明还提供了鉴别结合 IL-13bc 或 IL-13 受体的抑制剂的方法。这些方法包括：

(a) 将 IL-13bc 蛋白质或其片段与 IL-13 或其片段结合，所说的结合形成第一结合混合物；

(b) 测定在第一结合混合物中蛋白质和 IL-13 或片段结合的量；

(c) 将一种化合物与蛋白质和 IL-13 或片段结合形成第二结合混合物；

(d) 测定在第二结合混合物中结合的量；

(e) 比较在第一结合混合物中的结合量和在第二结合混合物中的结合量；

其中当第二结合混合物的结合量降低发生时，化合物能抑制 IL-13 与 IL-13 受体的结合。

本发明还提供了通过这些方法鉴别的 IL-13R 的抑制剂和含抑制剂的药学组合物。

本发明还公开了在哺乳动物受试体中抑制 IL-13 与 IL-13bc 蛋白质或 IL-13 受体结合的方法，其包括服用治疗上有效量的含有 IL-13bc 蛋白质，IL-13bc 或 IL-13R 抑制剂或 IL-13bc 蛋白质抗体的组合物。

本发明还提供了改善 IL-13 活性的方法，其包括将具有 IL-13 活性的蛋白质与权利要求 11 的蛋白质结合，并将这样的结合物与除了 IL-13bc 外至少表达 IL-13R 一条链的细胞接触。较好地，接触步骤通过给哺乳动物受试体服用治疗上有效量的这种结合物来实施。

本发明还提供了在哺乳动物受试体内治疗与 IL-13 相关的病况的方法。所说的方法包括服用治疗上有效量的含有 IL-13 拮抗剂和药学可接受的载体的组合物。其他方法提供了一种在哺乳动物受试体中抑制 IL-13 和 IL-13bc 蛋白质相互作用的方法，包括服用治疗上有效量的含有 IL-13 拮抗剂和药学可接受的载体的组合物。较好地，拮抗剂是从下列组中选取的，包括：IL-13bc 蛋白质，IL-13R α 1 的可溶形式，IL-13 或其 IL-13 结合片段的抗体，IL-13bc 或其 IL-13bc 结合片段的抗体，IL-13R α 1 或其 IL-13R α 1 结合片段的抗体，IL-4 的 IL-13R 结合突变体，能抑制 IL-13 与 IL-13bc 相互作用的小分子，和能抑制 IL-13 与 IL-13R α 1 相互作用的小分子。

本发明附图的简单描述

图 1：演示了如在下面实施例 4 中所描述的用 IL-13bc-Fc 处理后，IL-13，IL-4，IL-11 和模拟转染 COS 细胞的照片。

图 2：演示了通过体内阻断白细胞介素-13 过敏原-诱导气管过度反应的逆转。在初始气管内攻击后 10 天，将用 OVA-和 PBS-免疫接种的鼠再次用 OVA 或 PBS 实施气管内攻击。在 -1 天，0 天，+1 天和 +3 天通过腹腔内注射给鼠服用 sIL-13bc-Fc (400 μ g) 或等同量的对照物人类 IgG。在 PBS 和 OVA 攻击后 4 天测定过敏显型。(A) 对乙酰胆碱攻击的气管过度反应 (AHR)，表示为随时间累积的气管压力的升高 [气管-压力-时间指数 [APTI] 为厘米 $H_2O \times$ 秒]。(B) 支气管肺泡洗液的炎性细胞组合物。通过光显微镜评定的 Cytospin 制备确定细胞分化百分比。数据表示为细胞的绝对量。(C) OVA-特异血清 IgE 浓度。结果是每组 8-10 只动物的平均 $\pm$ SEM。与各自的 PBS 对照组比较，* $P < 0.05$ ；与 OVA/人类 Ig 组比较，** $P < 0.05$ (单道 ANOVA，接着进行多种比较的 Fisher 最小显著区别试验)。

图 3: IL-13 阻断对过敏原引起的增加气管上皮细胞中含粘液细胞的影响。肺块 (每次试验 N=4, 每只动物 4 块) 固定在福尔马林中, 切成 10 μ M 的块, 并用苏木精和曙红染色, 进行高碘酸希夫反应。显示代表性块。条形 = 100 μ m。PBS/人类-Ig: PBS-免疫接种及攻击对照物, 显示少量含粘液细胞。OVA/人类-Ig: 过敏原诱导增加了间质炎性细胞并增加了含粘液的杯状细胞。OVA/sIL-13bc-Fc: IL-13 对过敏原诱导杯状细胞粘液产生的显著抑制作用。

图 4: IL-13 诱导气管过度反应性。首次用于试验的鼠通过气管内滴入每日服用重组 IL-13 (5 μ g/鼠, 50 μ l 体积) 或 PBS。最后治疗后 24 小时, (A) 气管过度反应, (B) BAL 嗜曙红细胞量, (C) 血清总 IgE 量, (D) 确定粘液评分。结果是每组 7-10 只动物的平均 $\pm$ SEM (垂直条形)。与 PBS 组 (学生试验) 比较, *P<0.05。

本发明较好的实施方案的详细描述

本申请的发明者首先鉴别并提供了编码 IL-13R 的 IL-13 结合链 (本文后面称为 “IL-13bc”) 的多核苷酸, 包括但不限于编码鼠科动物和人类 IL-13bc 的多核苷酸。

SEQ ID NO: 1 提供了编码鼠科动物 IL-13bc 的 cDNA 的核苷酸序列。SEQ ID NO: 2 提供了受体链的预测氨基酸序列, 包括从氨基酸 1-22 的推定信号序列。成熟鼠科动物 IL-13bc 认为具有 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 22-383 的序列。成熟鼠科动物受体链具有至少三个不同区域: 胞外域 (约包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 22-334), 跨膜域 (约包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 335-356) 和胞内域 (约包括 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 357-383)。

SEQ ID NO: 3 提供了编码人类 IL-13bc 的 cDNA 的核苷酸序列。SEQ ID NO: 4 提供了受体链的预测氨基酸序列，包括从氨基酸 1-25 的推定信号序列。成熟人类 IL-13bc 认为具有 SEQ ID NO: 4 的氨基酸 26-380 的序列。成熟人类受体链具有至少三个不同区域：胞外域（约包括 SEQ ID NO: 4 的氨基酸 26-341），跨膜域（约包括 SEQ ID NO: 4 的氨基酸 342-362）和胞内域（约包括 SEQ ID NO: 4 的氨基酸 363-380）。

人类 IL-13bc 的前 81 个氨基酸序列与称为“ygppf10.r1 Homo sapiens cDNA 克隆 41648”的指定数据库登记号 R52795-gb-est2 的已表达的序列标志（EST）的翻译序列相同。在这个 EST 序列中没有能使此领域中所技术人员鉴别编码蛋白质为细胞因子受体的同源性或序列基元。对于这个数据库进入的 cDNA 克隆体是从 L.M.A.G.E. 协会公共可获得的。在本申请的优先权日期后，这样的克隆体由申请人订购并测序。这种克隆体的序列确定为由申请人以前公开的，本文的 SEQ ID NO: 3。

IL-13bc 蛋白质的可溶形式也可制备。这种可溶形式没有限制地包括含有 SEQ ID NO: 2 的氨基酸 1-334 或氨基酸 22-334 或 SEQ ID NO: 4 的氨基酸 1-341 或氨基酸 26-341 的蛋白质。IL-13bc 蛋白质的可溶形式进一步特点在于在水溶液中是可溶的，较好地是在室温下。仅包括胞内域或其部分的 IL-13bc 蛋白质也可制备。少于全长的任何形式的 IL-13bc 都包括在本发明的范围内，本文共同地称全长和成熟形式为“IL-13bc”或“IL-13bc 蛋白质”。少于全长的 IL-13bc 蛋白质可通过表达相应片段的编码全长 IL-13bc 蛋白质（SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3）的多核苷酸来制备。这些相应的多核苷酸片段也是本发明的一部分。如上所述修饰的多核苷酸也可通过标准分子生物学技术制备，包括构建适当的所需缺失突变体，位

点定向诱变法，或通过使用适当的寡聚核苷酸引物的聚合酶链反应。

为了本发明的目的，如果蛋白质具有一个或多个下列特性，那么该蛋白质就具有“IL-13 受体链的生物活性”：(1) 能结合 IL-13 或其片段（较好地是其生物活性片段）；和/或 (2) 能与 IL-13R 的第二条非 IL-13 结合链相互作用产生 IL-13 与 IL-13R 结合的信号特性。较好地，蛋白质具有的生物活性是能结合 IL-13 或其片段，更好是 K_D 约为 0.1 到约 100 nM。确定是否具体蛋白质或肽具有这种活性的方法没有限制地包括本文提供的实施例中所描述的方法。

IL-13bc 或其活性片段（IL-13bc 蛋白质）可与载体分子如免疫球蛋白融合。如 IL-13bc 的可溶形式可提供“接头”序列与免疫球蛋白的 Fc 部分融合。其他融合蛋白质，如与 GSR，Lex-A 或 MBP 的融合蛋白质也可使用。

本发明还包括 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3 列出的核苷酸序列的等位基因变体，即，同样编码 IL-13bc 蛋白质的 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3 的分离多核苷酸的自然发生的可替换形式，较好地是那些具有 IL-13bc 生物活性的蛋白质。还包括在本发明中的有在高度严格条件下（如在 65°C 0.1 × SSC），与 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3 中列出的核苷酸序列杂交的分离多核苷酸。由于遗传密码的简并编码 IL-13bc 蛋白质的但不同与在 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3 中列出的核苷酸序列的多核苷酸也包括在本发明中。由于点突变或通过诱导修饰产生的 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 3 中列出的核苷酸序列的变化都包括在本发明中。

本发明还提供了编码其他动物物种，特别是哺乳动物物种的鼠科动物和人类 IL-13bc 的同族体的多核苷酸。物种同族体可通过从本文所公开的鼠科动物或人类序列制备探针或引物以及筛查从适当物种获得的文库，如从相关物种获得的 PBMC，胸腺或睾丸构建的文库来鉴别及分离。

为了重组制备 IL-13bc 蛋白质，本发明的分离多核苷酸可以可操作地结合表达控制序列，如在 Kaufman 等人，核酸研究，19，4485-4490（1991）中所公开的 pMT2 或 pED 表达载体。多种适合的表达控制序列在此领域中是众所周知的。表达重组蛋白质的常用方法也是众所周知的，并在 R. Kaufman，酶学方法，185，537-566（1990）中示例。如本文所定义的，“可操作地结合”意指酶促或化学地连接以在本发明的分离多核苷酸和表达控制序列之间形成共价键，这样，已用连接的多核苷酸/表达控制序列转化的（转染的）宿主细胞就表达了 IL-13bc 蛋白质。

许多种类的细胞可用作为 IL-13bc 蛋白质表达适当的宿主细胞。可使用能表达功能 IL-13bc 蛋白质的任何细胞种类。适当的哺乳动物宿主细胞包括，如猴子 COS 细胞，中国仓鼠卵巢细胞（CHO），人类肾脏 293 细胞，人类表皮 A431 细胞，人类 Colo205 细胞，3T3 细胞，CV-1 细胞，其他转化的灵长类细胞系，正常双倍染色体细胞，从初级组织，初级移植体的体外培养物衍生的细胞品系，HeLa 细胞，鼠 L 细胞，BHK，HL-60，U937，HaK，Rat2，BaF3，32D，FDCP-1，PC12，M1x，或 C2C12 细胞。

IL-13bc 蛋白质也可通过在一个或多个昆虫表达载体中将本发明的多核苷酸与适当的控制序列可操作地结合，并使用昆虫表达系统来制备。杆状病毒/昆虫细胞表达系统使用的方法和

物料，可从如 Invitrogen, San Diego, 美国加州 (MaxBac 试剂盒) 以试剂盒的形式购得，并且这种方法在此领域中也是众所周知的，如在 Summers 和 Smith, 得克萨斯州农业试验站公报 No. 1555 (1987) 中所描述的，该文献通过在此引述而合并于本篇。IL-13bc 蛋白质的可溶形式也可在昆虫细胞中使用如上所述的适当的分离多核苷酸来制备。

可替换地，IL-13bc 蛋白质可制备在小型真核生物中，如酵母，或制备在原核生物中，如细菌。适当的酵母品系包括酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)，裂殖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)，科普属品系 (*Kluyveromyces*)，假丝酵母 (*Candida*)，或任何能表达异源蛋白质的酵母品系。适当的细菌品系包括，埃希氏杆菌 (*Escherichia coli*)，杆状菌 (*Bacillus subtilis*)，沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*)，或任何能表达异源蛋白质的细菌品系。

在细菌中表达会导致形成掺入重组蛋白质的包含体。因此，为了制备活性或更具活性的物质，可能需要重组蛋白质的重折叠。从细菌包含体中获得正确折叠的异源蛋白质的几种方法在此领域中是众所周知的。这些方法通常包括从包含体中溶解蛋白质，然后使用离液试剂完全使蛋白质变性。当半胱氨酸残基在蛋白质的初级氨基酸序列中存在时，常常需要在可以正确形成二硫键的环境（氧化还原系统）中实施重折叠。重折叠的常用方法在 Kohno, 酶学方法, 185:187-195 (1990) 中公开。EP0433225 和共同待审的 USSN 08/163,877 中描述了其他适用的方法。

本发明的 IL-13bc 蛋白质也可表达为转基因动物的产品，如表达为转基因牛，山羊，猪或绵羊的奶，其特点在于体细胞或生殖细胞含有编码 IL-13bc 蛋白质的多核苷酸序列。

本发明的 IL-13bc 蛋白质可在表达所需蛋白质需要的培养条件下，通过培养转化宿主细胞的培养物来制备。然后将产物表达蛋白质从培养基或细胞提取物中提纯。本发明 IL-13bc 蛋白质的可溶形式可从条件培养基中提纯。本发明的 IL-13bc 蛋白质的膜结合形式可通过从表达细胞中制备总膜组分，并用非-离子清洗剂如 Triton X-100 萃取膜来提纯。

IL-13bc 蛋白质可使用此领域中的技术人员已知的方法来提纯。如本发明的 IL-13bc 蛋白质可使用购得的蛋白质浓缩滤膜，如 Amicon 或 Millipore Pellicon 超滤单元来浓缩。浓缩步骤后，浓缩物可加入到提纯基质如凝胶过滤介质中。可替换地，也可使用阴离子交换树脂，如具有二乙氨基乙基 (DEAE) 或聚乙烯亚胺 (PEI) 侧基团的基质或底物。基质可以是丙烯酰胺，琼脂糖，右旋糖苷，纤维素或通常使用在蛋白质提纯中的其他种类。可替换地，也可使用阳离子交换步骤。适当的样离子交换剂包括多种含有磺丙基和羧甲基基团的不溶基质，。磺丙基是较好的（如 S-琼脂糖柱）。从培养物上清液中提纯 IL-13bc 蛋白质也可包括流经一个或多个亲和树脂柱的步骤，如伴刀豆球蛋白 A-琼脂糖，肝磷脂 - toyopearl 或 Cibacrom 蓝 3GA 琼脂糖；或使用树脂如苯基酯，丁基酯，或丙基酯通过疏水相互作用层析步骤；或通过免疫亲和层析步骤。最后，使用疏水 RP-HPLC 介质，如含有甲基或其他脂肪族侧基团的硅胶，可实施一个或多个反相高效液相层析 (RP-HPLC) 步骤进一步提纯 IL-13bc 蛋白质。依据已知方法，含有 IL-13 或其片段的亲和柱或含有 IL-13bc 蛋白质抗体的亲和柱也可使用在提纯步骤中。一些或全部前述提纯步骤，以多种组合方式或连同其他已知方法，都可用来提供基本上纯的分离重组蛋白质。较好地，分离 IL-13bc 蛋白质是纯的，以致基本上其不含其他哺乳动物蛋白质。

本发明 IL-13bc 蛋白质可用来筛查能结合 IL-13bc 或 IL-13R 的试剂，或筛查干扰 IL-13 与 IL-13 或 IL-13bc 结合的（胞外或胞内域）并因此能用作正常结合和细胞因子活性抑制剂（“IL-13R 抑制剂”）的试剂。使用所需蛋白质（固定的或不固定的）的结合测试法在此领域中是众所周知的，并可使用本发明的 IL-13bc 蛋白质用作这种目的。基于提纯细胞的或基于蛋白质（不含细胞）的筛查测试可用来鉴别这种试剂。如，IL-13bc 蛋白质可以提纯形式固定在载体上，在存在和不存在可能的抑制试剂的情况下，测定与提纯 IL-13bc 蛋白质的结合。适当的结合测试可以可替换地使用本发明的 IL-13bc 蛋白质的可溶形式。其中抑制剂可得到筛查的系统的另一个实施例在如下的实施例 2 中描述。

在这样的筛查测试中，通过将 IL-13 或其片段与 IL-13bc 蛋白质结合形成第一结合混合物，测定在第一结合混合物（ B_0 ）中的结合量。通过将 IL-13 或其片段，IL-13bc 蛋白质与要进行筛查的化合物或试剂结合形成第二结合混合物，测定第二结合混合物（B）中的结合量。比较第一结合混合物中和第二结合混合物中的结合量，如，通过计算 B/B_0 的比率。与第一结合混合物相比，如果在第二结合混合物中观察到结合量下降，那么可以认为化合物或试剂能抑制结合。任意地，IL-13R 的第二条链可加入到一种或两种结合混合物中。结合混合物的配制和优化在此领域技术范围内，这样的结合混合物也可含有需要增强或优化结合的缓冲液和盐，其他对照测试也包括在本发明的筛查测试中。

因此可鉴别发现能将 IL-13bc 蛋白质与 IL-13 或其片段结合活性降低到任何程度的化合物，较好地至少约 10%，更好地大于约 50% 或更多，然后再在其他结合测试中和体内测试中进

行筛查。通过这些方法，也可鉴别对 IL-13bc 结合具有抑制性活性的适于作治疗试剂的化合物。

IL-13bc 蛋白质，和编码它们的多核苷酸，也可用作诊断试剂，来检测 IL-13bc，IL-13R，IL-13 或表达 IL-13bc，IL-13R 或 IL-13 的细胞的存在或表达。使用这些种类的物质，蛋白质或多核苷酸可在标准方法中用作这种目的进行诊断测试。适合的方法对此领域中的技术人员是众所周知的。

如本文所使用的，“IL-13R”是指 IL-13bc 和/或称为“IL-13R α 1”或“NR4”第二条 IL-13 受体链（参看：鼠科动物受体链，Hilton 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA1996，93：497-501；人类受体链，Aman 等人，生物化学期刊，1996，271：29265-70，和 Gauchat 等人，欧洲免疫学期刊，1997，27：971-8）。

IL-13bc 作为 IL-13 已知生物活性的中介体。因此，IL-13bc 蛋白质（较好地是可溶 IL-13bc 蛋白质），IL-13R 抑制剂（即，IL-13 与 IL-13R 相互作用的拮抗剂（如，IL-13R 的抗体（具体包括 IL-13bc 或 IL-13R α 1 的抗体））和其片段，IL-13 的抗体和其片段，可溶 IL-13R α 1 蛋白质，和 IL-13 与 IL-13R 相互作用（包括与 IL-13bc 和/或与 IL-13R α 1 的相互作用）的小分子和其他抑制剂，可用在治疗或调理多种 IL-3 与其有关或受到 IL-13 的活性（或其降低）影响的医学病况（总称“与 IL-13 相关病况”）。结合 IL-13R 的 IL-4 的突变形式也可用作为 IL-13 拮抗剂（参看，如在 Shanafelt 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA1998，95：9454-8；Aversa 等人，医学专家期刊，1993，178：2213-8；和 Grunewald 等人，免疫学期刊，1998，160：4004-9 中所描述的）。

与 IL-13 相关病况包括但不限于 Ig-调节的病况和疾病，具体地是 IgE 调节的病况[包括但不限于遗传性过敏症，过敏性病况，哮喘，免疫复合疾病（如，狼疮，肾病综合症，肾炎，血管球性肾炎，甲状腺炎和 Grave 症）]；肺的炎性病况；免疫缺损，造血祖细胞的特异缺损，和与其相关的病变；癌症和其他疾病。这种病理状况可由疾病，放射或药物治疗引起，包括如，白血球减少症，细菌性和病毒性感染，B 细胞或 T 细胞缺少如骨髓移植后免疫细胞或造血细胞缺损。因为 IL-13 抑制巨噬细胞活化，所以 IL-13bc 蛋白质也可用来增强巨噬细胞活化（即，在疫苗中，治疗真菌或胞内微生物，或寄生性感染）。

IL-13bc 蛋白质还可用来在体内和体外加强 IL-13 的作用。如，IL-13bc 蛋白质可与具有 IL-13 活性的蛋白质（较好地是 IL-13）结合，产生的组合物可与除 IL-13bc 链外表达至少一条 IL-13R 链细胞接触（较好地所有链是 IL-13R 不是 IL-13bc，如 IL-13R α 1）。较好地，接触步骤通过给哺乳动物受试体体内服用治疗上有效量的这种组合物来实施。预建立的 IL-13 蛋白质和 IL-13bc 蛋白质的缔合可协助形成特定信号所需的完全 IL-13/IL-13R 复合物。参看实施例，由 Economides 等人描述的方法，科学，270；1351（1995）。

从细胞中提纯或重组制备的，IL-13bc 蛋白质和 IL-13R 抑制剂，当与药学可接受的载体组合时，可用作为药学组合物。这样的组合物可含有，除了 IL-13bc 或抑制剂和载体外，多种稀释剂，填充剂，盐，缓冲液，稳定剂，溶剂，和其他此领域中众所周知的物质。“药学可接受的”意指不干扰活性组分的生物活性效果的无-毒性物质。载体的特性将取决于服用途径。

本发明的药学组合物也可含有细胞因子，淋巴因子，或其他造血因子如 M-CSF，GM-CSF，IL-1，IL-2，IL-3，IL

- 4, IL - 5, IL - 6, IL - 7, IL - 8, IL - 9, IL - 10, IL - 11, IL - 12, IL - 14, IL - 15, G - CSF, 干细胞因子, 和促红细胞生成素。药学组合物也可包括抗细胞因子抗体。药学组合物可含有溶血栓因子或抗 - 溶血栓因子, 如血纤蛋白溶酶原激活物和因子 VIII。药学组合物还进一步包括其他抗炎性试剂。这种额外的因子和/或试剂可包括在药学组合物中, 以与分离 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂一起产生配合效果, 或减小由分离 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂产生的副作用。相反地, 分离 IL - 13bc 或 IL - 13bc 抑制剂可包含在具体细胞因子, 淋巴因子, 其他造血因子, 溶血栓因子或抗溶血栓因子, 或抗 - 炎性试剂的配方中, 以减小细胞因子, 淋巴因子, 其他造血因子, 溶血栓因子或抗溶血栓因子, 或抗 - 炎性试剂的副作用。

本发明的药学组合物可以是在脂质体形式中, 其中, 除了其他药学可接受的载体, 分离 IL - 13bc 蛋白质和 IL - 13bc 抑制剂与两亲性试剂组合, 两亲性试剂如以聚集形式如胶束, 不溶单层, 液晶, 或水溶液中的片晶形式存在的脂质。适合脂质体配方的脂质包括, 没有限制地, 单酸甘油酯, 甘油二酯, 硫脂, 溶血卵磷脂, 磷脂, 皂角苷, 胆酸等等。这种脂质体配方的制备在此领域中技术范围内, 如在美国专利 No. 4,235,871; 美国专利 No. 4,501,728; 美国专利 No. 4,837,028; 美国专利 No. 4,737,323 中所描述的, 所有这些文献都通过在此引述而合并于本篇。

如本文所使用的, “治疗上有效量”是指药学组合物或方法中的活性组分的量足以显示显著的患者受益, 如改善病况的症状, 治疗病况, 或增加治疗病况的速度。当给个体使用活性组分, 单独服用时, 该术语仅指活性组分。当组合服用时, 该术

语是指产生治疗效果的活性组分的组合量，不论是组合形式服用，顺序服用或同时服用。

在实施本发明的治疗方法或应用中，给哺乳动物服用治疗上有效量的分离 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂。分离 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂可依据本发明的方法或单独服用，或与其他治疗试剂一起服用，如使用细胞因子，淋巴因子或其他造血因子的治疗试剂。当与一种或多种细胞因子，淋巴因子或其他造血因子一起服用时，IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂可与细胞因子，淋巴因子，其他造血因子，溶血栓因子或抗-溶血栓因子同时服用，或顺序服用。如果顺序服用，实施医师应确定服用 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂与细胞因子，淋巴因子，其他造血因子，溶血栓因子或抗-溶血栓因子的适当顺序。

服用使用在本发明的药学组合物中的或用来实施本发明的方法的 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂，可通过多种传统方法实施，如口服，吸入，或皮肤，皮下或静脉内注射。对于患者静脉内服用是较好的。

当治疗上有效量的 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂口服时，IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂应是片剂，胶囊，溶液或西也剂。当以片剂形式服用时，本发明的药学组合物还可含有固体载体如凝胶或辅剂。片剂，胶囊和粉末含有约 5% 到 95% 的 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂，较好地含有约 25% 到 90% 的 IL-13bc 蛋白质或 IL-13bc 抑制剂。当以液体形式服用时，可加入液体载体如水，石油，动物或植物源的油，如花生油，大豆油或芝麻油，或合成油。液体形式的药学组合物还可进一步病况生理盐水溶液，右旋糖或其他糖类溶液，或二醇如乙二醇，丙二醇或聚乙二醇。当以液体形式服用时，药学

组合物可含有约 0.5 % 到 90 % 重量比的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂，较好地含有约 1 % 到 50 % 的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂。

当治疗上有效量的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂可通过静脉内，皮肤或皮下注射服用时，IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂应是不含热原质的，非肠道可接受的水溶液形式。制备这样的非肠道可接受的蛋白质溶液，适当地考虑到 PH，等张性，稳定性等等，在此领域的技术范围内。较好的适合静脉内，皮肤或皮下注射的药学组合物应含有，除了 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂外，等张赋形剂如氯化钠注射液，Ringer 注射液，葡萄糖注射液，葡萄糖和氯化钠注射液，乳酸盐 Ringer 注射液，或其他此领域中已知的赋形剂。本发明的药学组合物还可以含有稳定剂，防腐剂，缓冲液，抗氧化剂，或此领域中的技术人员已知的其他添加剂。

在本发明的药学组合物中的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂的量取决于要治疗的病况的性质和严重性，取决于患者已进行的预先治疗的性质。最终，实施医师来确定治疗每个个体患者的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂的量。开始，实施医师应给患者服用低剂量的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂，并观察患者反应。服用较大剂量的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂，直到从患者获得最优的治疗效果，在这个点上，剂量不再逐渐增加。可考虑认为，用来实施本发明的方法的多种药学组合物应每公斤体重含有约 0.1 μg 到约 100 毫克的 IL - 13bc 蛋白质或 IL - 13bc 抑制剂。

使用本发明的药学组合物的静脉治疗的持续时间应是变化的，取决于要治疗疾病的严重性，和每个个体患者的情况和可能的特殊反应。可以考虑认为，每次使用 IL - 13bc 蛋白质或 IL

- 13bc 抑制剂的持续时间应在连续静脉内服用的 12 小时到 24 小时范围内。最终，实施医师来确定使用本发明的药学组合物的静脉治疗的适当的持续时间。

本发明的 IL - 13bc 蛋白质也可用来免疫接种动物以获得特异地与 IL - 13bc 蛋白质反应的多克隆和单克隆抗体，其可抑制 IL - 13 或其片段与受体的结合。这样的抗体可以使用完整 IL - 13 作为免疫原获得，或通过使用 IL - 13bc 的片段，如可溶成熟 IL - 13bc 获得。IL - 13bc 的较小片段也可用来免疫接种动物。肽免疫原还可在羧基末端含有半胱氨酸残基，并与半抗原如匙孔藤血蓝蛋白 (KLH) 缀合。其他肽免疫原可通过用硫酸化酪氨酸替换酪氨酸残基产生。合成这种肽的方法在此领域中是众所周知的，如 R. P. Merrifield, 美国化学科学期刊, 85, 2149 - 2154 (1963); J. K. Krstenansky 等人, FEBS Lett. 211, 10 (1987)。

结合 IL - 13bc 蛋白质的中和或非 - 中和抗体 (较好地是单克隆抗体) 也可以是某些肿瘤的治疗试剂，也可用在上面描述的病况治疗中。这些中和单克隆抗体能阻断 IL - 13 与 IL - 13bc 的结合。

实施例 1 分离 IL - 13bc cDNA

分离鼠科动物 IL - 13 受体链

从 6 - 8 周大的 C3H/HeJ 鼠的胸腺中制备 5 μ g 的聚腺苷酸 + RNA。使用 Stratagene cDNA 合成试剂盒依据制造商的指示制备双链，半甲基化的 cDNA。简单地，第一条链用寡脱氧胸苷酸 - Xho 引物引发，在第二条链合成后，加入 EcoRI 衔接子，用 XhoI 消化 cDNA，并提纯。将 cDNA 连接到 Zap 表达 (stratagene) λ 载体的 XhoI-EcoRI 位点上，并依据制造商的指

示使用 Gigapak II 金包装提取物 (stratagene) 包装。依据制造商指示扩增 1.5×10^6 产物重组噬菌体文库。使用如 (分子生物学的当前方案, Ausubel 等人编辑, John Wiley & Sons, 1995, 6.4.3 章) 所描述的标准 TMAC 杂交条件, 用序列位 KSRCTCCABK CRCTCCA (SEQ ID NO: 5) ($K = G + T$; $S = C + G$; $R = A + G$; $B = C + G + T$) 的简并 17mer 寡核苷酸探针筛查文库。克隆体 A25 被识别, 因为其与 17mer 探针杂交, 但不与从已知的血细胞生成素受体衍生的探针杂交。依据制造商的指示将这个克隆体从 Zap 表达载体中分离到质粒中, 确定 DNA 序列。DNA 序列编码血细胞生成素受体家族的新型成员。

在 1996 年 2 月 22 日以登记号 69997, 将含有具有 SEQ ID NO: 1 序列的聚核苷酸的克隆体 25 用 ATCC 沉积为 pA25pBKCMV。

分离人类 IL-13 受体链

通过 PCR 使用从鼠科动物序列衍生的寡核苷酸分离鼠科动物受体的人类同系物的部分片段。从 CLONTECH 获得的人类睾丸聚腺苷酸 + RNA 中制备 cDNA。通过 PCR, 使用下列寡核苷酸, 在含有 1.5 mM 氯化镁的 1X Taq 缓冲液中, 使用 AmpliTaq 聚合酶进行 30 个周期的温育 ($94^\circ\text{C} \times 1$ 分钟, $42^\circ\text{C} 1$ 分钟, $72^\circ\text{C} 1$ 分钟), 扩增 274 个碱基对的 DNA 片段, 寡核苷酸: ATAGTTAAACCATTGCCACC (SEQ ID NO: 6) 和 CTC CATTCGCTCCAAATTCC (SEQ ID NO: 7)。确定这个片段的 DNA 序列, 从这个片段的内部制备两种寡核苷酸, 具有下列序列: AGTCTATCTTACTTTTAGTCG (SEQ ID NO: 8) 和 CATCTGAGCAATAAATATTCAC (SEQ ID NO: 9)。这些寡核苷酸用作为探针来筛查从 CLONTECH (产品目录 # HL1161) 购得的人类睾丸 cDNA 文库。使用标准 5 x SSC 杂交条件在 52

℃杂交滤膜，并在 52℃用 2XSSC 冲洗。分离在 400,000 个克隆体的筛查中与两种寡核苷酸都杂交的二十二个克隆体。从四个 cDNA 克隆体确定 DNA 序列，所有编码相同的新型血细胞生成素受体。全长人类受体链的预定 DNA 序列如 SEQ ID NO: 3 所示。

在 1996 年 2 月 22 日以登记号 69998 将人类克隆体用 ATCC 沉积为 phA25#11pDR2。

实施例 2 可溶 IL-13bc 蛋白质的表达及活性测定

可溶 IL-13bc-Ig 的制备和提纯

通过 PCR，将编码鼠科动物 IL-13bc 的胞外域的氨基酸 1-331 的 DNA 与编码 gly-ser-gly 的间隔序列融合，并连接在具有编码 COS-I 表达载体 pED.Fc 的人类 IgG1 的绞链区域 CH2 CH3 序列的读框内。从 DEAE-右旋糖苷转染的 COS-1 细胞制备 IL-13bc-Ig，并通过蛋白质 A 琼脂糖层析法 (Pharmacia) 提纯。

B9 增殖测定

通过将 3H-胸腺嘧啶掺入到 DNA 中测定 IL-13 或 IL-4 对 B9 细胞增殖的刺激作用 (Aarden 等人，免疫学欧洲期刊，1987，17: 1411-1416)。在存在或不存在 1ug/毫升的 IL-13bc-Ig 的情况下，将细胞 (5×10^3 /培养皿) 接种在 96 培养皿的板中，板中有含有不同浓度的生长因子的介质。温育 3 天后，加入 1 μ Ci/培养皿的 3H-胸腺嘧啶，再将细胞温育 4 小时。使用 LKB1205 板读取仪确定掺入放射性活度。

对 IL - 13, IL - 4 或 IL - 6 反应 B9 细胞增殖。可溶 IL - 13bc - Ig 仅抑制对 IL - 13 的反应, 说明这种受体特异结合 IL - 13, 不结合 IL - 4 或 IL - 6。表格显示了每分钟计数。显示两个不同的试验。

细胞因子稀释液	IL-13(3ng/毫升)	IL-13 加 A25-Fc(1 µg/毫升)	IL-4(20ng/毫升)	IL-4 加 A25-Fc(1 µg/毫升)	COS IL-6 (1/10,000)
1	37734	1943	6443	6945	37887
1/3	30398	1571	2680	2442	36500
1/10	16101	1461	1767	1771	33335
1/30	2148	1567	1619	1783	27271
1/100	1574	1419	1522	1576	18831
1/300	1512	1531	1373	1577	7768
1/1000	1316	1392	1190	1474	2760
1/3000	1834	1994	1482	1819	1672

细胞因子稀释液	IL-13(3ng/毫升)	IL-13 加 A25-Fc(5ug/毫升)	IL-4(20ng/毫升)	IL-4 加 A25-Fc(5ug/毫升)	COS IL-6 (1/10,000)	COS IL-6 加 A25-Fc(5 μg/毫升)
1	6413	295	1216	1158	6969	7703
1/3	5432	281	518	656	7827	8804
1/10	2051	281	489	520	8345	10027
1/30	506	319	279	476	8680	9114
1/100	430	372	288	423	7426	10364
1/300	330	287	323	420	5531	6254
1/1000	326	389	348	nt	2524	nt
没有细胞因子	339	279	404	394	326	279

实施例 3 通过表面细胞质基因组共振 (Biacore 分析) 测定可溶

IL - 13bc 和 IL - 13 的直接结合

Biacore 生物传感器用来直接测定 IL - 13 和提纯 IL - 13bc - Ig 的特异结合 (Pharmacia, Johnsson 等人, 1991)。如制造商所建议的, 将提纯 IL - 13bc - Ig, 人类 IgG1 或不相关受体的约 10,000 到 17,000 个共振单元 (RU) 共价固定在传感器片上的不同流动池中。(RU 是结合在传感器片表面的蛋白质质量的反映)。在存在或不存在过量提纯 IL - 13bc - Ig 的情况下, 将提纯 IL - 13 以 5 μl/分钟经 10 分钟注射穿过流动池。结合定量为样品在注射前和后 RU 的不同。对于固定 IL - 13bc - Ig 仅观察到 481.9RU 的特异 IL - 13 结合, 而共同注射 IL - 13 和 IL - 13bc

- Ig 与固定 IL - 13bc - Ig 没有结合 (4RU)。对于固定 IgG 或 IL - 11R - Ig 没有观察到 IL - 13 结合 (分别为 5.4 和 3.7RU)。

样品	IL - 13bc - Ig(10,383RU)	IgG 对照 (13,399RU)	IL - 11R - Ig(17,182RU)
100 ng/毫升人类 IL - 13	481.9RU 结合	5.4RU 结合	3.7RU 结合
100 ng/毫升人类 IL - 13 + 可溶 IL - 13bc - Ig	4.0RU	未测得	未测得

实施例 4

表达在 COS 细胞中的 IL - 13 与标记 IL - 13bc - Ig 融合蛋白质的结合：IL - 13 与 IL - 13bc - Fc 的 COS 原位检测

通过 DEAR - 右旋糖苷法，将 IL - 13，IL - 4，IL - 11 的表达载体或空载体转染到重复试验板中的 COS - 1 细胞中。两天后将转染细胞用磷酸缓冲液盐水 (PBS) 冲洗两遍，并在培养板中在 4℃ 用甲醇固定 10 秒。接着用 PBS 冲洗固定细胞两遍，然后用结合缓冲液 (PBS 1% (w/v) 牛血清清蛋白，1% (w/v) 叠氮化钠) 漂洗，在 4℃，在含有 1.0 μg/毫升 IL - 13bc - Fc 或相关的抗细胞因子抗血清的结合缓冲液中温育 2 小时。将细胞在 PBS 中冲洗两遍，在 4℃，在以 1:500 稀释在结合缓冲液中的碱性磷酸酯酶标记兔 F(ab)2' 抗 - 田鼠 IgG 中 (进行 Fc 融合检测) 或兔 F(ab)2' 抗 - 田鼠 IgG (进行细胞因子检测) 中晃动温育。细胞再次用 PBS 冲洗两遍。使用硝基蓝四唑和磷酸 5 - 溴代 - 4 - 氯代 - 3 - 吲哚酯观察碱性磷酸酯酶活性。

在显微镜下观察特异结合。仅有用 IL-13 转染的细胞显示出与 IL-13bc-Ig 特异结合。(参看转染细胞照片, 图示)

实施例 5 确定 IL-13bc 蛋白质的生物活性的其他方法

可使用其他方法确定是否特异 IL-13bc 蛋白质表现出如本文所定义的 IL-13bc 的“生物活性”。下列这些方法的实例。

测定 IL-13 结合

IL-13bc 蛋白质结合 IL-13 或其片段的能力可通过任何适当的能检测这种结合的测试法确定。这些适当的实施例如下。

IL-13 与 IL-13bc 蛋白质的胞外域结合会特异地产生磷酸酪氨酸对受体蛋白质的快速诱导。通过磷酸化作用测定配体结合活性的测试法如下描述。

可替换地, 制备 IL-13bc 蛋白质(如, 胞外域的可溶形式)并用来检测 IL-13 结合。如制备 DNA 构建, 其中胞外域(在预定的跨膜区域前截断, 较好地在此之前立即截断)与编码人类免疫球蛋白(IgG) $\gamma 1$ 的 CH2 和 CH3 绞链域的 cDNA 在读框内连接。这种构建产生在 COS 细胞的适当表达载体中, 如 pED Δ C 或 pMT2。质粒瞬时转染到 COS 细胞中。分泌的 IL-13bc-Ig 融合蛋白质收集到条件培养基中, 并通过蛋白质 A 层析法提纯。

提纯的 IL-13bc-Ig 融合蛋白质在多种应用中用来演示 IL-13 结合。可将 IL-13 覆盖在酶结合免疫吸附剂测试(ELISA)板的表面, 然后使用标准 ELISA 缓冲液用牛血清清蛋白或酪蛋白阻断其他结合位点。IL-13bc-Ig 融合蛋白质然后与固相 IL-13 结合, 用与山葵过氧化酶缀合的次级山羊抗-人 Ig 检测结

合。特异结合酶的活性可用比色底物，如四甲基对二氨基联苯和吸光度读数来测定。

IL-13 也可表达在细胞表面，如通过提供跨膜域或葡萄糖基磷脂酰纤维醇（GPI）键。表达膜结合 IL-13 的细胞可使用 IL-13bc-Ig 融合蛋白质鉴别。可溶 IL-13bc-Ig 融合蛋白质与这些细胞的表面结合，使用与荧光染料如荧光素异硫氰酸酯缀合的山羊抗-人 Ig 和流式细胞计量术来测定。

相互作用阱

酵母基因选择法，“相互作用阱”[Gyrris 等人，细胞，75: 791-803, 1993]，可用来确定 IL-13bc 蛋白质是否具有本文所描述的 IL-13bc 的生物活性。在这个方法中，LexAop-Leu2 和 LexAop-LacZ 的受体基因表达依赖于诱饵蛋白质间的相互作用，如与人类 IL-13bc 相互作用的蛋白种类，和捕获者，如人类 IL-13bc 蛋白质。因此，通过 Leu2 或 LacZ 表达程度可测定相互作用的强度。最简单的方法是测定 LacZ 编码蛋白质， β -牛乳糖的活性。该活性可通过含 X-Gal 培养基或滤膜上的蓝色度来判断。对于定量测定 β -牛乳糖的活性，标准测试法可在“酵母基因学方法”，冷泉港，纽约，1990(Rose, M.D., Winston, F., 和 Hieter, P.) 中找到。

在这些方法中，如果要确定 IL-13bc 蛋白质是否与具体物种蛋白质（如，体内结合 IL-13bc 的胞内域的胞质蛋白）相互作用，物种蛋白可在相互作用阱中用作“诱饵”，要测定的 IL-13bc 蛋白质作为“捕获者”，或相反。

实施例 6 使用可溶 IL-13bc 蛋白质治疗哮喘

使用过敏性哮喘特点显著的鼠科动物模型，其中过敏原暴露导致气管过度反应（“AHR”），肺部嗜曙红细胞过多，增加抗原-特异血清 IgE 含量，并且增加气管上皮粘液的量（3，11）。雄性 A/J 鼠腹腔内免疫接种，随后用可溶卵清蛋白（OVA）进行气管内攻击，在抗原攻击（13）后 4 天评定过敏显型。在随后气管内过敏原攻击（14）前 24 小时，通过系统服用可溶 IL-13bc-IgGFc 融合蛋白质（sIL-13bc-Fc），其特异结合并中和 IL-13，实施 IL-13 阻断。对抗原免疫接种的鼠的攻击产生气管对乙酰胆碱反应的显著增加（15）（图 2A）。对 IL-13 的阻断致使这种已建立的过敏原-诱导 AHR 完全逆转；因此，在这种模型中 IL-13 对表达 AHR 是必要的。在过敏性哮喘显型完全发展后，IL-13 消除能逆转 AHR，相比 IL-4 消除不能实施这种逆转。在逆转过敏原诱导 AHR 中 IL-4R α 的阻断效力的基础机理可能是对 IL-13 调节过程的抑制作用，与两种细胞因子 Stat6 激活是在 IL-4R α -调节信号的下游的事实一致。IL-13 可能是引起过敏原-诱导 AHR 的初级 CD4+T 细胞-衍生因子。

为了评定 AHR 的与 IL-13 相关的表达可能的基础机理，我们定性已知的过敏性效应子级联。嗜曙红细胞已显示为哮喘和哮喘 AHR 的初级效应细胞（16），但在重复抗原刺激前对 IL-13 的抑制作用没有显著地影响过敏原-诱导肺部嗜曙红细胞过多（17）（图 2B）。为了评定 IgE-调节途径的相关性，我们测定 OVA-特异血清 IgE（18）。OVA-特异量的 IgE 在 OVA-敏化的和攻击的鼠中可观察到，而在 PBS-免疫接种的和攻击的鼠中没有检测到抗原-特异抗体（图 2C）。IL-13 的阻断没有改变 OVA-特异 IgE 量，缺少抑制作用可能是由于 IL-13 阻

断发生在初始抗原引发和抗体形成之后。虽然如此，这些结果显示，在这种模型中，AHR 不依赖于 IgE 的产生，这与过敏性 AHR 在 IgE 缺失和 B 细胞缺失鼠中可正常发展的报道一致 (19)。

与人类哮喘的病理一致，鼠科动物模型中的过敏性哮喘也与气管上皮细胞的粘液量显著增加有关 (5, 11)。在死于急性哮喘发作的患者尸体解剖样品中粘液过量分泌特别显著 (20)。IL-13 的阻断逆转了气管中过敏原-诱导的含粘液细胞的增加 (图 3)，说明过敏原诱导的-起气管内粘液含量增加与 IL-13 有关。IL-4 也牵连在这个过程中，因为在没有抗原敏化作用存在的情况下，IL-4 转基因鼠表现出显著的杯状细胞增生 (5)。然而，Th2 克隆体从 IL-4-缺失鼠和对照物鼠到鼠科动物气管中的转移诱导了粘液过量产生 (21)，再一次说明，IL-4 的免疫调节作用需要仔细地与其作为效应子分子的作用相区别。

给首次用于试验的（未免疫接种的）鼠的气管中每天服用重组 IL-13 (rIL-13) 诱导 AHR，显示 IL-13 活性的增加足以诱导 AHR (图 4A) (22)。在开始服用 rIL-13 后 AHR 发展 72 小时。在服用 rIL-13 后很早就观察到嗜曙红细胞显著流入到支气管肺泡洗液液体中，然而，肺部嗜曙红细胞过多在 AHR 表达时没有观察到 (图 4B)。尽管嗜曙红细胞流入的显著时间过程保持的不明显，但它说明仅 IL-13 可能足以启动气管的嗜曙红细胞渗透，也许是通过它能向上调节趋化因子表达 (23)。气管服用 rIL-13 也产生与时间相关的总血清 IgE 的增长 (图 4C) (24)，与预先报道的 IL-13 能调节 IgE 合成一致 (25)。血清 IgE 的增加与用任何过敏原免疫接种无关，说明与人类哮喘显型与总血清 IgE 浓度比过敏原-特异血清 IgE 浓度更相关的观察结果一致 (26)。如从上述对 IL-13 抑制作用的研究中所预测的，服用 rIL-13 诱导增加气管粘液产生 (如 4D) (27)。

参考文献和注释

1. R. M. Sly, 过敏症年刊 53, 20 (1984); R. Evans 等人, Chest 91, 65S (1987); N. Halfon 和 P. W. Newcheck, 美国公共健康期刊 76, 1308 (1986); R.M. Jackson, M. R. Sears, R. Beaglehole, H. H. Rea, Chest 94, 914 (1988); P. J. Gergen 和 K. B. Weiss, JAMA 264, 1688 (1990); W. M. Vollmer, A. S. Buist, M. L. Osborne, J. Chin. Epid, 45,999 (1992) .

2. R. Beasley, W. R. Roche, J. A. Robert, S. T. Holgate, 美国呼吸系统疾病评述 139, 806 (1989); P. Pauwels, 过敏症临床专家 19, 395 (1989); J. Bousquet 等人 N. Eng. J. Med. 323, 1033 (1990).

3. S. H. Gavett 等人, 美国呼吸系统细胞分子生物学期刊, 10, 587 (1994); A. A.Gerblich, H. Salik, M. R. Schuyler, 美国呼吸系统疾病评述, 143, 533 (1991); C. J. Corrigan, A. B. Kay, 美国呼吸系统疾病评述, 141, 970 (1990); D. S. Robinson 等人, N. Engl. J. Med. 326, 298 (1992); C. Walker 等人, 美国呼吸系统疾病评述, 146, 109 (1992); S. H. Gavett 等人, 医学专家期刊, 182, 1527 (1995); N. W. Lukacs, R. M. Strieter, S. W. Chensue, S. L. Kunkel, 美国呼吸系统细胞分子生物学期刊, 10, 526 (1994).

4. F. D. Finkelman 等人, 免疫学期刊, 141, 2335 (1988); J. M. Wang 等人, 欧洲免疫学期刊 19, 701 (1989).

5. J. A. Rankin 等人, Proc. Natl Acad Sci, USA93, 7821 (1996).

6. G. Brusselle, J. Kips, G. Joos, H. Bluethmann, R. Pauwels, 美国呼吸系统细胞分子生物学期刊, 12, 254 (1995); D. B. Corry, 等人, 医学专家期刊, 183, 109 (1996); P. S. Foster 等人, 医学专家期刊 183, 195 (1996)。

7. A. J. Coyle 等人, 美国呼吸系统细胞分子生物期刊, 13, 54 (1995)。

8. A. K. Abbas, K. M. Murphy, A. Sher. 自然 383, 787 (1996)。

9. S. P. Hogan 等人, 免疫学期刊 161, 1501 (1998)。

10. J. Punnonen 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA90, 3730 (1993); R. de Waal Malefyt, C. G. Figdor, J. E. De Vries, 免疫学研究 144, 629 (1993); G. Zurawski, J. E. De Vries, 今日免疫学 15, 19 (1994)。

11. S. H. Gavett 等人, 美国生理学期刊, 272, L253 (1977); D. Kuperman, B. Schofield, M. Wills-Karp, M. J. Grusby, 医学专家期刊, 187, 939 (1998)。

12. S. M. Zurawski, G. Zurawski, EMBO 期刊, 11, 3905 (1993); S. M. Zurawski 等人, 生物化学期刊, 270, (1995); J. X. Lin 等人, 免疫学 2, 331 (1995)。

13. 从 Jackson 实验室 (Bar Harbor, ME) 获得六周大雄性 A/J 鼠, 在试验持续期间将它们放置在层流罩下的试验控制特异不含病原的动物装置中 (N = 4 - 10 只鼠/试验组)。本文所描述的研究与由动物安全法规所规定的试验动物研究法则和健康, 教育和安全 (N. I. H.) 部门试验使用动物的指示一致。通

过腹腔内注射 10ug 卵清蛋白(OVA; 粗制等级 IV, Sigma; St. Louis, MO) 的 0.2 毫升 PBS 溶液或仅注射 PBS 对鼠免疫接种。免疫接种后 14 天, 将鼠用氯胺酮和甲苯噻嗪的混合物(分别为 45 和 8 毫克/公斤)麻醉, 用 50ul 1.5% OVA 溶液实施气管内攻击, 或用等体积量的 PBS 攻击作为对照物。第一次抗原攻击后 10 天, 用 OVA 或 PBS 再一次实施气管内攻击。第二次抗原攻击后 96 小时实施过敏显型定性。

14. 如上所述克隆人类 IL-13。对于鼠科动物同系物的可溶表达, 将含有编码鼠科动物 sIL-13 胞外域 DNA 的 pED 表达载体, 与人类 IgG1d 绞链区域 CH2/CH3 (如在前面实施例中所描述的) 融合在读框内, 转染到 CHO 细胞内 (D. D. Donaldson 等人, 免疫学期刊, 161, 2317 (1998))。用 r 蛋白质 A-琼脂糖提纯 sIL-13bc-Fc (J. F. Urban 等人, 免疫学 8, 255 (1998))。通过在增殖测试中中和 3 ng/毫升的鼠科动物 IL-13 的能力确定体外 ID₅₀ 约为 10 ng/毫升。人类 IgG, 用作 sIL-13bc-Fc 的对照物, 从购得用来静脉内服用 (Miles) [ibid] 的人类免疫球蛋白的 10% 溶液中通过 r 蛋白质 A-琼脂糖层析法同样提纯。在 -1 天, 0 天, +1 天, 和 +3 天通过静脉内注射 sIL-13bc-Fc (400 µg), 或等同量对照物人类-IgG, 实施次级抗原攻击。

15. 在最终气管内攻击后 3 天, 测定气管对静脉内服用乙酰胆碱的反应性 (11)。将鼠用戊巴比妥钠 (90 毫克/公斤) 麻醉, 插入管子, 用连续定时涨落体积的空气 (0.2 毫升), 以 120 呼吸/分钟通气, 用溴代十烃季铵 (25 毫克/公斤) 使其瘫痪。建立稳定的气管压力后, 静脉内注射乙酰胆碱 (50ug/公斤), 接着动态压力 5 分钟。

16. G. J. Gleich, J. Clin. Immunol, 8, 422 (1990)。

17. 如 (11) 所述实施支气管肺泡灌洗。

18. 切除肾，汇集的血液收集进行如 (11) 所述的抗体分析。离心分离血清，并保存在 -80°C 直到分析进行。通过夹层 ELISA 测定血清 OVA - 特异 IgE 量。将样品用 0.01% OVA 的 PBS 溶液覆盖，用 10% 的 FBS 的 PBS 阻断，用 0.05% Tween-20 的 PBS 溶液冲洗。血清样品用 10% FBS 的 PBS 溶液以 1: 10 和 1: 100 稀释。温育过夜后，将板用 0.05% Tween-20 的 PBS 溶液冲洗，加入生物素 - 缀合的抗鼠 IgE (PharMingen, San Diego, CA)。冲洗后，加入 0.0025 毫克/毫升的抗生物素蛋白过氧化酶 (Sigma) 的 10% FBS/PBS 溶液，将板用 ABTS (2,2' - 连氨基 - 双 - (3 - 乙基苯并噻唑啉磺酸)) (Kirkegaard 和 Perry) 显影。在 30 分钟内读取 405nm 的板。记录 O.D. 值是以 1: 10 稀释的血清样品的，因为通过比较用 10% FBS/PBS 以 1: 100 稀释的样品的 O.D. 值，证实这些值低于测试的饱和点。

19. P. D. Mehlhop 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 1344 (1997); M. Korsgren 等人, 医学专家期刊, 185, 916 (1996)。

20. T. Aikawa 等人, Chest 101, 916 (1992)。

21. L. Cohn, R. J. Homer, A. Marinov, J. Rankin, K. Bottomly, 医学专家期刊, 186, 1737 [1997]。

22. 编码接着六个组氨酸标记的蜜蜂蜂毒素前导序列的 DNA (D. C. Tessier, D. Y. Thomas, H. E. Khouri, F. Laliberte, T. Vernet, 基因 2, 177 (1991)) 通过肠激酶裂解部位融合到 Gly21 上的鼠科动物 IL-13 的成熟区域，并构建在哺乳动物表达载体 pHTop 中。从稳定转染的 CHO 细胞制备 H6-EK 鼠科动物 IL-13 蛋白质，并通过 Ni-NTA 层析法提纯到通过 SDS-PAGE 确定的

大于 97% 的纯度。通过在 280 nm 吸光度确定蛋白质浓度，通过 Cape Cod Associates LAL 测试法测定内毒素污染少于 30EU/毫克。通过 Ba/F3. IL - 13R1 增殖测定法确定 H6 - EK 鼠科动物 IL - 13 的 ED_{50} 为 1 ng/毫升。给用氯胺酮和甲苯噻嗪的混合物（分别为 45 和 8 毫克/公斤）麻醉的首次用于试验的鼠每天气管内滴入服用鼠科动物 rIL - 13（总体积 50ul 中含有 5ug）。

23. M. Goebeler 等人，免疫学 91, 450 (1997)。

24. 使用从 PharMingen 获得的鼠 IgE 的互补抗体对 (R35 - 72 和 R35 - 92)，依据制造商的指示，使用鼠科动物 IgE - 特异 ELISA 来定量血清中总 IgE 免疫球蛋白的量。测定每个动物的重复试验样品 (10% FBS 的 PBS 溶液的 1/10 稀释液)。使用从重组鼠 IgE (5 - 2000pg/毫升) 生成的标准曲线中获得的值将样品的 O.D. 读数转化成 pg/毫升，通过乘以稀释率获得最终浓度。

25. C. L. Emson, S. E. Bell, A. Jones, W. Wisden, A. N. J. Mckenzie, 医学专家期刊, 188, 399 (1998)。

26. L. R. Friedhoff, D. G. Marsh, Int. Arch. All. 免疫学, 100, 355 (1993)。

27. 为了测定 rIL - 13 对气管上皮细胞的粘液细胞含量的影响，将肺切除并固定在 10% 的福尔马林中。然后将它们用 70% 乙醇冲洗，脱水，嵌入乙二醇甲基丙烯酸酯中，切成 10uM 的块，安装在幻灯片上，用苏木精和曙红染色，并进行高碘酸希夫反应。每只动物测定四块；每块肺评定 4 个区域。在 1 - 4 范围评定肺块，1 表示没有粘液细胞含量。

28. J. Luyimbazi, X. Xu, M. Wills-Karp, 未公布结果。
29. C. Walker 等人, 美国呼吸系统疾病评述 146, 109(1992);
M. Humbert 等人, J. All. Clin. 免疫学 99, 657(1997); S. K. Huang,
免疫学期刊 155, 2688 (1995)。
30. D. G. Marsh 等人, 科学 264, 1152 (1996)。
31. L. J. Rosenwasser, N. Engl. J. Med. 337, 1766 (1977)。
32. G. K. Hershey 等人, N. Engl. J. Med. 337, 1720(1997)。

本文所引用的所有专利和参考文献都通过在此引述而合并于此, 如同全文列出。

序 列 表

<110> 玛丽·柯林斯
 德布拉·唐纳德森
 洛丽·菲特茨
 特玛林·内本
 马修·惠蒂尔斯
 克莱夫·伍德
 马歇·威尔斯—卡尔普
 遗传学院公司
 约翰霍普金斯大学

<120> 细胞因子受体链

<130> GI 5268A

<140>

<141>

<160> 9

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1525

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220>

<221> CDS

<222> (256)..(1404)

<400> 1

```

gaattcggca cgagggagag gaggagggaa agatagaaag agagagagaa agattgcttg 60
ctaccctga acagtgcct ctctcaagac agtgctttgc tcttcacgta taaggaagga 120
aaacagtaga gattcaattt agtgtcta atgtggaaagga ggacaaagag gtcttgatgat 180
aactgcctgt gataatacat ttcttgagaa accatattat tgagtagagc tttcagcaca 240
ctaaatcctg gagaa atg gct ttt gtg cat atc aga tgc ttg tgt ttc att 291
      Met Ala Phe Val His Ile Arg Cys Leu Cys Phe Ile
          1             5             10

ctt ctt tgt aca ata act ggc tat tct ttg gag ata aaa gtt aat cct 339
Leu Leu Cys Thr Ile Thr Gly Tyr Ser Leu Glu Ile Lys Val Asn Pro
      15             20             25

cct cag gat ttt gaa ata ttg gat cct gga tta ctt ggt tat ctc tat 387
Pro Gln Asp Phe Glu Ile Leu Asp Pro Gly Leu Leu Gly Tyr Leu Tyr
      30             35             40

ttg caa tgg aaa cct cct gtg gtt ata gaa aaa ttt aag ggc tgt aca 435
Leu Gln Trp Lys Pro Pro Val Val Ile Glu Lys Phe Lys Gly Cys Thr
      45             50             55             60

cta gaa tat gag tta aaa tac cga aat gtt gat agc gac agc tgg aag 483
Leu Glu Tyr Glu Leu Lys Tyr Arg Asn Val Asp Ser Asp Ser Trp Lys
      65             70             75

```

act ata att act agg aat cta att tac aag gat ggg ttt gat ctt aat 531
 Thr Ile Ile Thr Arg Asn Leu Ile Tyr Lys Asp Gly Phe Asp Leu Asn
 80 85 90

aaa ggc att gaa gga aag ata cgt acg cat ttg tca gag cat tgt aca 579
 Lys Gly Ile Glu Gly Lys Ile Arg Thr His Leu Ser Glu His Cys Thr
 95 100 105

aat gga tca gaa gta caa agt cca tgg ata gaa gct tct tat ggg ata 627
 Asn Gly Ser Glu Val Gln Ser Pro Trp Ile Glu Ala Ser Tyr Gly Ile
 110 115 120

tca gat gaa gga agt ttg gaa act aaa att cag gac atg aag tgt ata 675
 Ser Asp Glu Gly Ser Leu Glu Thr Lys Ile Gln Asp Met Lys Cys Ile
 125 130 135 140

tat tat aac tgg cag tat ttg gtc tgc tct tgg aaa cct ggc aag aca 723
 Tyr Tyr Asn Trp Gln Tyr Leu Val Cys Ser Trp Lys Pro Gly Lys Thr
 145 150 155

gta tat tct gat acc aac tat acc atg ttt ttc tgg tat gag ggc ttg 771
 Val Tyr Ser Asp Thr Asn Tyr Thr Met Phe Phe Trp Tyr Glu Gly Leu
 160 165 170

gat cat gcc tta cag tgt gct gat tac ctc cag cat gat gaa aaa aat 819
 Asp His Ala Leu Gln Cys Ala Asp Tyr Leu Gln His Asp Glu Lys Asn
 175 180 185

gtt gga tgc aaa ctg tcc aac ttg gac tca tca gac tat aaa gat ttt 867
 Val Gly Cys Lys Leu Ser Asn Leu Asp Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Phe
 190 195 200

ttt atc tgt gtt aat gga tct tca aag ttg gaa ccc atc aga tcc agc 915
 Phe Ile Cys Val Asn Gly Ser Ser Lys Leu Glu Pro Ile Arg Ser Ser
 205 210 215 220

tat aca gtt ttt caa ctt caa aat ata gtt aaa cca ttg cca cca gaa 963
 Tyr Thr Val Phe Gln Leu Gln Asn Ile Val Lys Pro Leu Pro Pro Glu
 225 230 235

ttc ctt cat att agt gtg gag aat tcc att gat att aga atg aaa tgg 1011
 Phe Leu His Ile Ser Val Glu Asn Ser Ile Asp Ile Arg Met Lys Trp
 240 245 250

agc aca cct gga gga ccc att cca cca agg tgt tac act tat gaa att 1059
 Ser Thr Pro Gly Gly Pro Ile Pro Pro Arg Cys Tyr Thr Tyr Glu Ile
 255 260 265

gtg atc cga gaa gac gat att tcc tgg gag tct gcc aca gac aaa aac 1107
 Val Ile Arg Glu Asp Asp Ile Ser Trp Glu Ser Ala Thr Asp Lys Asn
 270 275 280

gat atg aag ttg aag agg aga gca aat gaa agt gaa gac cta tgc ttt 1155
 Asp Met Lys Leu Lys Arg Arg Ala Asn Glu Ser Glu Asp Leu Cys Phe
 285 290 295 300

ttt gta aga tgt aag gtc aat ata tat tgt gca gat gat gga att tgg 1203
 Phe Val Arg Cys Lys Val Asn Ile Tyr Cys Ala Asp Asp Gly Ile Trp
 305 310 315

agc gaa tgg agt gaa gag gaa tgt tgg gaa ggt tac aca ggg cca gac 1251
 Ser Glu Trp Ser Glu Glu Glu Cys Trp Glu Gly Tyr Thr Gly Pro Asp
 320 325 330

tca aag att att ttc ata gta cca gtt tgt ctt ttc ttt ata ttc ctt 1299
 Ser Lys Ile Ile Phe Ile Val Pro Val Cys Leu Phe Phe Ile Phe Leu
 335 340 345

ttg tta ctt ctt tgc ctt att gtg gag aag gaa gaa cct gaa ccc aca 1347
 Leu Leu Leu Leu Cys Leu Ile Val Glu Lys Glu Glu Pro Glu Pro Thr
 350 355 360

ttg agc ctc cat gtg gat ctg aac aaa gaa gtg tgt gct tat gaa gat 1395
 Leu Ser Leu His Val Asp Leu Asn Lys Glu Val Cys Ala Tyr Glu Asp
 365 370 375 380

acc ctc tgt taaaccacca atttcttgac atagagccag ccagcaggag 1444
 Thr Leu Cys

tcatattaaa ctcaatttct cttaaaattt cgaatacatc ttcttgaaaa tccaaaaaaa 1504

aaaaaaaaaa aaaaactcga g 1525

<210> 2

<211> 383

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 2

Met Ala Phe Val His Ile Arg Cys Leu Cys Phe Ile Leu Leu Cys Thr
 1 5 10 15

Ile Thr Gly Tyr Ser Leu Glu Ile Lys Val Asn Pro Pro Gln Asp Phe
 20 25 30

Glu Ile Leu Asp Pro Gly Leu Leu Gly Tyr Leu Tyr Leu Gln Trp Lys
 35 40 45

Pro Pro Val Val Ile Glu Lys Phe Lys Gly Cys Thr Leu Glu Tyr Glu
 50 55 60

Leu Lys Tyr Arg Asn Val Asp Ser Asp Ser Trp Lys Thr Ile Ile Thr
 65 70 75 80

Arg Asn Leu Ile Tyr Lys Asp Gly Phe Asp Leu Asn Lys Gly Ile Glu
 85 90 95

Gly Lys Ile Arg Thr His Leu Ser Glu His Cys Thr Asn Gly Ser Glu
 100 105 110

Val Gln Ser Pro Trp Ile Glu Ala Ser Tyr Gly Ile Ser Asp Glu Gly
 115 120 125

Ser Leu Glu Thr Lys Ile Gln Asp Met Lys Cys Ile Tyr Tyr Asn Trp
 130 135 140

Gln Tyr Leu Val Cys Ser Trp Lys Pro Gly Lys Thr Val Tyr Ser Asp
 145 150 155 160

Thr Asn Tyr Thr Met Phe Phe Trp Tyr Glu Gly Leu Asp His Ala Leu
 165 170 175

Gln Cys Ala Asp Tyr Leu Gln His Asp Glu Lys Asn Val Gly Cys Lys
 180 185 190

Leu Ser Asn Leu Asp Ser Ser Asp Tyr Lys Asp Phe Phe Ile Cys Val
 195 200 205

Asn Gly Ser Ser Lys Leu Glu Pro Ile Arg Ser Ser Tyr Thr Val Phe
 210 215 220

Gln Leu Gln Asn Ile Val Lys Pro Leu Pro Pro Glu Phe Leu His Ile
 225 230 235 240

Ser Val Glu Asn Ser Ile Asp Ile Arg Met Lys Trp Ser Thr Pro Gly
 245 250 255

Gly Pro Ile Pro Pro Arg Cys Tyr Thr Tyr Glu Ile Val Ile Arg Glu
 260 265 270

Asp Asp Ile Ser Trp Glu Ser Ala Thr Asp Lys Asn Asp Met Lys Leu
 275 280 285

Lys Arg Arg Ala Asn Glu Ser Glu Asp Leu Cys Phe Phe Val Arg Cys
 290 295 300

Lys Val Asn Ile Tyr Cys Ala Asp Asp Gly Ile Trp Ser Glu Trp Ser
 305 310 315 320

Glu Glu Glu Cys Trp Glu Gly Tyr Thr Gly Pro Asp Ser Lys Ile Ile
 325 330 335

Phe Ile Val Pro Val Cys Leu Phe Phe Ile Phe Leu Leu Leu Leu Leu
 340 345 350

Cys Leu Ile Val Glu Lys Glu Glu Pro Glu Pro Thr Leu Ser Leu His
 355 360 365

Val Asp Leu Asn Lys Glu Val Cys Ala Tyr Glu Asp Thr Leu Cys
 370 375 380

<210> 3
 <211> 1369
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (103)..(1245)

<400> 3
 ggatccgcgc ggatgaaggc tatttgaagt cgccataacc tggtcagaag tgtgcctgtc 60

ggcggggaga gaggcaatat caaggtttta aatctcggag aa atg gct ttc gtt 114
 Met Ala Phe Val

1

tgc ttg gct atc gga tgc tta tat acc ttt ctg ata agc aca aca ttt 162

Cys	Leu	Ala	Ile	Gly	Cys	Leu	Tyr	Thr	Phe	Leu	Ile	Ser	Thr	Thr	Phe	
5					10					15					20	
ggc	tgt	act	tca	tct	tca	gac	acc	gag	ata	aaa	ggt	aac	cct	cct	cag	210
Gly	Cys	Thr	Ser	Ser	Ser	Asp	Thr	Glu	Ile	Lys	Val	Asn	Pro	Pro	Gln	
			25					30					35			
gat	ttt	gag	ata	gtg	gat	ccc	gga	tac	tta	ggt	tat	ctc	tat	ttg	caa	258
Asp	Phe	Glu	Ile	Val	Asp	Pro	Gly	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Leu	Tyr	Leu	Gln	
			40					45				50				
tgg	caa	ccc	cca	ctg	tct	ctg	gat	cat	ttt	aag	gaa	tgc	aca	gtg	gaa	306
Trp	Gln	Pro	Pro	Leu	Ser	Leu	Asp	His	Phe	Lys	Glu	Cys	Thr	Val	Glu	
		55					60				65					
tat	gaa	cta	aaa	tac	cga	aac	att	ggt	agt	gaa	aca	tgg	aag	acc	atc	354
Tyr	Glu	Leu	Lys	Tyr	Arg	Asn	Ile	Gly	Ser	Glu	Thr	Trp	Lys	Thr	Ile	
	70					75				80						
att	act	aag	aat	cta	cat	tac	aaa	gat	ggg	ttt	gat	ctt	aac	aag	ggc	402
Ile	Thr	Lys	Asn	Leu	His	Tyr	Lys	Asp	Gly	Phe	Asp	Leu	Asn	Lys	Gly	
	85				90				95						100	
att	gaa	gcg	aag	ata	cac	acg	ctt	tta	cca	tgg	caa	tgc	aca	aat	gga	450
Ile	Glu	Ala	Lys	Ile	His	Thr	Leu	Leu	Pro	Trp	Gln	Cys	Thr	Asn	Gly	
			105					110						115		
tca	gaa	ggt	caa	agt	tcc	tgg	gca	gaa	act	act	tat	tgg	ata	tca	cca	498
Ser	Glu	Val	Gln	Ser	Ser	Trp	Ala	Glu	Thr	Thr	Tyr	Trp	Ile	Ser	Pro	
			120					125					130			
caa	gga	att	cca	gaa	act	aaa	ggt	cag	gat	atg	gat	tgc	gta	tat	tac	546
Gln	Gly	Ile	Pro	Glu	Thr	Lys	Val	Gln	Asp	Met	Asp	Cys	Val	Tyr	Tyr	
	135						140					145				
aat	tgg	caa	tat	tta	ctc	tgt	tct	tgg	aaa	cct	ggc	ata	ggt	gta	ctt	594
Asn	Trp	Gln	Tyr	Leu	Leu	Cys	Ser	Trp	Lys	Pro	Gly	Ile	Gly	Val	Leu	
	150					155					160					
ctt	gat	acc	aat	tac	aac	ttg	ttt	tac	tgg	tat	gag	ggc	ttg	gat	cat	642
Leu	Asp	Thr	Asn	Tyr	Asn	Leu	Phe	Tyr	Trp	Tyr	Glu	Gly	Leu	Asp	His	
	165				170				175						180	
gca	tta	cag	tgt	ggt	gat	tac	atc	aag	gct	gat	gga	caa	aat	ata	gga	690
Ala	Leu	Gln	Cys	Val	Asp	Tyr	Ile	Lys	Ala	Asp	Gly	Gln	Asn	Ile	Gly	
			185					190						195		
tgc	aga	ttt	ccc	tat	ttg	gag	gca	tca	gac	tat	aaa	gat	ttc	tat	att	738
Cys	Arg	Phe	Pro	Tyr	Leu	Glu	Ala	Ser	Asp	Tyr	Lys	Asp	Phe	Tyr	Ile	
			200					205					210			
tgt	ggt	aat	gga	tca	tca	gag	aac	aag	cct	atc	aga	tcc	agt	tat	ttc	786
Cys	Val	Asn	Gly	Ser	Ser	Glu	Asn	Lys	Pro	Ile	Arg	Ser	Ser	Tyr	Phe	
		215					220					225				
act	ttt	cag	ctt	caa	aat	ata	ggt	aaa	cct	ttg	ccg	cca	gtc	tat	ctt	834
Thr	Phe	Gln	Leu	Gln	Asn	Ile	Val	Lys	Pro	Leu	Pro	Pro	Val	Tyr	Leu	
	230					235						240				
act	ttt	act	cgg	gag	agt	tca	tgt	gaa	att	aag	ctg	aaa	tgg	agc	ata	882

Thr Phe Thr Arg Glu Ser Ser Cys Glu Ile Lys Leu Lys Trp Ser Ile
 245 250 255 260
 cct ttg gga cct att cca gca agg tgt ttt gat tat gaa att gag atc 930
 Pro Leu Gly Pro Ile Pro Ala Arg Cys Phe Asp Tyr Glu Ile Glu Ile
 265 270 275
 aga gaa gat gat act acc ttg gtg act gct aca gtt gaa aat gaa aca 978
 Arg Glu Asp Asp Thr Thr Leu Val Thr Ala Thr Val Glu Asn Glu Thr
 280 285 290
 tac acc ttg aaa aca aca aat gaa acc cga caa tta tgc ttt gta gta 1026
 Tyr Thr Leu Lys Thr Thr Asn Glu Thr Arg Gln Leu Cys Phe Val Val
 295 300 305
 aga agc aaa gtg aat att tat tgc tca gat gac gga att tgg agt gag 1074
 Arg Ser Lys Val Asn Ile Tyr Cys Ser Asp Asp Gly Ile Trp Ser Glu
 310 315 320
 tgg agt gat aaa caa tgc tgg gaa ggt gaa gac cta tgc aag aaa act 1122
 Trp Ser Asp Lys Gln Cys Trp Glu Gly Glu Asp Leu Ser Lys Lys Thr
 325 330 335 340
 ttg cta cgt ttc tgg cta cca ttt ggt ttc atc tta ata tta gtt ata 1170
 Leu Leu Arg Phe Trp Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu Ile Leu Val Ile
 345 350 355
 ttt gta acc ggt ctg ctt ttg cgt aag cca aac acc tac cca aaa atg 1218
 Phe Val Thr Gly Leu Leu Leu Arg Lys Pro Asn Thr Tyr Pro Lys Met
 360 365 370
 att cca gaa ttt ttc tgt gat aca tga agactttcca tatcaagaga 1265
 Ile Pro Glu Phe Phe Cys Asp Thr
 375 380
 catggtattg actcaacagt ttccagtcac ggccaaatgt tcaatatgag tctcaataaa 1325
 ctgaattttt cttgcgaaaa aaaaaaaaaa aaatccgcgg atcc 1369

 <210> 4
 <211> 380
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

 <400> 4
 Met Ala Phe Val Cys Leu Ala Ile Gly Cys Leu Tyr Thr Phe Leu Ile
 1 5 10 15
 Ser Thr Thr Phe Gly Cys Thr Ser Ser Ser Asp Thr Glu Ile Lys Val
 20 25 30
 Asn Pro Pro Gln Asp Phe Glu Ile Val Asp Pro Gly Tyr Leu Gly Tyr
 35 40 45
 Leu Tyr Leu Gln Trp Gln Pro Pro Leu Ser Leu Asp His Phe Lys Glu
 50 55 60
 Cys Thr Val Glu Tyr Glu Leu Lys Tyr Arg Asn Ile Gly Ser Glu Thr
 65 70 75 80

Trp Lys Thr Ile Ile Thr Lys Asn Leu His Tyr Lys Asp Gly Phe Asp
 85 90 95
 Leu Asn Lys Gly Ile Glu Ala Lys Ile His Thr Leu Leu Pro Trp Gln
 100 105 110
 Cys Thr Asn Gly Ser Glu Val Gln Ser Ser Trp Ala Glu Thr Thr Tyr
 115 120 125
 Trp Ile Ser Pro Gln Gly Ile Pro Glu Thr Lys Val Gln Asp Met Asp
 130 135 140
 Cys Val Tyr Tyr Asn Trp Gln Tyr Leu Leu Cys Ser Trp Lys Pro Gly
 145 150 155 160
 Ile Gly Val Leu Leu Asp Thr Asn Tyr Asn Leu Phe Tyr Trp Tyr Glu
 165 170 175
 Gly Leu Asp His Ala Leu Gln Cys Val Asp Tyr Ile Lys Ala Asp Gly
 180 185 190
 Gln Asn Ile Gly Cys Arg Phe Pro Tyr Leu Glu Ala Ser Asp Tyr Lys
 195 200 205
 Asp Phe Tyr Ile Cys Val Asn Gly Ser Ser Glu Asn Lys Pro Ile Arg
 210 215 220
 Ser Ser Tyr Phe Thr Phe Gln Leu Gln Asn Ile Val Lys Pro Leu Pro
 225 230 235 240
 Pro Val Tyr Leu Thr Phe Thr Arg Glu Ser Ser Cys Glu Ile Lys Leu
 245 250 255
 Lys Trp Ser Ile Pro Leu Gly Pro Ile Pro Ala Arg Cys Phe Asp Tyr
 260 265 270
 Glu Ile Glu Ile Arg Glu Asp Asp Thr Thr Leu Val Thr Ala Thr Val
 275 280 285
 Glu Asn Glu Thr Tyr Thr Leu Lys Thr Thr Asn Glu Thr Arg Gln Leu
 290 295 300
 Cys Phe Val Val Arg Ser Lys Val Asn Ile Tyr Cys Ser Asp Asp Gly
 305 310 315 320
 Ile Trp Ser Glu Trp Ser Asp Lys Gln Cys Trp Glu Gly Glu Asp Leu
 325 330 335
 Ser Lys Lys Thr Leu Leu Arg Phe Trp Leu Pro Phe Gly Phe Ile Leu
 340 345 350
 Ile Leu Val Ile Phe Val Thr Gly Leu Leu Leu Arg Lys Pro Asn Thr
 355 360 365
 Tyr Pro Lys Met Ile Pro Glu Phe Phe Cys Asp Thr
 370 375 380

<210> 5

<211> 17
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 5
 ksrtccabk crctcca

17

<210> 6
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 6
 atagttaaac cattgccacc

20

<210> 7
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 7
 ctccattcgc tccaaattcc

20

<210> 8
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 8
 agtctatctt actttttactc g

21

<210> 9
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 寡核苷酸

<400> 9
 catctgagca ataaatattc ac

22

IL-13

IL-11

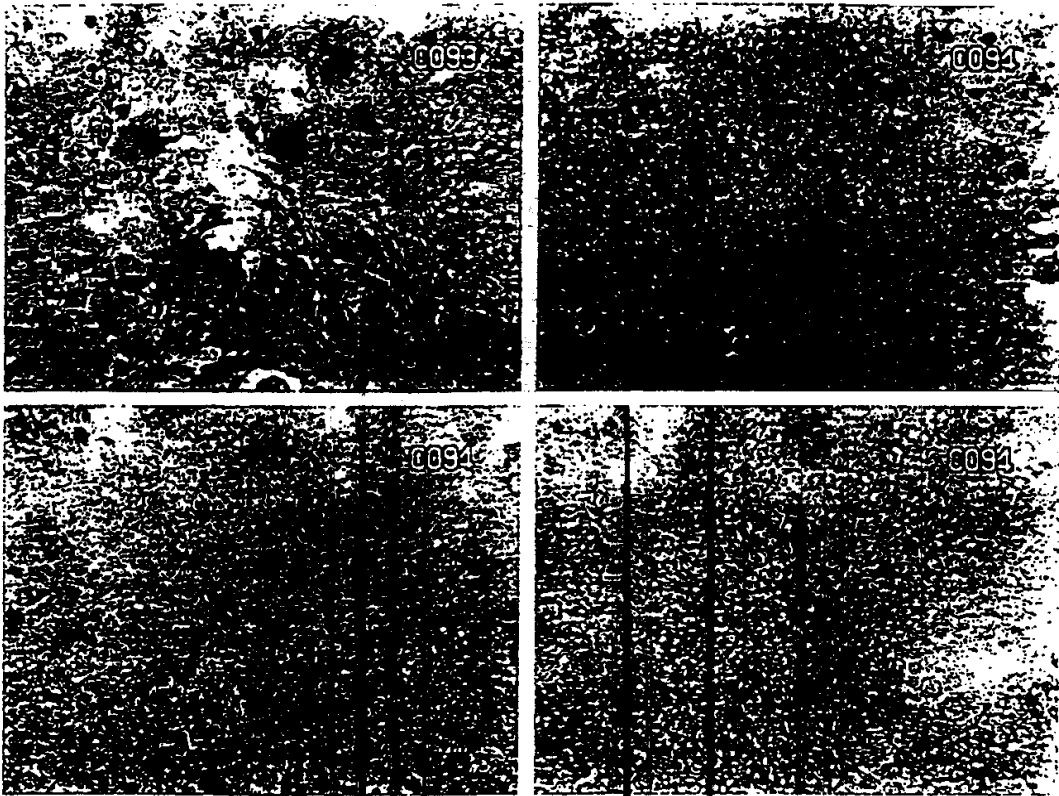


图 1

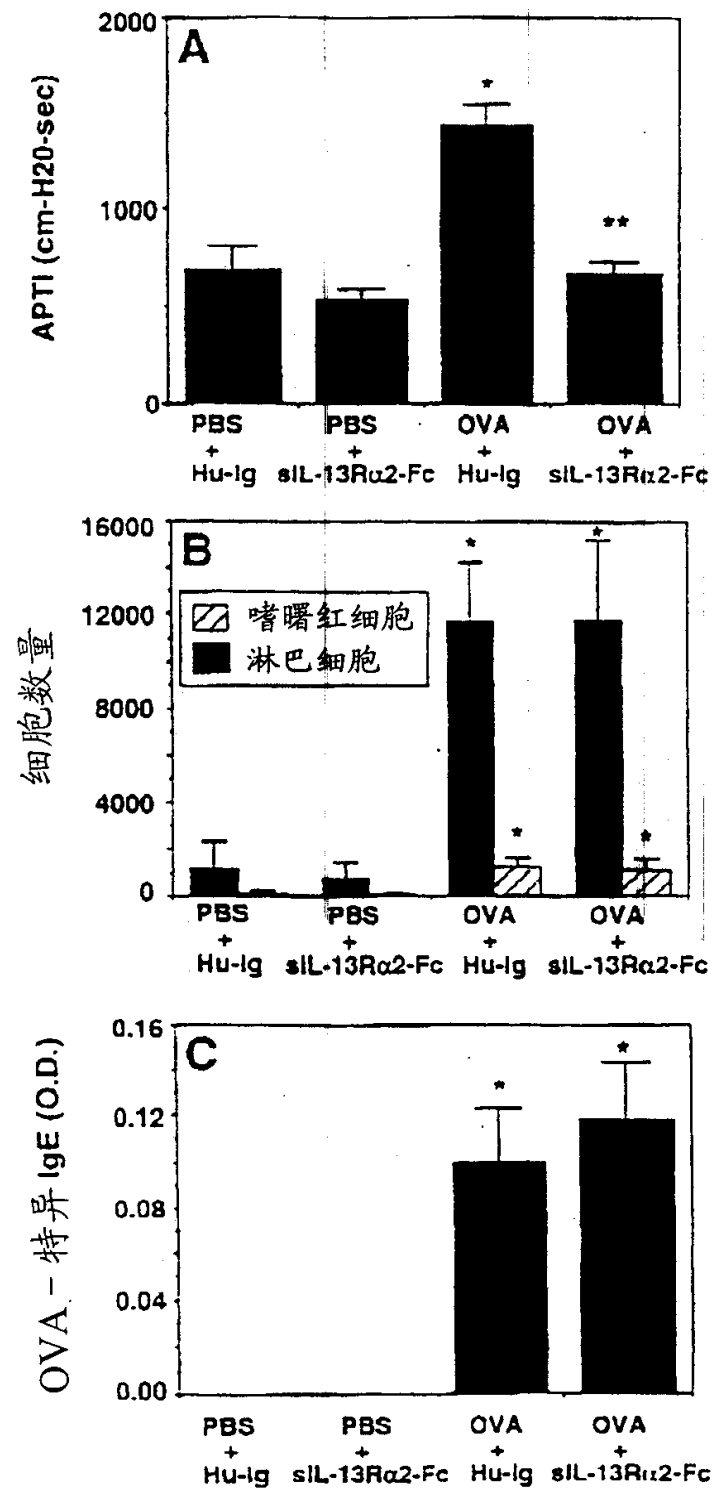


图 2

sIL-13R α 2.Fc 拮抗 OVA 诱导粘液生成



图 3

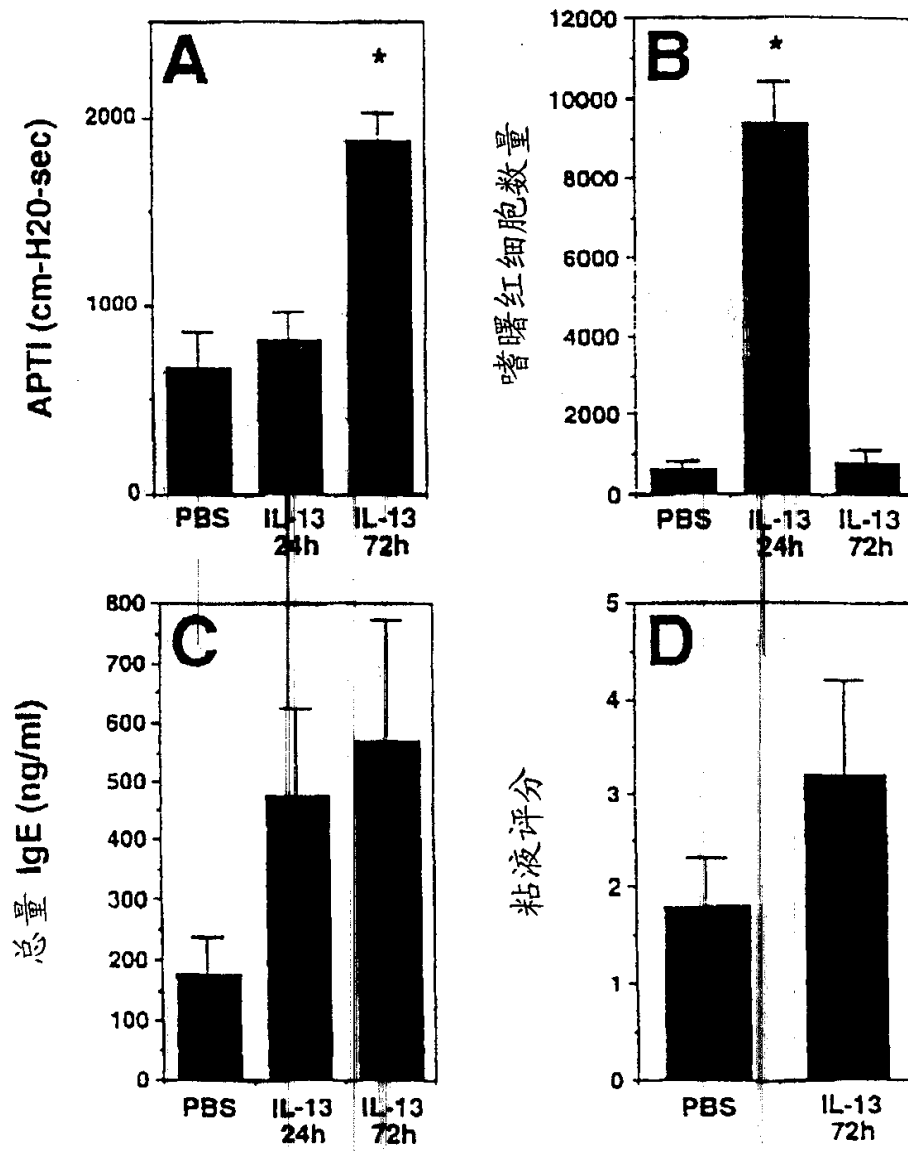


图 4