

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12N 15/12

C07K 14/715 C07K 14/47

C07K 16/28 G01N 33/53

A61K 38/17 A61K 39/395



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01812411.9

[43] 公开日 2005 年 2 月 2 日

[11] 公开号 CN 1575337A

[22] 申请日 2001.5.10 [21] 申请号 01812411.9

[30] 优先权

[32] 2000.5.10 [33] US [31] 60/203,426

[86] 国际申请 PCT/US2001/015057 2001.5.10

[87] 国际公布 WO2001/085790 英 2001.11.15

[85] 进入国家阶段日期 2003.1.6

[71] 申请人 先灵公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 M·基里卡 R·A·卡斯特莱恩

K·W·穆尔 C·L·帕哈姆

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 徐雁漪

权利要求书 9 页 说明书 57 页 序列表 17 页

[54] 发明名称 哺乳动物细胞因子受体亚单位蛋白、相关试剂及方法

[57] 摘要

本发明提供编码哺乳动物(例如灵长类)受体的核酸、纯化受体蛋白及其片段。还提供多克隆抗体和单克隆抗体。描述了使用所述组合物进行诊断及治疗的方法。

ISSN 1008-4274

1. 一种大致纯或重组多肽，它包含 SEQ ID NO: 2 胞内部分的至少 10 个连续氨基酸。
- 5 2. 权利要求 1 的多肽，其中：
- a) 所述多肽包含 SEQ ID NO: 2 胞内部分的至少 25 个连续氨基酸；
- b) 所述多肽为重组多肽，它包含 SEQ ID NO: 2 的胞内部分；
- c) 所述多肽还包含 SEQ ID NO: 2 非胞内部分的至少 10 个连续氨基酸；
- 10 d) 所述多肽包含 SEQ ID NO: 2 胞外部分的至少 25 个氨基酸；
- e) 所述多肽包含成熟 SEQ ID NO: 2，或者
- f) 所述多肽为大致纯天然多肽。
3. 权利要求 1 的重组多肽，它：
- 15 a) 由表 1 的成熟序列组成；
- b) 为非糖基化多肽；
- c) 来自人类；
- d) 包含 SEQ ID NO: 2 的至少 40 个连续氨基酸；
- e) 具有 SEQ ID NO: 2 的至少 3 个非重叠区段，每个区段至少
- 20 15 个连续氨基酸；
- f) 为 SEQ ID NO: 2 的天然多态性变异体；
- g) 具有至少约 30 个氨基酸的长度；
- h) 具有至少 2 个灵长类 DCRS5 特异性非重叠表位；
- i) 其分子量至少 30 kD 的天然糖基化多肽；
- 25 j) 为合成多肽；
- k) 为无菌形式；
- l) 为水性溶液或缓冲溶液；
- m) 与固体支持物结合；

- n) 与另一种化学部分缀合; 或者
 - o) 与 IL-12R β 1 多肽物理缔合。
4. 一种组合物, 它包含的物质选自:
- a) 包含 SEQ ID NO: 2 胞内部分的至少 2 个不同的非重叠区段、每个区段至少 6 个连续氨基酸的大致纯或重组多肽;
 - b) 包含 SEQ ID NO: 2 胞内部分的至少 12 个连续氨基酸的大致纯或重组多肽; 或者
 - c) 包含成熟 SEQ ID NO: 2 的大致纯天然序列多肽。
5. 权利要求 4 的多肽, 其中
- 1) 权利要求 4a 多肽, 其中
 - a) 所述不同的非重叠区段:
 - i) 包括至少 12 个氨基酸的一种区段;
 - ii) 包括至少 7 个氨基酸的一种区段和至少 9 个氨基酸的第二种区段;
 - iii) 包括至少 6 个氨基酸的第三种不同区段;
 - iv) 包含以下之一: R355-L373、P378-L405、V407-D426、K428-D439、P441-V452、I454-G460、I465-T587 或 N592-606; 或
 - b) 所述多肽还包含 SEQ ID NO: 2 胞外部分的至少 2 个不同的非重叠区段, 每个区段至少 6 个连续氨基酸;
 - 2) 权利要求 4b 的多肽, 其中:
 - a) 所述至少 12 个连续氨基酸区段包含以下之一: R355-L373、P378-L405、V407-D426、K428-D439、P441-V452、I454-G460、I465-T587 或 N592-606; 或
 - b) 所述多肽还包含 SEQ ID NO: 2 胞外部分的至少 2 个不同的非重叠区段, 每个区段至少 6 个连续氨基酸; 或
 - 3) 权利要求 4c 的多肽, 它还包含纯化或检测表位。
6. 权利要求 4 的多肽, 它:

- a) 由表 1 的成熟序列组成;
 - b) 为非糖基化多肽;
 - c) 来自人类;
 - d) 包含 SEQ ID NO: 2 的至少 40 个连续氨基酸;
 - 5 e) 具有 SEQ ID NO: 2 的至少 3 个非重叠区段, 每个区段至少 15 个连续氨基酸;
 - f) 为 SEQ ID NO: 2 的天然多态性变异体;
 - g) 具有至少约 30 个氨基酸的长度;
 - h) 具有至少 2 个灵长类 DCRS5 特异性非重叠表位;
 - 10 i) 其分子量至少 30 kD 的天然糖基化多肽;
 - j) 为合成多肽;
 - k) 为无菌形式;
 - l) 为水性溶液或缓冲溶液;
 - m) 与固体支持物结合;
 - 15 n) 与另一种化学部分缀合; 或者
 - o) 与 IL-12R β 1 多肽物理缔合。
7. 一种组合物, 它包含:
- a) 与 IL-12R β 1 蛋白组合的大致纯的权利要求 4 多肽; 或
 - b) 权利要求 4 的所述多肽和载体, 其中所述载体为:
 - 20 i) 水性化合物, 包括水、盐水和/或缓冲液; 和/或
 - ii) 配制用于口服、直肠、鼻、局部或胃肠外给药。
8. 一种试剂盒, 它包含权利要求 4 的多肽和:
- a) 包含所述多肽的区室;
 - b) 包含 IL-12R β 1 多肽的区室;
 - 25 c) 包含 p40、IL-B30 或 p40/IL-B30 多肽的区室; 或者
 - d) 所述试剂盒试剂的使用或处理说明书。
9. 一种包含抗体抗原结合位点的结合化合物, 它特异性结合权利要求 1 所述多肽的所述胞内部分, 其中:

- a) 所述结合化合物装在一个容器中;
 - b) 所述多肽来自人类;
 - c) 所述结合化合物是 Fv、Fab 或 Fab2 片段;
 - d) 所述结合化合物与另一种化学部分缀合; 或者
 - 5 e) 所述抗体:
 - i) 是针对表 1 成熟多肽的肽序列产生的抗体;
 - ii) 是针对成熟 DCRS5 产生的抗体;
 - iii) 是针对纯化的人 DCRS5 产生的抗体;
 - iv) 为免疫选择性抗体;
 - 10 v) 为多克隆抗体; 荧光标记;
 - vi) 结合变性 DCRS5;
 - vii) 对抗原的 Kd 至少 30 μ M;
 - viii) 与固体支持物结合, 包括珠子或塑料膜;
 - ix) 为无菌组合物; 或者
 - 15 x) 为检测性标记的抗体, 包括放射性标记或荧光标记。
10. 一种试剂盒, 它包含权利要求 9 所述结合化合物和:
- a) 包含所述结合化合物的区室;
 - b) 包含以下组分的区室:
 - i) p40 多肽
 - 20 ii) IL-B30 多肽;
 - iii) DCRS5 多肽; 和/或
 - iv) IL-12R β 1 多肽;
 - c) 包含选择性结合以下组分的抗体的区室:
 - i) p40 多肽
 - 25 ii) IL-B30 多肽;
 - iii) DCRS5 多肽; 和/或
 - iv) IL-12R β 1 多肽; 或者
 - d) 所述试剂盒试剂使用或处理的说明书。

11. 一种生产抗原：抗体复合物的方法，该方法包括在合适条件下使灵长类 DCRS5 多肽与权利要求 9 的抗体接触，由此形成所述复合物。

12. 权利要求 11 的方法，其中：

- 5 a) 所述复合物纯化自其它细胞因子受体；
 b) 所述复合物纯化自其它抗体；
 c) 所述接触是与包含干扰素的样品接触；
 d) 所述接触使得可定量检测所述抗原；
 e) 所述接触是与包含所述抗体的样品接触；或者
10 f) 所述接触使得可定量检测所述抗体。

13. 一种组合物，它包含：

- a) 权利要求 9 的无菌结合化合物，或
 b) 权利要求 9 的所述结合化合物和载体，其中所述载体为：
 i) 水性化合物，包括水、盐水和或缓冲液；和/或
15 ii) 配制用于口服、直肠、鼻、局部或胃肠外给药。

14. 一种编码权利要求 1 的所述 DCRS5 多肽的分离或重组核酸，其中所述：

- a) DCRS5 来自人类；或者
 b) 所述核酸：
20 i) 编码表 1 的抗原性肽序列；
 ii) 编码表 1 的多个抗原性肽序列；
 iii) 在至少 13 个核苷酸上与编码所述区段的天然 cDNA
 相同；
 iv) 为表达载体；
25 v) 还包含复制起点；
 vi) 来自天然来源；
 vii) 包含可检测标记；
 viii) 包含合成核苷酸序列；

- ix) 小于 6 kb, 优选小于 3 kb;
x) 来自灵长类;
xi) 包含天然全长编码序列;
xii) 为编码所述 DCRS5 的基因的杂交探针; 或者
5 xiii) 为 PCR 引物、PCR 产物或突变引物。
15. 一种细胞或组织, 它包含权利要求 14 的所述重组核酸。
16. 权利要求 15 的细胞, 其中所述细胞是:
- 10 a) 原核细胞;
 b) 真核细胞;
 c) 细菌细胞;
 d) 酵母细胞;
 e) 昆虫细胞;
 f) 哺乳动物细胞;
 g) 小鼠细胞;
15 h) 灵长类细胞; 或者
 i) 人类细胞。
17. 一种试剂盒, 它包含权利要求 14 的所述核酸和:
- 20 a) 包含所述核酸的区室;
 b) 包含编码以下组分的核酸的区室:
 i) p40 多肽
 ii) IL-B30 多肽;
 iii) DCRS5 多肽; 和/或
 iv) IL-12R β 1 多肽;
 c) 包含以下组分的区室:
- 25 i) p40 多肽
 ii) IL-B30 多肽;
 iii) DCRS5 多肽; 和/或
 iv) IL-12R β 1 多肽;

- d) 包含选择性结合以下组分的抗体的区室：
- i) p40 多肽
 - ii) IL-B30 多肽；
 - iii) DCRS5 多肽；和/或
 - 5 iv) IL-12R β 1 多肽；或者
- f) 所述试剂盒试剂使用或处理的说明书。
18. 一种核酸，它：
- a) 在 30 分钟、30℃和低于 2 M 盐的洗涤条件下与编码细胞内部分的 SEQ ID NO: 1 部分杂交；或者
 - 10 b) 在至少约 30 个核苷酸的节段上与灵长类 DCRS5 的细胞内部分相同。
19. 权利要求 18 的核酸，其中：
- a) 所述洗涤条件为 45℃和/或 500 mM 盐；或者
 - b) 所述节段为至少 55 个核苷酸。
- 15 20. 权利要求 18 的核酸，其中：
- a) 所述洗涤条件为 55℃和/或 150 mM 盐；或者
 - b) 所述节段为至少 75 个核苷酸。
21. 一种调节细胞生理或发育的方法，该方法包括所述细胞与以下组分接触：
- 20 a) p40/IL-B30 的拮抗剂，该拮抗剂为包含以下组分的复合物：
 - i) 灵长类 DCRS5 胞外部分；和/或
 - ii) 灵长类 IL-12R β 1 胞外部分；
 - b) p40/IL-B30 的拮抗剂，它为结合包含以下组分的复合物的抗体：
 - 25 i) 灵长类 DCRS5；和/或
 - ii) 灵长类 IL-12R β 1；
 - c) p40/IL-B30 的拮抗剂，它为结合 DCRS5 的抗体；

- d) p40/IL-B30 的拮抗剂, 它为抗 IL-12R β 1 的抗体;
- e) p40/IL-B30 的拮抗剂, 它为 DCRS5 或 IL-12R β 1 的反义核
酸; 或者
- f) p40/IL-B30 的激动剂, 它为结合包含以下组分的复合物的
5 抗体:
- i) 灵长类 DCRS5; 和/或
- ii) 灵长类 IL-12R β 1.
22. 权利要求 21 的方法, 其中所述接触为与拮抗剂接触, 而且:
- a) 所述接触与以下组分的拮抗剂混合:
- 10 i) IL-12;
- ii) IL-18;
- iii) TNF; 或
- iv) IFN γ ; 或者
- b) 所述细胞来自宿主, 所述宿主:
- 15 i) 表现出慢性 Th1 介导性疾病的体征或症状;
- ii) 表现出多发性硬化、类风湿性关节炎、骨关节炎、炎症
性肠病、糖尿病、牛皮癣或脓毒病的症状或体征; 或者
- iii) 接受同种异体移植。
23. 权利要求 21 的方法, 其中所述接触是与激动剂接触, 而且:
- 20 a) 所述接触与以下组分混合:
- i) IL-12;
- ii) IL-18;
- iii) TNF; 或
- iv) IFN γ ; 或者
- 25 b) 所述细胞来自宿主, 所述宿主:
- i) 表现出慢性 TH2 反应的体征或症状;
- ii) 罹患肿瘤或存在病毒或真菌生长;
- iii) 接受疫苗; 或者

iv) 存在变态反应。

哺乳动物细胞因子受体亚单位蛋白、相关试剂及方法

5 发明领域

本发明涉及影响哺乳动物生理(包括免疫系统功能)的组合物及方法。本发明特别涉及调节发育和/或免疫系统的方法。还公开了所述物质的诊断及治疗用途。

10 发明背景

重组 DNA 技术一般是指：将供体来源的遗传信息整合入载体，然后例如导入宿主，因此所转移的遗传信息在新的环境中拷贝和/或表达。一般来说，遗传信息以编码需要蛋白产物的信使 RNA(mRNA)产生的互补 DNA(cDNA)形式存在。载体通常为一种质粒，能够导入
15 cDNA，然后在宿主中复制，在某些情况下，实际上是控制 cDNA 表达，由此控制编码产物在宿主中合成。参见例如 Sambrook 等，(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (第二版), 第 1-3 卷, CSH Press, NY。

一段时间以来，人们知道，哺乳动物免疫反应的基础是一系列的复杂细胞相互作用，称之为“免疫网络”。最新研究对该网络的内部作用机制获得了新的认识。尽管实际上许多免疫反应均涉及淋巴细胞、巨噬细胞、粒细胞和其它细胞的网络样相互作用，但是免疫学者目前普遍认为，称为淋巴因子、细胞因子或单核细胞因子的可溶性蛋白在控制上述细胞相互作用中起重要作用。因此，细胞调
20 节因子的分离、鉴定和作用机制非常引人注目，对它们的了解可使
25 得众多医学上的异常例如免疫系统疾病的诊断和治疗获得显著改善。

显而易见的是，淋巴因子以多种方式介导细胞活动。参见例如

Paul(主编, 1996) Fundamental Immunology, 第三版, Raven Press, New York; Thomson(主编, 1994) The Cytokine Handbook, 第二版, Academic Press, San Diego。已经证实, 它们促进多能造血干细胞增殖、生长和/或分化为数量巨大的祖细胞, 包括构成复杂免疫系统的各种细胞谱系。细胞组分之间的正常平衡的相互作用是健康免疫系统所必需的。当淋巴因子与其它药物一起给予时, 常常不同细胞谱系的反应不同。

免疫反应特别重要的细胞谱系包括两类淋巴细胞: B 细胞和各种亚型的 T 细胞, B 细胞产生和分泌免疫球蛋白(免疫球蛋白能够识别并结合外源物质, 以便消除外源物质), T 细胞分泌淋巴因子并诱导或抑制 B 细胞以及构成免疫网络的各种其它细胞(包括其它 T 细胞)。所述淋巴细胞与许多其它细胞类型相互作用。

一般不能在体外维持免疫系统细胞, 这阻碍了目的在于更好地了解和治疗各种免疫疾病的研究。免疫学者发现, 通过应用包含各种生长因子(包括许多淋巴因子)的 T 细胞上清液和其它细胞上清液可对许多上述细胞进行培养。

存在调节形态发育的各种生长调节因子。已知许多细胞因子受体。功能受体通常存在至少两个重要亚单位。参见例如 Heinrich 等, (1998) Biochem. J. 334:297-314; Gonda 和 D'Andrea (1997) Blood 89:355-369; Presky 等, (1996) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 93:14002-14007; Drachman 和 Kaushansky (1995) Curr. Opin. Hematol. 2:22-28; Theze (1994) Eur. Cytokine Netw. 5:353-368; Lemmon 和 Schlessinger (1994) Trends Biochem. Sci. 19:459-463。

如上所述, 显而易见的是, 对于直接或间接涉及例如免疫系统和/或造血细胞的发育、分化或功能的各种变性性病或异常病症而言, 发现和研制新的可溶性蛋白及其受体, 包括类似于淋巴因子的可溶性蛋白及其受体, 应该可以获得新的治疗方法。具体来说, 发现和了解增强其它淋巴因子有益作用的淋巴样分子的新型受体, 应该是非常有益的。本发明提供与细胞因子样组合物和相关化合物相

似的配体的新型受体及其使用方法。

发明概述

5 本发明涉及与细胞因子受体有关的新型受体及其生物活性，例如灵长类细胞因子受体样分子结构，称为 DNAX 细胞因子受体亚单位(DCRS)。具体来说，本发明说明称为 DCRS5 的一种亚单位。本发明包括编码所述多肽本身的核酸及其生产和使用方法。本发明核酸的特征部分在于其与本文公开的克隆互补 DNA (cDNA)序列同源。此外，本发明提供匹配的 p40/IL-B30 配体与受体亚单位 DCRS5 和 IL-10 12R β 1，所述受体配体对使得可以了解其直接涉及反应物为基础的激动剂和拮抗剂的使用适应症。

本发明提供大致纯多肽或重组多肽，该多肽包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分的至少 10 个连续氨基酸。在某些实施方案中，所述多肽：包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分的至少 25 个连续氨基酸；为重组多肽，它包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分；还包含 SEQ ID NO: 2 非细胞内部分的至少 10 个连续氨基酸；包含 SEQ ID NO: 2 细胞外部分的至少 25 个氨基酸；包含成熟 SEQ ID NO: 2；或者为大致纯天然多肽。在其它实施方案中，所述重组多肽：由表 1 的成熟序列组成；为非糖基化多肽；为来自人类的多肽；包含 SEQ ID NO: 2 的至少 40 15 个连续氨基酸；具有 SEQ ID NO: 2 的至少 3 个非重叠区段，每个区段至少 15 个连续氨基酸；为 SEQ ID NO: 2 的天然多态性变异体；其长度为至少约 30 个氨基酸；具有至少 2 个非重叠表位，其为灵长类 DCRS5 特异性表位；其分子量至少为 30 kD，天然糖基化；为合成多肽；为无菌形式；为水性溶液或缓冲溶液；其附着在固体支持物上；其与另一个化学部分缀合；或者与 IL-12R β 1 多肽物理性缔合。20 25

本发明其它实施方案提供：包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分至少 2 个不同非重叠区段的大致纯多肽或重组多肽，每个区段至少 6 个连续氨基酸；包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分至少 12 个连续氨基

酸的大致纯多肽或重组多肽；或者包含成熟 SEQ ID NO: 2 的大致纯天然序列多肽。在具体形式中，包含 SEQ ID NO: 2 细胞内部分至少 2 个不同非重叠区段(每个区段至少 6 个连续氨基酸)的多肽中，所述不同非重叠区段：一个区段包含至少 12 个氨基酸；一个包含至少 7 个氨基酸的区段，以及第二个至少 9 个氨基酸的区段；包含第三个至少 6 个氨基酸的不同区段；或者包含以下其中之一：R355-L373、P378-L405、V407-D426、K428-D439、P441-V452、I454-G460、I465-T587 或 N592-606；或者所述多肽还包含 SEQ ID NO: 2 细胞外部分的至少 2 个不同非重叠区段，每个区段至少 6 个连续氨基酸。或者，包含 SEQ ID NO: 2 细胞内的至少 12 个连续氨基酸的多肽中，所述至少 12 个连续氨基酸区段包含以下其中之一：R355-L373、P378-L405、V407-D426、K428-D439、P441-V452、I454-G460、I465-T587 或 N592-606；或者所述多肽还包含 SEQ ID NO: 2 细胞外部分的至少 6 个连续氨基酸的至少 2 个不同非重叠区段。或者，包含成熟 SEQ ID NO: 2 的纯化天然序列多肽还可包含纯化或检测表位。所述多肽可以：由表 1 成熟序列组成；为非糖基化多肽；来自人类；包含 SEQ ID NO: 2 的至少 40 个连续氨基酸；具有 SEQ ID NO: 2 的至少 3 个非重叠区段，每个区段至少 15 个连续氨基酸；为 SEQ ID NO: 2 的天然多态性变异体；长度至少约 30 个氨基酸；具有至少 2 个灵长类 DCRS5 特异性非重叠表位；分子量至少 30 kD(天然糖基化)；为合成多肽；为无菌形式；为水性溶液或缓冲溶液；与固体支持物连接；与另一个化学部分缀合；或者与 IL-12 β 1 多肽物理性缔合。

提供各种其它组合物，例如其包含：与 IL-12 β 1 蛋白混合的大致纯多肽；或在载体中包含所述多肽，其中所述载体为：水性化合物，包括水、盐水和/或缓冲剂；和/或配制用于口服、直肠、鼻、局部、或胃肠外给药。

提供试剂盒，其包含所述多肽以及：包含所述多肽的区室；包含 IL-12 β 1 多肽的区室；包含 p40、IL-B30 或 p40/IL-B30 多肽的区

室；或者试剂盒试剂的使用或处理说明书。

提供特异性结合 DCRS5 的细胞内部分的抗体和其它结合化合物，例如包含抗体的抗原结合位点，其中：所述结合化合物装在一个容器中；所述多肽来自人类；所述结合化合物为 Fv、Fab 或 Fab2 片段；所述结合化合物与另一个化学部分缀合；或者所述抗体：针对表 1 成熟多肽的肽序列；针对成熟 DCRS5；针对纯化的人 DCRS5；为免疫选择性的；为多克隆抗体；结合变性 DCRS5；对抗原的 Kd 至少为 30 μm ；与固体支持物连接，包括珠子或塑料膜；为无菌组合物；或进行可检测性标记，包括放射性标记或荧光标记。还提供包含所述结合化合物的试剂盒：包含所述结合化合物的区室；包含 p40 多肽、IL-B30 多肽、DCRS5 多肽和/或 IL-12R β 1 多肽的区室；包含选择性结合以下物质的抗体的区室：p40 多肽、IL-B30 多肽、DCRS5 多肽和/或 IL-12R β 1 多肽；或者试剂盒试剂的使用或处理说明书。

还提供生产抗原：抗体复合物的方法，该方法包括在合适条件下使灵长类 DCRS5 多肽与抗体接触，由此形成所述复合物。所述方法可以：从其它细胞因子受体纯化所述复合物；从其它抗体纯化所述复合物；所述接触为与包含干扰素的样品接触；所述接触允许定量检测所述抗原；所述接触与包含所述抗体的样品接触；或者所述接触允许定量检测所述抗体。提供其它组合物，例如包含以下组分的组合物：无菌结合化合物或所述结合化合物和载体，其中所述载体为：水性化合物，包括水、盐水和/或缓冲液；和/或配制用于口服、直肠、鼻、局部或胃肠外给药。

本发明还提供编码 DCRS5 多肽的分离或重组核酸，其中：DCRS5 来自人类；或者所述核酸：编码表 1 的抗原肽序列；编码表 1 的多个抗原肽序列；至少有 13 个核苷酸与编码所述区段的天然 cDNA 相同；为表达载体；还包含复制起点；来自天然来源；包含可检测标记；包含合成核苷酸序列；小于 6 kb，优选小于 3 kb；来自灵长类；包含天然全长编码序列；为编码 DCRS5 的基因的杂交探针；或者为

PCR 引物、PCR 产物或突变引物。提供包含所述重组核酸的细胞，包括其中所述细胞为：原核细胞；真核细胞；细菌细胞；酵母细胞；昆虫细胞；哺乳动物细胞；小鼠细胞；灵长类细胞；或人类细胞。

试剂盒实施方案包括所述核酸和：包含所述核酸的区室；包含编码以下组分的核酸的区室：p40 多肽、IL-B30 多肽、DCRS5 多肽、和/或 IL-12R β 1 多肽；包含以下组分的区室：p40 多肽、IL-B30 多肽、DCRS5 多肽、和/或 IL-12R β 1 多肽；包含选择性结合以下组分的抗体的区室：p40 多肽、IL-B30 多肽、DCRS5 多肽、和/或 IL-12R β 1 多肽；试剂盒试剂使用或处理的说明书。

其它核酸实施方案包括：在 30 分钟、30℃和 2 M 以下盐的洗涤条件下与 SEQ ID NO: 1 编码细胞内部分的部分杂交；在至少约 30 个核苷酸区段上与灵长类 DCRS5 的细胞内部分相同。优选所述核酸为这样的核酸，其中：所述洗涤条件为 45℃和/或 500 mM 盐；或 55℃和/或 150 mM 盐；或者所述区段为至少 55 个或 75 个核苷酸。

治疗应用包括调节细胞生理或发育的方法，该方法包括使所述细胞接触：p40/IL-B30 的拮抗剂，所述拮抗剂是包含以下组份的复合物：灵长类 DCRS5 的细胞外部分和/或灵长类 IL-12R β 1 细胞外部分；p40/IL-B30 的拮抗剂，为结合包含灵长类 DCRS5 和/或灵长类 IL-12R β 1 的复合物的抗体；p40/IL-B30 的拮抗剂，为结合 DCRS5 的抗体；p40/IL-B30 的拮抗剂，为抗 IL-12R β 1 的抗体；p40/IL-B30 的拮抗剂，为 DCRS5 或 IL-4R β 1 的反义核酸；或 p40/IL-B30 的激动剂，为结合包含灵长类 DCRS5 和/或灵长类 IL-12R β 1 的复合物的抗体。在一种类型的方法中，所述接触为与拮抗剂接触，而且所述接触为与 IL-12、IL-18、TNF 和/或 IFN γ 的拮抗剂混合；或者所述细胞来自这样的宿主，所述宿主：表现出慢性 TH1 介导性疾病的体征或症状；表现出多发性硬化、类风湿性关节炎、骨关节炎、炎症性肠病、糖尿病、牛皮癣或脓毒病的症状或体征；或者接受同种异体移植。相反，所述方法可与激动剂接触，而且：所述接触与 IL-12、IL-18、TNF

或 IFN γ 混合；或者所述细胞来自这样的宿主：表现出慢性 Th2 型反应的体征或症状；存在肿瘤、病毒生长或真菌生长；接受疫苗；存在变态反应。

5

优选实施方案详述

大纲

I. 总论

II. 活性

III. 核酸

10

A. 编码片段、序列、探针

B. 突变、嵌合体、融合体

C. 制备核酸

D. 细胞包含的载体

IV. 蛋白质、肽

15

A. 片段、序列、免疫原、抗原

B. 突变蛋白

C. 激动剂/拮抗剂、功能等同物

D. 制备蛋白

V. 制备核酸、蛋白

20

A. 合成

B. 重组

C. 天然来源

VI. 抗体

A. 多克隆抗体

25

B. 单克隆抗体

C. 片段；Kd

D. 抗同种型抗体

E. 杂交瘤细胞系

VII. 试剂盒、诊断及定量检测

A. ELISA

B. 检测编码的 mRNA

C. 定量/定性

5 D. 试剂盒

VIII. 治疗组合物、方法

A. 组合组合物

B. 单位剂量

C. 使用方法

10 IX. 筛选

I. 总论

本发明提供哺乳动物(本文为灵长类)细胞因子受体样亚单位分子的氨基酸序列和 DNA 序列, 所述细胞因子受体样亚单位分子称为
15 DNAX 细胞因子受体亚单位 5(DCRS5), 其具有特别定义的结构及生物特性。编码上述分子的各种 cDNA 得自灵长类(例如人类)cDNA 序列文库。其它灵长类或其它哺乳动物的相应物质也是所要求的。

此外, 本发明提供匹配的 p40/IL-B30 和受体亚单位 DCRS5 和 IL-12R β 1, 所述配对可了解基于其涉及试剂的激动剂和拮抗剂的应用适应症。
20

某些适用的标准方法可参见例如 Maniatis 等(1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook 等(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (第二版), 第 13 卷, CSH Press, NY; Ausubel 等,
25 Biology, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY; 或 Ausubel 等(1987 和定期增刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York; 各参考文献通过引用结合到本文中。

灵长类(例如人类)的 DCRS5 的编码区段的核苷酸序列(SEQ ID NO: 1)及相应氨基酸序列(SEQ ID NO: 2)见表 1。标示出了预期的

信号序列，但是所述信号序列可能取决于细胞类型，或者可能为任一方向的数个残基。潜在的 N 糖基化位点为天冬酰胺残基 6、24、58、118、157、209 和 250。二硫键可能存在于位置 29 和 78 的半胱氨酸之间；保守的 C_CXW 基元存在于位置 110/121/123。位置 219 的色氨酸以及 281-285 的 WxxWS 基元是值得注意的。约 1-101 区段为 Ig 结构域；约 102-195 为细胞因子结合结构域 1；约 196-297 为细胞因子结合结构域 2；约 298-330 为接头；约 329-354 为跨膜区段；约 356-606 为细胞内结构域。细胞内特征包括 Y374-I377、Y461-Q464 和 Y588-Q591 的推定 SH2 结合位点；潜在重要的 406、427、440 和 453 酪氨酸残基。这些位点和边界是值得注意的。

ORF 包含推定的信号序列，如上所述，预期信号序列于...CHG/GIT...切割。预期的 328 个氨基酸的细胞外结构域之后为推定的跨膜区段，最后为约 252 个氨基酸的胞质结构域。

表 2 提供反向翻译的核酸序列。

表 1: DNAX 细胞因子受体亚单位样实施方案(DCRS5)的核苷酸及多肽序列。灵长类, 例如人类实施方案(见 SEQ ID NO: 1 和 2)。标示出了预期的信号序列, 但是可能在几个位置有变化而且取决于细胞类型。鉴定的变异位置变异为核苷酸 127 和 563; 为配对的 G 和 C(翻译为 Q 和 G 组合)或者 T 和 A(翻译为 H 和 R)。

gtggtacggg aattccattg tgttgggcag ccaacaaggg tggcagcctg gctctgaagt	60
ggaattatgt gcttcaaaca gggtgaaaga gggaaacagt cttttcctgc ttccagac	118
atg aat cak gtc act att caa tgg gat gca gta ata gcc ctt tac ata	166
Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile	
-20 -15 -10	
ctc ttc agc tgg tgt cat gga gga att aca aat ata aac tgc tct ggc	214
Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly	
-5 -1 1 5	
cac atc tgg gta gaa cca gcc aca att ttt aag atg ggt atg aat atc	262
His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile	
10 15 20 25	
tct ata tat tgc caa gca gca att aag aac tgc caa cca agg aaa ctt	310
Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu	
30 35 40	
cat ttt tat aaa aat ggc atc aaa gaa aga ttt caa atc aca agg att	358
His Phe Tyr Lys Asn Gly Ile Lys Glu Arg Phe Gln Ile Thr Arg Ile	
45 50 55	
aat aaa aca aca gct cgg ctt tgg tat aaa aac ttt ctg gaa cca cat	406
Asn Lys Thr Thr Ala Arg Leu Trp Tyr Lys Asn Phe Leu Glu Pro His	
60 65 70	
gct tct atg tac tgc act gct gaa tgt ccc aaa cat ttt caa gag aca	454
Ala Ser Met Tyr Cys Thr Ala Glu Cys Pro Lys His Phe Gln Glu Thr	
75 80 85	
ctg ata tgt gga aaa gac att tct tct gga tat ccg cca gat att cct	502
Leu Ile Cys Gly Lys Asp Ile Ser Ser Gly Tyr Pro Pro Asp Ile Pro	
90 95 100 105	
gat gaa gta acc tgt gtc att tat gaa tat tca ggc aac atg act tgc	550
Asp Glu Val Thr Cys Val Ile Tyr Glu Tyr Ser Gly Asn Met Thr Cys	
110 115 120	
acc tgg aat gct rgg aag ctc acc tac ata gac aca aaa tac gtg gta	598
Thr Trp Asn Ala Xaa Lys Leu Thr Tyr Ile Asp Thr Lys Tyr Val Val	
125 130 135	
cat gtg aag agt tta gag aca gaa gaa gag caa cag tat ctc acc tca	646
His Val Lys Ser Leu Glu Thr Glu Glu Glu Gln Gln Tyr Leu Thr Ser	
140 145 150	

agc tat att aac atc tcc act gat tca tta caa ggt ggc aag aag tac	694
Ser Tyr Ile Asn Ile Ser Thr Asp Ser Leu Gln Gly Gly Lys Lys Tyr	
155 160 165	
ttg gtt tgg gtc caa gca gca aac gca cta ggc atg gaa gag tca aaa	742
Leu Val Trp Val Gln Ala Ala Asn Ala Leu Gly Met Glu Glu Ser Lys	
170 175 180 185	
caa ctg caa att cac ctg gat gat ata gtg ata cct tct gca gcc gtc	790
Gln Leu Gln Ile His Leu Asp Asp Ile Val Ile Pro Ser Ala Ala Val	
190 195 200	
att tcc agg gct gag act ata aat gct aca gtg ccc aag acc ata att	838
Ile Ser Arg Ala Glu Thr Ile Asn Ala Thr Val Pro Lys Thr Ile Ile	
205 210 215	
tat tgg gat agt caa aca aca att gaa aag gtt tcc tgt gaa atg aga	886
Tyr Trp Asp Ser Gln Thr Thr Ile Glu Lys Val Ser Cys Glu Met Arg	
220 225 230	
tac aag gct aca aca aac caa act tgg aat gtt aaa gaa ttt gac acc	934
Tyr Lys Ala Thr Thr Asn Gln Thr Trp Asn Val Lys Glu Phe Asp Thr	
235 240 245	
aat ttt aca tat gtg caa cag tca gaa ttc tac ttg gag cca aac att	982
Asn Phe Thr Tyr Val Gln Gln Ser Glu Phe Tyr Leu Glu Pro Asn Ile	
250 255 260 265	
aag tac gta ttt caa gtg aga tgt caa gaa aca ggc aaa agg tac tgg	1030
Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp	
270 275 280	
cag cct tgg agt tca ccg ttt ttt cat aaa aca cct gaa aca gtt ccc	1078
Gln Pro Trp Ser Ser Pro Phe Phe His Lys Thr Pro Glu Thr Val Pro	
285 290 295	
cag gtc aca tca aaa gca ttc caa cat gac aca tgg aat tct ggg cta	1126
Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu	
300 305 310	
aca gtt gct tcc atc tct aca ggg cac ctt act tct gac aac aga gga	1174
Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly	
315 320 325	
gac att gga ctt tta ttg gga atg atc gtc ttt gct gtt atg ttg tca	1222
Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser	
330 335 340 345	
att ctt tct ttg att ggg ata ttt aac aga tca ttc cga act ggg att	1270
Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile	
350 355 360	
aaa aga agg atc tta ttg tta ata cca aag tgg ctt tat gaa gat att	1318
Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile	
365 370 375	

cct aat atg aaa aac agc aat gtt gtg aaa atg cta cag gaa aat agt	1366
Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser	
380 385 390	
gaa ctt atg aat aat aat tcc agt gag cag gtc cta tat gtt gat ccc	1414
Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro	
395 400 405	
atg att aca gag ata aaa gaa atc ttc atc cca gaa cac aag cct aca	1462
Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr	
410 415 420 425	
gac tac aag aag gag aat aca gga ccc ctg gag aca aga gac tac ccg	1510
Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro	
430 435 440	
caa aac tcg cta ttc gac aat act aca gtt gta tat att cct gat ctc	1558
Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu	
445 450 455	
aac act gga tat aaa occ caa att tca aat ttt ctg cct gag gga agc	1606
Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser	
460 465 470	
cat ctc agc aat aat aat gaa att act tcc tta aca ctt aaa cca cca	1654
His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro	
475 480 485	
gtt gat tcc tta gac tca gga aat aat ccc agg tta caa aag cat cct	1702
Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro	
490 495 500 505	
aat ttt gct ttt tct gtt tca agt gtg aat tca cta agc aac aca ata	1750
Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile	
510 515 520	
ttt ctt gga gaa tta agc ctc ata tta aat caa gga gaa tgc agt tct	1798
Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser	
525 530 535	
cct gac ata caa aac tca gta gag gag gaa acc acc atg ctt ttg gaa	1846
Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu	
540 545 550	
aat gat tca ccc agt gaa act att cca gaa cag acc ctg ctt cct gat	1894
Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp	
555 560 565	
gaa ttt gtc tcc tgt ttg ggg atc gtg aat gag gag ttg cca tct att	1942
Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile	
570 575 580 585	
aat act tat ttt cca caa aat att ttg gaa agc cac ttc aat agg att	1990
Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile	
590 595 600	

tca ctc ttg gaa aag tagagctgtg tgggtcaaat caatatgaga aagctgcctt 2045
 Ser Leu Leu Glu Lys
 605

gcaatctgaa cttgggtttt ccttgcaata gaaattgaat tctgcctctt tttgaaaaaa 2105
 atgtattcac atacaaatct tcacatggac acatgttttc atttcccttg gataaatacc 2165
 taggtagggg attgctgggc catatgataa gcatatgttt cagttotacc aatcttgttt 2225
 ccagagtagt gacattttctg tgctcctacc atcaccatgt aagaattccc gggagctcca 2285
 tgccttttta atttttagcca ttcttctgcc tmatttctta aaattagaga attaaggtcc 2345
 cgaaggtgga acatgcttca tgggtcacaca tacaggcaca aaaacagcat tatgtggacg 2405
 cctcatgtat tttttataga gtcaactatt tcctctttat tttccctcat tgaaagatgc 2465
 aaaacagctc tctatttgtgt acagaaaggg taataaatgc aaaatacctg gtagtaaaat 2525
 aaatgctgaa aattttcctt taaaatagaa tcattaggcc aggcgtgggtg gctcatgctt 2585
 gtaatcccag cactttggta ggctgaggtr ggtggatcac ctgaggtcag gagttcgagt 2645
 ccagcctggc caatatgctg aaaccctgtc tctactaaaa ttacaaaaat tagccggcca 2705
 tgggtggcagg tgcttgtaat ccagctact tgggaggctg aggcaggaga atcacttgaa 2765
 ccaggaaggc agaggttgca ctgagctgag attgtgccac tgcactccag cctgggcaac 2825
 aagagcaaaa ctctgtctgg aaaaaaaaaa aaaa 2859

~~MN (Q/H) VTIQWDAVIALYLPSWCHGGITNINCSGHIWVEPATIFKMGMNISYCOAAIKNCQPRKLF
 YKNGIKERFQITRINKTARLWYKFLPHASMYCTAECPKHFQETLICGKDISSGYPPDIPDEVTCVIY
 EYSGNMTCTWNA (G/R) KLTYYIDTKYVVHVKSLETEEEQQYLTSSYINISTDSLQGGKKYLVWVQAANAL
 GMEESKQLQIHLDDIVIPSAAVISRAFTINATVPKTIYWDSTTIEKVSCEMRYKATTNQTWNVKEFDT
 NFTYVQQSEFYLEPNIKYVQVRCQETGKRYWQPWSSPFFHKTPETVPQVTSKAFQHDWTNWSGLTVASIS
 TGHLTSDNRGDIQLLLGMIVFAVMLSILSLIGIENRSFRTGIKRRILLIPKWL~~YED~~IPNMKNSNVVKML
 QENSELMNNSSSEQVLXVDPMITEIKEIFIPSEHKPTDYKENTGPLETRDYPQNSLFDNTTVVYIPDLNT
 GYKPOISNFLPEGSHLSNNNEITSLTLKPPVDSLDSGNNPRLQKHPNFAPSVSSVNSLSNTIFLGELSLI
 LNQGECS~~SPDIQNSVEEFT~~IMLLENDSPSETIPEQTLLPDEFVSCLGIVNEELPSINTYFPQNILESHFN
 RISLLEK~~

表 2: 反向翻译的灵长类(例如人类)DCRS5(SEQ ID NO: 3):

ATGAAYCAYGTNACNATHECARTGGGAYGCNGTNATHGCNNTNTAYATHYNTTYSNTGGTGYCAYGGNGGNAT
 HACNAAYATHAAYTGYWSNGGNCAYATHTGGGTNGARCCNGCNACNATHTTTAAARATGGGNATGAAYATHWSNA
 THTAYTGYCARGCNGCNATHAARAAYTGVCARCCNMGNAARYTNCAYTTTAYAAARAAYGGNATHAARGARMGN
 TTYCARATHACNMGNATHAAYAARACNACNGCNMGNTNTGGTAYAAARAAYTTTYTNGARCCNCAYGCNWSNAT
 GTAYTGYACNGCNGARTGYCCNAARCAITTYCARGARACNYTNATHGTGYGGNAARGAYATHWSNWSNGGNTAYC
 CNCCNGAYATHCCNGAYGARGTNACNTGYGTNATHAYGARTAYWSNGGNAAYATGACNTGYACNTGGAAAYGCN
 MGNAARYTNACNTAYATHGAYACNAARTAYGTNGTNCAYGTNAARWSNYTNGARACNGARGARGARCARCARTA
 YTTNACNWSNWSNTAYATHAAYATHWSNACNGAYWSNYTNCARGGGNGNAARAARTAYYTNGTNTGGGTNCARG
 CNGCNAAAYGCNTYNGGNATGGARGARWSNAARCARYTNCARATHCAYTNGAYGAYATHGTNATHCCNWSNGCN
 GCNGTNATHWSNMGHGCNGARACNATHAAYGCNACNGTNCNAARACNATHATHAYTGGGAYWSNCARACNAC
 NATHGARAARGTNWSNTGYGARATGMGNTAYAARGCNACNACNAAYCARACNTGGAAAYGTNAARGARTTYGAYA
 CNAAYTTYACNTAYGTNCARCARWSNGARTTYTAYTNGARCCNAAAYATHAARTAYGTNTTYCARGTNMGNTGY
 CARGARACNGGNAARMGNTAYTGGCARCCNTGGWSNWSNCCNTTYTTYCAYAAARACNCCNGARACNGTNCNCA
 RGTNACNWSNAARGCNTTYCARCAYGAYACNTGGAAAYWSNGGNTNACNGTNGCNWSNATHWSNACNGGNCAYY
 TNACNWSNGAYAAAYMGNGGNGAYATHGGNTYNTYNTYNGGNATGATHGTNTTYGCNGTNATGYTNWSNATHYTN
 WSNYTNATHGGNATHTTTAAAYMGNWSNTTYMGNACNGGNATHAARMGNMGNATHYNTYNTYTNATHCCNAARTG
 GYTNTAYGARGAYATHCCNAAAYATGAARAAYWSNAAAYGTNGTNAARATGYTNCARGARAAYWSNGARYTNATGA
 AYAAYAYWSNWSNGARCARGTNTAYGTNGAYCCNATGATHACNGARATHAARGARATHTTATHCCNGAR
 CAYAARCCNACNGAYTAYAARAARGARAAYACNGGNCNTYNGARACNMGNGAYTAYCCNCARAAYWSNYTNTT
 YGAYAAAYACNACNGTNGTNTAYATHCCNGAYYTNAAYACNGGNTAYAARCCNCARATHWSNAAYTTYTNCNG
 ARGGNWSNCAYYTINWSNAAYAAAYGARATHACNWSNYTNACNYTNAARCCNCCNGTNGAYWSNYTNGAYWSN
 GGNAAYAAAYCCNMGNTYTCARAARCAITTYGCNTTYWSNGTNSNWSNGTNAAYWSNYTNWSNAAYAC
 NATHTTTYTNGGNGARYTNWSNYTNATHYTNAAAYCARGGNGARTGYWSNWSNCCNGAYATHCARAAYSNGTNG
 ARGARGARACNACNATGYTNTYNGARAAYGAYWSNCCNWSNGARACNATHCCNGARCARACNYTNTYTNCCNGAY
 GARTTYGTNWSNTGYTNGGNATHGTNAAYGARGARYTNCCNWSNATHAAYACNTAYTTYCCNCARAAYATHYT
 NGARNSNCAYTTTAAAYMGNATHWSNYTNTYNGARAAR

表 3: 各种细胞因子受体亚单位对比。人 IL-6 受体蛋白 gp130 为 SEQ ID NO: 4(GenBank M57230); 人 IL-12 受体 β 2 亚单位为 SEQ ID NO: 5(GenBank U64198)。

huIL-12R 2	1	MAHTFRGCSLAFMFIIITWLLIKAKIDACKRGDVTVKPSHVILLGSTVN	48
hugp130	1	MLTLQTTWVVQALFIFLTTESTGELLDPG---YISPESPVVQLHSNFT	45
huDCRS5	1	MNHVTIQWDAVIALYILFSWCHGGITNINCS-GHIWVEPATIFKMGMNIS	49
		* . *	
huIL-12R 2	49	ITCSLKPRQGCFHYSRNKLILYKFDRRINFHHGHSLSNSQVTGLPLG---	95
hugp130	46	AVCVLKEKCMDYFHVNANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVTFTDIA	95
huDCRS5	50	IYCQAAIKN--CQP---RKLHFYKNGIKER-FQITRINKTTARLWYKNFL	93
		* . *	
huIL-12R 2	96	--TTLFVCKLACINS-DEIQICGAEIFVGVAPQEQPQNLSCIQKGEQGTVA	142
hugp130	96	SLNIQLTCNILTFGQL-EQNVYGITIISGLPPEKPKNLSCIVN-EGKKMR	143
huDCRS5	94	EPHASMYCTAECPKHFQETLICGRDISSGYPPDIPDEVTCVIYHYSGNMT	143
		* . * . * . * . * . *	
huIL-12R 2	143	CTWGERGRDTHLYTEYTLQLSGPKNLTWQKQCKDIYCDYLDGFINLTPESP	192
hugp130	144	CEWDGGRETHLETNFTLKS--EWATHKPADCKAKRDTPTSTCTVDYS-TVY	190
huDCRS5	144	CTWNARKLTYIDTKYVVHVKSLETEEQQYLTSSYINISTDSLQGG----	189
		* * . * . * . *	
huIL-12R 2	193	ESNFTAKVTAVNSLGSSSSSLPSTFTFLDIVRPLPPWDIRIKFQKASVSRC	242
hugp130	191	FVNIEVWVEAENALGKVTSDHINFDPVYKVKPNPPHNLSVINSEELSSIL	240

```

huDCRS5      190 -KKYLWVVOAANALGMEESKQLQIHLDDIVIPSAAVISRAETINATVPKT 238
               * * *.** * * *
huIL-12R 2 243 TLYWRD---BGLVLNRLRYRPSNSRLWNMVN---VTKAKGRHDLDDLK 285
hugp130      241 KLTWNPSTIKSVIILKYNIQYRTKDASTWSQIPPEDTASTRSSFTVQDLK 290
huDCRS5      239 IIYWDS--QTTIEKVSCEMRYKATTNQTWNVKEFD-TNPTYVQQSEFYLE 285
               . * . . . * . *
huIL-12R 2 286 PFTEYEFQISSKLHLYKGSWSDNSESLRAQTPREEPTGMLDVWYMKRHID 335
hugp130      291 PFTEYVFRIRCMKEDGKGYSDWSEHSGITYEDRPSKAPSFYWKIDPSH 340
huDCRS5      286 PNIKYVFQVRCQ-ETGKRYWQPWSSPFFHKTPTETVP----- 320
               * * *. . . * * * * * * *
huIL-12R 2 336 YS-RQQISLFWKNLSVSEARGKILHYQVTLQELTGGKAMTQNITGHTSWT 384
hugp130      341 TQGYRTVQLVWKTLPFFRANGKILDYEV---LTRWKSHLQNYTVNATKL 387
huDCRS5      321 -----QVTSKAFQHDWTNWSGLTVASISTG-----HLTSDN--RGDIGLL 357
               . . . . .
huIL-12R 2 385 TVIPRTGNWAVAVSAANSKGSLLPTRINIMNLCEAGLLAPRQVSANSEGM 434
hugp130      388 TVNLTNDRYLATLTVRNLVGKSDAAVLTIP-ACDFQATHPVMDLKAFPKD 436
huDCRS5      358 LGMIVFAVMLSILSLIGIFNRSFRTGIKRR----- 387
               . . . . * . .
huIL-12R 2 435 DNILVTWQPFRKDPSSAVQYVVEWRELHPG-GDTQVPLNWLRSRPYNVSA 483
hugp130      437 NMLWVWTTTPRE---SVKKYILEWCVL---DKAPCITDWQOEDGTVHRT 480
huDCRS5      388 -----ILLIPKNLYEDIPNMKNSNVVKMLQEN---SE 417
               . . . * .
huIL-12R 2 484 LIENIKSYICYEIRVYALSGDQ-GGCSSILGNSKHKAPLSGPHINAITE 532
hugp130      481 YLRGNLABSKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSKGPVTRTKKV 530
huDCRS5      418 LMNNNSSE-----QVLYVDP-----MITIKEIFIPEHKPTDYKKE- 453
               . * . . * * * *
huIL-12R 2 533 EKGSILISWNSIPVQEQMGCLLHYRIYWKERDSNSQPQLCEIPYRVSONS 582
hugp130      531 GKNEAVLEWDQLFVDVQNGFIRNYTIFYRTIIGN---ETAVNVDSSTHE 576
huDCRS5      454 --NTGPLETRDYP---QNSLEFDNTTVVYIPDLNTG-----YKPQISN-- 490
               . . . * * . . . *
huIL-12R 2 583 HPINSLQPRVTVVLWMTALTAAGESSHGNEREFCLOGKAN-WMAFVAPSI 631
hugp130      577 YTLSSLTSDTLVMVRMAAYTDEG-GKDGPFTFTTPKFAQGEIRAIVVPV 625
huDCRS5      491 -----FLPEG----- 495
               *
huIL-12R 2 632 CIAIMVGIFSTHYFQQKVFVLLAALRP-----QWCSREIPDPA 670
hugp130      626 CLAFLLTLLGLVLCFNRDLIKKHINVPNVPDPSKSHIAQWSPHTPPRH 675
huDCRS5      496 -----SHLSNNN-EITSLTLKP-----PVDSLDSG 519
               . . . . *
huIL-12R 2 671 NSTCAKKYPIAREKTQLPLDRLLID-WPTPEDPEPLVIS--EVLHQVTPV 717
hugp130      676 FNSKQOMYSQGNFTDVSVEIEANDKKPFPEDLKSLLDFKKEKINTEGHS 725
huDCRS5      520 NNPRLOKHPN-FAFSVSSVNSLSNT-----I---FLGELSLI 552
               . . . .
huIL-12R 2 718 FRHPPCSNWPQREKGIQGHQASEKDMMSASSPPPPRALQAESRQLVDLY 767
hugp130      726 SGIGGSSCMSSSRPSISSSDENESSQNTSSTVQYSTVHSGYRHHQVPSVQ 775
huDCRS5      553 LNQGEC---S--FDIONSVEKETMLENDS----- 580
               . * . * .

```

```

huIL-12R 2 768 KVLESRGSDPKPENPACPWTVLPAGDLPTHGGLPSN---IDDLPSHEAP 814
hugp130    776 VFSRSESTQPLLDSEERPEDLQLVDHVDGGDGILPRQQYFKQNCSEQHSS 825
huDCRS5    581 --SETIPEQTLLPDEFVSVCLGIVNEELPSINTYFPQN---ILESHPNR-- 623
          .               .               *               .

huIL-12R 2 815 LADSLLELEPQHISLS-----VFPSSSLHPLTFSCG----- 845
hugp130    826 PDISHFERSKQVSSVNEEDFVRLKQQISDHISQSCGSGQMCMFQEVSAAD 875
huDCRS5    624 --ISLLEK                                     629
          *               *

huIL-12R 2 846 -----DKLTLDQLKMRCDLML                               862
hugp130    876 AFGPGTEGQVERFETVGM EAATDEGMPKSYLPQTVRQGGYMPQ 918
huDCRS5    630                                     629

```

“IL-30R”细胞外结构域最相关的是 IL-6 信号转导物 gp130 和 IL-12Rβ2。略微相关的是 GCSF 受体、苗条蛋白受体、白血病抑制因子受体和 CNTF 受体。因此，“IL-30R”是 I 类细胞因子受体超家族成员，与 IL-6R/IL-12R 家族密切相关。

表 3 比较了现有的灵长类受体亚单位序列和灵长类例如人类 DCRS5(IL-30R)。DCRS5 与 IL-6 受体亚单位 gp130(例如 IL-6R 亚单位)和 IL12-Rβ2 亚单位相似。DCRS5 具有β亚单位特征，但是蛋白互作及信号转导的真正序列仍然不清楚。

本文使用的术语 DCRS5 用以描述包含表 1 所示氨基酸序列的蛋白。大多数情况下，其主要片段在功能或结构上相同，包括例如额外细胞外结构域区段。本发明还包括相应 DCRS5 等位基因的序列已知的蛋白变异体，例如突变蛋白或其它结构物。通常，所述变异体与目标区段的序列差异约 10%以下，通常具有 1-11 倍取代，例如 2、3、5、7 倍取代等。还包括所述蛋白的等位基因变异体和其它变异体，例如天然多态性。一般它结合其相应生物配体，其可能为具有α受体亚单位的二聚体状态，其结合亲和力高，例如至少约 100 nM，通常约 30 nM 以上，优选约 10 nM 以上，更优选约 3 nM 以上。所述术语在本文还用来指相关天然形式，例如等位基因、多态性变异体，以及哺乳动物蛋白代谢变异体。所述受体复合物的优选形式以适合配体-受体相互作用的亲和和选择性结合适当的配体。

本发明还包括与表 1 氨基酸序列具有显著氨基酸序列同一性的

各种蛋白或肽的组合。包括具有较少取代(例如最好约 3-5 个以下取代)的序列变异体。

5 主要多肽“片段”或“区段”为一个氨基酸残基节段，其具有约 8 个氨基酸，一般至少 10 个氨基酸，更通常至少 12 个氨基酸，通常至少 14 个氨基酸，更常见至少 16 个氨基酸，通常至少 18 个氨基酸，更通常至少 20 个氨基酸，通常至少 22 个氨基酸，更常见至少 24 个氨基酸，优选至少 26 个氨基酸，更优选至少 28 个氨基酸，特别优选的实施方案中，至少约 30 个或 30 个以上的氨基酸。不同蛋白区段序列在合适长度节段上可彼此比较。多数情况下，各种片
10 段可能具有完整亚单位的功能特性，例如跨膜受体的细胞外结构域可保持所述配体的结合特性，可用以制备可溶性受体样复合物。

通过优化残基匹配测定氨基酸序列同源性或序列同一性。在某些比较中，可以根据需要引入空隙。参见例如 Needleham 等, (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443-453; Sankoff 等, (1983) *Time Warps, String Edits, and*
15 *Macromolecules: The Theory and Practice of Sequence Comparison*, 第一章, Addison-Wesley, Reading, MA; IntelliGenetics 的软件包, Mountain View, CA; the University of Wisconsin Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI; 各文献通过引用结合到本文中。当把保守取代当成匹配时，序列同源性改变。保守取代通常包括以下类别
20 中的取代：甘氨酸，丙氨酸；缬氨酸，异亮氨酸，亮氨酸；天冬氨酸，谷氨酸；天冬酰胺，谷氨酰胺；丝氨酸，苏氨酸；赖氨酸，精氨酸；苯丙氨酸，酪氨酸。同源氨基酸序列包括细胞因子序列的天然等位基因变异体和种间变异体。通常同源蛋白或肽与表 1 氨基酸区段的同源性为 50-100%(如果可以引入空隙的话)、60-100%(如果包括保守取代)。同源性检测至少约 70%，一般至少 76%，更通常至少
25 81%，常常至少 85%，更常见至少 88%，一般至少 90%，更一般至少 92%，通常至少 94%，更通常至少 95%，优选至少 96%，更优选至少 97%，在特别优选的实施方案中，至少 98%或 98%以上。同源

性程度因所比较区段的长度不同而不同。同源蛋白或肽，例如等位基因变异体，具有表 1 所述实施方案的最大生物活性，特别是细胞内部分。

5 本文使用的术语“生物活性”用以描述(但不限于)细胞因子样配体对信号转导、炎症反应、天然免疫和/或形态发育的影响。例如上述受体应该介导磷酸酶或磷酸化酶活性，所述酶活性容易用标准方法测定。参见例如 Hardie 等(主编，1995) *The Protein Kinase FactBook*, 第 I 和 II 卷, Academic Press, San Diego, CA; Hanks 等(1991) *Meth. Enzymol.* 200:38-62; Hunter 等(1992) *Cell* 70:375-388; Lewin (1990) 10 *Cell* 61:743-752; Pines 等(1991) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 56:449-463; Parker 等(1993) *Nature* 363:736-738。所述受体或其部分可用作磷酸标记酶，标记普通或特异性底物。所述亚单位也可以为激发识别抗体的功能免疫原，或者为能够结合抗体的抗原。

15 术语例如 DCRS5 的配体、激动剂、拮抗剂和类似物呈现配体-受体相互作用的特性，例如其中所述受体为天然受体或抗体。细胞反应可能通常通过受体酪氨酸激酶途径介导。

此外，配体为所述受体或其类似物结合的天然配体分子，或者为天然配体的功能类似物分子。功能类似物可以为结构修饰的配体，或者可为完全不相关分子，所述分子具有作用于合适配体结合决定簇的分子形状。配体可用作激动剂或拮抗剂，参见例如 Goodman 等(主 20 编，1990) *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics*, Pergamon Press, New York。

也可以根据受体或抗体以及其它效应物或配体的分子形状的结构研究进行合理药物设计。参见例如 Herz 等(1997) *J. Recept. Signal Transduct. Res.* 17:671-776; Chaiken 等(1996) *Trends Biotechnol.* 25 14:369-375。效应物可以为在配体结合作用时介导其它功能的其它蛋白，或者为通常与所述受体相互作用的其它蛋白。一种测定什么位点与特异性其它蛋白相互作用的方法是物理结构测定法，例如 X-射

线晶体照相术或二维 NMR 技术。它们可指示什么氨基酸残基构成分子接触区。关于蛋白结构测定的详述介绍参见例如 Blundell 和 Johnson (1976) *Protein Crystallography*, Academic Press, New York, 其通过引用结合到本文中。

5

II. 活性

细胞因子受体样蛋白具有许多不同生物活性, 例如细胞内信号转导(例如通过 STAT4 的细胞内信号转导)、调节细胞增殖或者磷酸代谢(在通常为蛋白质的特异性底物上添加磷酸根或从其去除磷酸根)。所述作用的结果通常是调节炎症功能、其它天然免疫反应或形态效应。所述亚单位可能对所述配体具有特异性低亲和结合。

10

DCRS5 具有通过 JAK 途径转导信号的受体的特征基元。参见例如 Ihle 等(1997) *Stem Cells* 15(增刊 1):105-111; Silvennoinen 等(1997) *APMIS* 105:497-509; Levy (1997) *Cytokine Growth Factor Review* 8:81-90; Winston 和 Hunter (1996) *Current Biol.* 6:668-671; Barrett (1996) *Baillieres Clin. Gastroenterol.* 10:1-15; Briscoe 等(1996) *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 351:167-171。特别引人注目的是上述 SH2 结合基元。

15

细胞因子受体亚单位的生物活性与在底物上添加或去除磷酸根有关, 通常为特异性方式, 但是偶尔为非特异性方式。可以用例如以下文献所述的标准方法鉴定底物, 或者分析酶活性条件: Hardie 等(主编, 1995) *The Protein Kinase FactBook*, 第 I 和 II 卷, Academic Press, San Diego, CA; Hanks 等(1991) *Meth. Enzymol.* 200:38-62; Hunter 等(1992) *Cell* 70:375-388; Lewin (1990) *Cell* 61:743-752; Pines 等(1991) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 56:449-463; Parker 等(1993) *Nature* 363:736-738。

20

25

受体亚单位可以缔合形成功能复合物, 例如其可用于结合配体或制备抗体。它们具有显著诊断用途, 包括检测或定量测定。所述受体与 p40/IL-B30 配体的功能性连接对于了解所述受体可应用的适

应症具有重要作用。因此，拮抗剂和激动剂将具有预测作用。

III. 核酸

本发明设想应用例如编码上述蛋白或密切相关蛋白或其片段的
5 分离核酸或片段用于例如编码相应多肽，优选所述多肽具有生物活
性。此外，本发明包括分离或重组的 DNA，所述 DNA 编码具有特
征序列的所述蛋白或多肽的组合，所述特征序列是单独 DCRS5 的特
征序列、或者是 DCRS5 特征序列与其它例如 IL-12R β 1 亚单位特征
序列的组合(参见 Showe 等(1996) Ann. N.Y. Acad. Sci. 795:413-425;
10 Gately 等(1998) Ann. Rev. Immunol. 16:495-521; GenBank U03187,
NM_005535)。通常，所述核酸在合适条件下与表 1 所示的核酸序列
区段杂交，但是优选不与表 3 所示其它受体的相应区段杂交。所述
生物活性蛋白多肽可以是全长蛋白或片段，而且具有与表 1 所示序
列具有高度同源性的氨基酸序列区段，例如相同的重要区段。此外，
15 本发明还包括分离核酸或重组核酸或其片段的应用，所述核酸或其
片段编码具有 DCRS5 蛋白等同片段(例如细胞内部分)的蛋白。所述
分离核酸可在 5'和 3'侧具有相应的调节序列，例如启动子、增强子、
poly-A 添加信号和来自天然基因的其它调节序列。还提供如上所述
的组合物(如 DCRS5 与 IL-12R β 1)或它们的细胞外配体结合部分(配体
20 拮抗剂)。此外，显然多态性或其它变异体的诊断应用也是重要的。

“分离的”核酸是指大致纯的例如 RNA、DNA 或混合型聚合物的
核酸，例如它与天然伴随的天然序列的其它组分(例如核糖体、聚
合酶和原物种的侧翼基因组序列)分离开。该术语包括从其天然环境
取出的核酸序列，而且包括重组或克隆 DNA 分离物(因此与天然存
25 在组分不同)，以及包括化学合成的类似物或异源系统生物合成的类
似物。大致纯分子包括完全纯或大致纯的分离型分子。

分离核酸通常为均质组分分子，但是在某些实施方案中，包含
不同组分、优选微小差异的不同组分。这种差异通常见于聚合物末

端或对需要生物功能或活性不重要的部分。

“重组”核酸通常用其制备方法或其结构定义。涉及其制备方法时，例如一种方法制备的产品，所述方法应用重组核酸技术，例如涉及人为干预核苷酸序列。通常这种干预涉及体外操作，然而在某些条件下可能涉及更经典的动物繁殖技术。另一方面，它可以是如下制备的核酸：产生包含非天然彼此邻接的两种片段的融合物的序列，但是它不包括天然产物，例如天然状态存在的天然突变体。因此，包括通过用非天然载体转化细胞制备的产物，同样包括用任何合成寡核苷酸的方法获得的序列的核酸。这种方法通常用于例如用编码相同氨基酸或保守氨基酸的丰余密码子取代另一种密码子，而通常引入或去除限制酶序列识别位点，或者用于某种结构功能分析。或者，所述方法用于将所需功能的核酸区段连接在一起，产生通常天然形式不存在的具有所需功能组合的单一遗传实体，例如编码融合蛋白。限制酶识别位点通常为所述人工操作的目标，但是可以设计引入其它位点特异性靶，例如启动子、DNA 复制位点、调节序列、控制序列或其它有用的特征。相同的原理用于重组多肽，例如融合多肽。这包括 DCRS5 和 IL-12R β 1 亚单位的二聚体重复物或融合物。具体来说包括合成核酸，所述合成核酸因为遗传密码丰余性而编码 DCRS5 片段的等同多肽以及各种不同相关分子(例如其它细胞因子受体家族成员)的序列融合物。

核酸的“片段”为核苷酸连续节段，它包含至少约 17 个核苷酸，一般至少约 21 个核苷酸，更一般至少 25 个核苷酸，通常至少 30 个核苷酸，更一般至少 35 个核苷酸，通常至少 39 个核苷酸，更通常至少 45 个核苷酸，通常至少 50 个核苷酸，更常见至少 55 个核苷酸，常常至少 60 个核苷酸，更通常至少 66 个核苷酸，优选至少 72 个核苷酸，更优选至少 79 个核苷酸，特别优选实施方案为至少 85 个核苷酸或更多核苷酸，包括 90、100、120、140、160、180、200 个核苷酸等。通常，不同遗传序列片段可在合适长度节段(特别定义的节

段, 例如下述结构域)上彼此比较。

编码 DCRS5 的核酸特别用于鉴定编码 DCRS5 本身或密切相关蛋白的各种基因、mRNA 和 cDNA, 以及用于鉴定编码例如不同个体或相关物种的多态性、等位基因或其它遗传变异体的 DNA。这种
5 筛选的优选探针为不同多态性变异体之间保守的受体区段, 或者所述区段包含非特异性核苷酸, 优选它为全长序列或几乎为全长序列。在其它情况下, 多态性变异体特异性序列更有用。也可以诊断组合的 DCRS5 多态性变异体和 IL-12R β 1 变异体。

本发明还包括具有与本文所述分离 DNA 相同或高度同源的核酸
10 序列的重组核酸分子和片段。具体来说, 所述序列通常与控制转录、翻译和 DNA 复制的 DNA 节段有效连接。这些额外区段通常有助于表达目的核酸区段。

同源或高度相同的核酸序列在相互比较时, 例如与 DCRS5 序列比较时, 表现出显著相似性。核酸同源性标准为本领域一般使用的
15 序列比较或根据杂交条件的同源性测量结果。下面更详细地描述比较杂交条件。

核酸序列比较的大致同一性是指在引入适当核苷酸插入或缺失的情况下优化排列对比时, 所比较的区段或其互补链相同核苷酸至少约 60%, 一般至少 66%, 普通至少 71%, 通常至少 76%, 更常见
20 至少 80%, 通常至少 84%, 更常见至少 88%, 常常至少 91%, 更常见至少 93%, 优选至少约 95%, 更优选至少约 96-98%或更高, 在具体实施方案中, 高达约 99%或更高的相同核苷酸, 包括例如编码结构域的区段或其它所述区段。或者, 当通常使用表 1 衍生序列在选择性杂交条件下所述区段与另一条链或其互补链杂交, 则所比较的
25 区段大致相同。通常, 当在至少约 14 个核苷酸的节段上至少约 55%同源, 更常见至少约 65%同源, 优选至少约 75%同源, 更优选至少约 90%同源时, 则发生选择性杂交。参见 Kanehisa (1984) Nucl. Acids Res. 12:203-213, 其通过引用结合到本文中。上述同源性比较的长度

可以为更长的节段，在某些实施方案中，比较节段长度为至少约 17 个核苷酸，一般至少约 20 个核苷酸，通常至少约 24 个核苷酸，常见约 28 个核苷酸，通常至少约 32 个核苷酸，更常见至少约 40 个核苷酸，优选至少约 50 个核苷酸，更优选至少约 75-100 个核苷酸或更多核苷酸。包括 125、150、175、200、225、250、275、300、325、350 个核苷酸等以及其它长度。

杂交同源性有关的严格条件是盐、温度、有机溶剂和杂交反应中通常控制的其它参数的严格综合条件。严格温度条件通常包括超过约 30℃ 温度，更常见超过约 37℃，通常超过约 45℃，更常见超过约 55℃，优选超过约 65℃，更优选超过约 70℃。严格盐条件一般低于约 500 mM，通常低于约 400 mM，更常见低于约 300 mM，常见低于约 200 mM，优选低于约 100 mM，更优选低于约 80 mM，甚至低于约 50 或 20 mM。然而，参数综合比任何单一参数量值重要得多。参见例如 Wetmur 和 Davidson (1968) *J. Mol. Biol.* 31:349-370，其通过引用结合到本文中。

分离 DNA 可容易地通过核苷酸取代、核苷酸缺失、核苷酸插入和核苷酸节段倒置进行修饰。修饰产生编码该蛋白或其衍生物的新的 DNA 序列。修饰序列可用于产生突变蛋白或增强变异体表达。表达增强可能涉及基因扩增、转录增强、翻译增强和其它机制。DCRS5 可如上所述产生这样的突变 DCRS5，但是无论是因为缺失、取代还是插入，其氨基酸序列不同于天然存在的其它细胞因子受体蛋白。具体来说，“位点特异性突变 DCRS5”包括与表 1 蛋白具有大致序列同一性的蛋白，而且通常具有本文公开形式的大多数生物活性或作用。还鉴定了各种天然多态性变异体序列。

尽管预定了位点特异性突变位点，但是突变不一定是位点特异性的。在表达偶联的基因中产生氨基酸插入或缺失可实现哺乳动物 DCRS5 突变。可产生取代、缺失、插入或许多组合以获得最终构建物。插入包括氨基或羧基末端融合。可对目标密码子进行随机诱变，

然后可对表达的哺乳动物 DCRS5 突变体筛选目的活性, 获得某一方面的结构活性关系。在已知序列 DNA 的预定位点产生取代突变的方法, 例如应用 M13 引物突变, 是本领域众所周知的。另见 Sambrook 等(1989)和 Ausubel 等(1987 和定期出版的增刊)。特别有用的构建物为与 IL-12R β 1 节段有关的 DCRS5 细胞外部分。

DNA 突变通常不使编码序列置于读框外, 优选不产生能够杂交产生二级 mRNA 结构如环或发夹结构的互补区。

Beaucage 和 Carruthers (1981) Tetra. Letts. 22:1859-1862 介绍的氨基磷酸酯法可产生合适合成 DNA 片段。通常通过合成互补链和在合适条件下使所述链退火在一起, 或者通过使用 DNA 聚合酶和合适引物序列加上互补链, 获得双链 DNA 片段。

聚合酶链式反应(PCR)技术常常用于诱变。或者, 诱变引物是常用的在预定位点产生规定突变的方法。参见例如 Innis 等(主编, 1990) PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego, CA; Dieffenbach 和 Dveksler (1995; 主编) PCR Primer: A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Press, CSH, NY。

本发明某些实施方案涉及包含所述受体序列的组合组分。在其它实施方案中, 所述序列的功能部分连接在一起编码融合蛋白。在其它形式中, 所述序列的变异体可以被取代。

IV. 蛋白质、肽

如上所述, 本发明还包括灵长类 DCRS5, 例如其序列公开于表 1, 而且见上文介绍。也设想了等位基因变异体和其它变异体, 包括例如综合所述序列的各部分和其它序列(包括例如 IL-12R β 1、表位标记和功能结构域)的融合蛋白。

本发明还提供重组蛋白, 例如使用上述灵长类或啮齿类蛋白的区段的异源融合蛋白。异源融合蛋白是天然情况下通常不以相同方式融合在一起的蛋白或区段融合物。因此, DCRS5 和其它细胞因子受体的融合产物通常为连续蛋白分子, 其序列以典型肽键融合在

一起，通常制成单一翻译产物而且表现各个来源肽的各种特性，例如序列或抗原性。相似原理可用于异源核酸序列。还提供各种设计蛋白组合成的复合物。

5 另外，通过组合其它相关蛋白(例如细胞因子受体或 Toll 样受体，包括种变异体)的相似功能结构域或结构域可制备新的构建物。例如，配体结合或其它区段可在不同新的融合多肽或片段之间“互换”。参见例如 Cunningham 等(1989) *Science* 243:1330-1336; O'Dowd 等(1988) *J. Biol. Chem.* 263:15985-15992，各文献通过引用结合到本文中。所以，具有新的综合特异性的新型嵌合多肽可得自受体结合特异性的功能结合。例如，可将其它相关受体分子的配体结合结构域加入这种蛋白或相关蛋白中或取代这种蛋白或相关蛋白的其它结构域。获得的蛋白通常具有杂合功能和特性。例如，融合蛋白可包含靶向结构域，靶向结构域的作用是使所述融合蛋白限定于特定亚细胞器。

15 可从各种序列数据库选择候选融合配偶体和序列，例如 GenBank, c/o IntelliGenetics, Mountain View, CA; BCG, University of Wisconsin Biotechnology Computing Group, Madison, WI，其均通过引用结合到本文中。具体来说，特别优选表 1 和 3 中提供的多肽序列的组合物。上述组合物可代替变异体型所述蛋白。

20 本发明特别提供结合细胞因子样配体和/或信号转导涉及的突变蛋白。DCRS5 与所述细胞因子受体家族的其它成员的结构排列对比显示出保守特征/残基。见表 3。人 DCRS5 序列与所述细胞因子受体家族其它成员的排列对比表明各种结构和功能共同特征。另见 Bazan 等(1996) *Nature* 379:591; Lodi 等(1994) *Science* 263:1762-1766; Sayle
25 和 Milner-White (1995) *TIBS* 20:374-376; Gronenberg 等(1991) *Protein Engineering* 4:263-269。

特别优选以小鼠或人序列的取代。相反，远离配体结合互作区的保守取代可能保存大多数信号转导活性；远离细胞内结构域的保

守取代可能保存大多数配体结合特性。

5 灵长类 DCRS5 的“衍生物”包括氨基酸序列突变体、糖基化变异体、代谢衍生物和与其它化学部分的共价或聚集缀合物。例如应用本领域众所周知的方法使官能团与 DCRS5 氨基酸侧链或 N 末端存在的基团键合可制备共价衍生物。这些衍生物包括但不限于羧基末端的脂族酯或酰胺、或者包含羧基侧链的残基的脂族酯或酰胺、含羟基残基的 O 酰基衍生物、氨基末端氨基酸或含氨基残基(例如赖氨酸或精氨酸)的 N 酰基衍生物。酰基选自烷基部分基团, 包括 C3-C18 常见烷基, 因此形成烷酰基芳酰基物质。

10 具体来说, 包括糖基化改变, 例如在其合成和加工过程中或在进一步的加工步骤中改进多肽的糖基化类型。特别优选的改变糖基化方法是使所述多肽暴露于得自通常进行所述加工的细胞的糖基化酶, 例如哺乳动物糖基化酶。也设想了去糖基化酶。还包括各种形式具有其它微小修饰的相同一级氨基酸序列, 包括磷酸化氨基酸残基, 例如磷酸酪氨酸、磷酸丝氨酸或磷酸苏氨酸。

15 主要的一组衍生物为所述受体或其片段与其它多肽蛋白的共价缀合物。这些衍生物可在诸如 N 末端融合的重组物培养中合成, 或者利用本领域已知的、其作用是通过活性侧基交联蛋白的物质合成。交联剂的优选衍化位点为游离氨基、糖部分和半胱氨酸。

20 还提供所述受体与其它同源或异源蛋白的融合多肽。同源多肽可以为不同受体的融合物, 获得例如对多个不同细胞因子配体具有结合特异性的杂合蛋白或底物作用特异性增强或减弱的受体。同样, 可构建具有所述衍生蛋白综合特性或活性的异源融合物。典型实例有报道多肽(例如荧光素酶)与一种受体的一个区段或结构域(例如配体结合区段)融合, 使得可以容易地测定目的配体的存在或位置。参见例如 Dull 等的美国专利号 4,859,609, 其通过引用结合到本文中。

25 其它基因融合配偶体包括谷胱甘肽-S-转移酶(GST)、细菌 β -半乳糖苷酶、trpE、A 蛋白、 β -内酰胺酶、 α -淀粉酶、乙醇脱氢酶和酵母 α 接

合因子。参见例如 Godowski 等(1988) Science 241:812-816。所述组合蛋白常常可代替标记蛋白。如上所述, DCRS5 与 IL-12R β 1 缔合特别有意义。

5 Beaucage 和 Carruthers (1981) Tetra. Letts. 22:1859-1862 介绍的氨基磷酸酯法可产生合适合成 DNA 片段。通常通过合成互补链并在合适条件下使所述链退火在一起, 或者通过使用 DNA 聚合酶和合适引物序列加上互补链, 获得双链片段。

10 所述多肽也可以含有通过磷酸化、磺化、生物素化或添加或去除其它部分而化学修饰的氨基酸残基, 尤其是含有与磷酸根基团类似的分子形状的氨基酸残基。在某些实施方案中, 所述修饰为有用的标记试剂或者用作纯化靶例如亲和配体。

15 融合蛋白通常用重组核酸法或合成多肽法制备。核酸操作表达的技术在例如以下文献中有全面介绍: Sambrook 等(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (第二版), 第 13 卷, Cold Spring Harbor Laboratory, 以及 Ausubel 等(主编, 1987 和定期出版的增刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, New York, 均通过引用结合到本文中。多肽合成技术在例如以下文献中有介绍: Merrifield (1963) J. Amer. Chem. Soc. 85:2149-2156; Merrifield (1986) Science 232:341-347; Atherton 等(1989) Solid Phase Peptide Synthesis: A
20 Practical Approach, IRL Press, Oxford; 均通过引用结合到本文中。关于制备更大的肽另见 Dawson 等(1994) Science 266: 776-779。

25 本发明还设想了氨基酸序列变化或糖基化以外的 DCRS5 衍生物的应用。这种衍生物包括与化学部分共价或聚合缔合。这样的衍生物一般分为三类: (1) 盐类, (2) 侧链和末端残基共价修饰, (3) 吸附复合物, 例如吸附于细胞膜。这种共价或聚合衍生物可用作免疫原、免疫测定试剂, 或者用于纯化方法, 例如受体或其它结合分子(例如抗体)的亲和纯化方法。例如, 为了检测或纯化细胞因子受体、抗体或其它类似分子, 细胞因子配体可应用本领域众所周知的方法通

过共价键合固定在固体支持物上，例如溴化氰活化 Sepharose，或者使用或不使用戊二醛交联结合吸附到聚烯烃表面上。为了用于诊断测定，也可用可检测基团标记所述配体，例如用氯胺 T 方法进行放射性碘化标记、与稀土螯合剂共价结合或与另一种荧光部分缀合。

5 本发明的组合物，例如包含 DCRS5 的组合物，可用作产生特异性针对所述组合物的抗血清或抗体，所述抗血清或抗体例如能够区分其它细胞因子受体家族成员。所述复合物用于筛选通过用各种含所述蛋白的不纯制品免疫制备的单克隆抗体或抗原结合片段。术语“抗体”还特别包括天然抗体的抗原结合片段，例如 Fab、Fab2、Fv
10 等。纯化 DCRS5 也可用作检测试剂，检测在 DCRS5 表达升高作用下产生的抗体，或检测导致产生抗内源性受体抗体的免疫疾病。另外，DCRS5 片段也可用作免疫原产生本发明抗体，见紧接着的下文介绍。例如本发明设想了对表 1 所示的氨基酸序列、其片段或各种同源肽具有结合亲和力的抗体或者针对它们产生的抗体。具体来说，
15 本发明设想了预期或实际对暴露在天然 DCRS5 蛋白外的特异性片段具有结合亲和力的抗体或者针对所述特异性片段产生的抗体。组合蛋白的复合物也是有用的，而且可制备其抗体制剂。

 在某些实施方案中，例如 DCRS5 细胞外配体结合区段与 IL-12R β 1 的可溶性构建物可以是所述配体的结合组合物，其可用作配体拮抗剂或者抗原以阻断配体介导的信号转导。所述构建物在诊断或
20 治疗上 useful，例如对配体的诊断性组织学标记，或者治疗性用作配体拮抗剂。

 对所述受体配体生理反应的阻断可能原因是对抑制所述配体与
 所述受体的结合，可能是通过竞争性抑制。因此，在本发明体外测定中通常使用各种抗体或所述抗体的抗原结合区段、可溶性受体构建物或与固相支持物结合的片段。这些检测也可诊断性确定配体结合区突变和修饰或者例如影响信号转导或酶功能的其它突变和修饰的作用。
25

本发明还设想了竞争性药物筛选测定的应用，例如其中抗所述受体复合物或片段的中和抗体与受试化合物竞争性结合配体或其它抗体。这样，中和抗体或片段可用于检测对受体具有一个或多个结合位点的多肽的存在，也可用于占据受体上可能另外结合配体的结合位点。DCRS5 细胞外结构域或配体结合结构域与 IL-12R β 1 组合的可溶性受体构建物可能是竞争性结合 p40/IL-B30 配体的有用拮抗剂。

V. 制备核酸和蛋白质

编码所述蛋白或其片段的 DNA 可以通过化学合成、筛选 cDNA 文库或者筛选用各种细胞系或组织样品制备的基因组文库而获得。可使用标准方法和本文例如表 1 提供的序列分离天然序列。可以用杂交技术或各种 PCR 技术、联合应用或者单独应用筛选序列文库(例如 GenBank)或者通过筛选序列文库(例如 GenBank)，鉴定其它类型的相应物。

这种 DNA 可以在各种宿主细胞中表达，以便合成全长受体或片段，它们再用于例如制备多克隆抗体或单克隆抗体；用于结合研究；用于构建和表达修饰配体结合结构域或激酶/磷酸酶结构域；用于结构/融合研究。变异体或片段可在用合适载体转化或转染的宿主细胞中表达。除了来自重组宿主的蛋白或细胞杂质之外，上述分子基本上不含蛋白或细胞污染物，因此，特别可用于与药学上可接受的载体和/或稀释剂组合的药用组合物。所述蛋白或其部分可表达为其它蛋白的融合蛋白。所述蛋白或其编码核酸的组合物特别引人注目。

表达载体通常为含有目的受体基因、其片段或组合基因的自我复制的 DNA 或 RNA 构建物，所述目的受体基因、其片段或组合基因通常与在合适宿主细胞中被识别的合适遗传控制元件有效连接。所述控制元件能够在合适宿主中实现表达。多个基因可协调表达，而且可位于多顺反子信使上。实现表达所必需的特异型控制元件取决于所用的最终宿主细胞。一般来说，所述基因控制元件包括原核

启动子系统或真核启动子表达控制系统，通常包含转录启动子、控制转录发生的选择操纵子、升高 mRNA 表达水平的转录增强子、编码合适核糖体结合位点的序列和终止转录和翻译的序列。此外，表达载体常常含有使载体独立于所述宿主细胞复制的复制起点。

5 本发明载体包含编码所述多种蛋白组合物或者生物活性等同多肽的组合物的 DNA。所述 DNA 处于病毒启动子控制之下，而且它可编码选择标记。本发明还设想了能够在原核或真核宿主中表达编码所述蛋白的真核 cDNA 的所述表达载体的应用，其中所述载体与
10 所述宿主匹配，而且所述真核 cDNA 插入所述载体，使得包含所述载体的宿主生长表达所述 cDNA。通常，设计表达载体在其宿主细胞中稳定复制或者在其宿主细胞中扩增而显著增加每个细胞的目的基因总拷贝数。并不总是需要表达载体在宿主细胞中复制，例如可能使用不含所述宿主细胞识别的复制起点的载体在各种宿主中瞬时表
15 达所述蛋白或其片段。也可使用使所述蛋白的编码部分重组整合入所述宿主 DNA 的载体。

 本文使用的载体包括质粒、病毒、噬菌体、整合型 DNA 片段以及其它能够使 DNA 片段整合入宿主基因组的载体。表达载体是含有实现有效连接基因表达的基因控制元件的特化载体。质粒为最常用
20 形式的载体，但是在功能上等同而且本领域已知或者将为本领域所知的所有其它形式载体也适用本发明。参见例如 Pouwels 等(1985 和增刊) Cloning Vectors: A Laboratory Manual, Elsevier, N.Y., Rodriguez
等(主编, 1988) Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, Butterworth, Boston, 它们的内容通过引用结合到本文中。

25 转化细胞为用重组 DNA 技术构建的载体转化或转染的细胞(最好是哺乳动物细胞)。转化宿主细胞通常表达目的蛋白，但是对于克隆、扩增和操作其 DNA 的目的，不需要表达所述目的蛋白。本发明还设想了在营养培养基中培养转化细胞，因此允许累积所述蛋白。

可从培养物回收所述蛋白，或者在某些情况下，从培养基中回收所述蛋白。

对于本发明目的而言，当核酸序列在功能上彼此相关时，它们有效连接。例如，如果前序列或分泌前导序列的 DNA 表达为前蛋白或它参与引导所述多肽至细胞膜或参与所述多肽的分泌时，则它与多肽有效连接。如果启动子控制所述多肽的转录，则启动子与编码序列有效连接；如果核糖体结合位点的位置使得可以进行翻译，则它与编码序列有效连接。通常，有效连接是指连续而且符合读框的连接，但是，某些遗传元件如阻抑基因不是连续连接，但是仍然约束操纵基因序列，操纵基因序列再控制表达。

合适宿主细胞包括原核细胞、低等真核细胞和高等真核细胞。原核细胞包括革兰氏阴性和阳性生物，例如大肠杆菌和枯草杆菌(*B. subtilis*)。低等真核细胞包括酵母，例如酿酒酵母(*S. cerevisiae*)和毕赤酵母属(*Pichia*)，以及网柄菌属(*Dictyostelium*)物种。高等真核细胞包括用动物细胞建立的组织培养细胞系，所述动物细胞为非哺乳动物来源，例如昆虫细胞和鸟类细胞，以及哺乳动物来源，例如人类、灵长类和啮齿类。

原核宿主载体系统包括用于许多不同物种的各种载体。本文使用的大肠杆菌及其载体一般包括在其它原核细胞中使用的等同载体。用于扩增 DNA 的典型载体为 pBR322 或其许多衍生物。可以用来表达所述受体或其片段的载体包括但不限于包含以下启动子的载体：lac 启动子(pUC 系列)；trp 启动子(pBR322 trp)；Ipp 启动子(pIN 系列)；λ pP 或 pR 启动子(pOTS)；或者杂合型启动子如 ptac (pDR540)。参见 Brosius 等(1988)“应用λ及 Ipp 衍生启动子的表达载体”，载于 Vectors: A Survey of Molecular Cloning Vectors and Their Uses, (Rodriguez 和 Denhardt 主编), Buttersworth, Boston, 第 10 章, pp. 205-236, 其内容通过引用结合到本文中。

低等真核细胞，例如酵母和网柄菌属，可用包含 DCRS5 序列的

载体转化。对于本发明目的，最常用低等真核宿主为面包酵母，即酿酒酵母。一般用其代表低等真核细胞，但是也可用许多其它菌株和种类。酵母载体的典型组成如下：复制起点(整合型例外)、选择基因、启动子、编码所述受体或其片段的 DNA、以及翻译终止序列、聚腺苷酸序列和转录终止序列。用于酵母的合适表达载体包括组成型启动子，例如 3-磷酸甘油酸激酶和各种其它糖酵解酶基因启动子，或者诱导型启动子，例如醇脱氢酶 2 启动子或金属硫蛋白启动子。合适载体包括以下类型的衍生物：自主复制低拷贝数载体(例如 YRp 系列)，自主复制高拷贝数载体(例如 YEpl 系列)；整合型载体(例如 YIp 系列)，或者微小染色体(例如 YCp 系列)。

高等真核组织培养细胞通常是用于表达功能活性白介素或受体蛋白优选宿主细胞。原则上，许多高等真核组织培养细胞系无论是来自无脊椎动物还是脊椎动物，均可使用，例如昆虫杆状病毒表达系统。然而，优选哺乳动物细胞。所述细胞的转化或转染以及繁殖已成为常规方法。有用的细胞系实例包括 HeLa 细胞、中国仓鼠卵巢(CHO)细胞系、幼龄大鼠肾脏(BRK)细胞系、昆虫细胞系、鸟细胞系和猴(COS)细胞系。用于所述细胞系的表达载体通常包括复制原点、启动子、翻译起始位点、RNA 剪接位点(如果使用基因组 DNA)、聚腺苷酸位点和转录终止位点。这些载体还常常含有选择基因或扩增基因。合适表达载体可以是质粒、病毒或反转录病毒，它们含有例如衍生自腺病毒、SV40、细小病毒、痘苗病毒或巨细胞病毒的启动子。合适表达载体的典型实例包括 pCDNA1；pCD，参见 Okayama 等(1985) Mol. Cell Biol. 5:1136-1142；pMCIneo PolyA，参见 Thomas 等(1987) Cell 51:503-512；杆状病毒载体，例如 pAC 373 或 pAC 610。

对于分泌蛋白和某些膜蛋白，读框通常编码由其 N-末端共价连接信号肽的成熟或分泌产物组成的多肽。所述信号肽在所述成熟或活性多肽分泌之前切除。根据经验法则可非常准确地预测切割位点，例如 von-Heijne (1986) Nucleic Acids Research 14:4683-4690 和 Nielsen

等(1997) *Protein Eng.* 10:1-12; 信号肽的确切氨基酸组成对其功能似乎不重要, 例如 Randall 等(1989) *Science* 243:1156-1159; Kaiser 等(1987) *Science* 235: 312-317。使用标准方法可容易地确定本发明的成熟蛋白。

5 常常需要在提供特异性或规定糖基化类型的系统中表达上述多肽。在这种情况下, 一般糖基化类型为表达系统天然提供的糖基化类型。然而, 所述糖基化类型可如下修饰: 使所述多肽(例如非糖基化型)暴露于已经引入异源表达系统的合适糖基化蛋白。例如, 所述受体基因可以与一种或多种编码哺乳动物糖基化酶或其它糖基化酶

10 的基因共转化。使用这种方法, 某些哺乳动物糖基化类型可在原核细胞或其它细胞中实现。原核细胞表达通常产生非糖基化型蛋白。

如上所述, DCRS5 的来源可以为表达重组 DCRS5 的真核宿主或原核宿主。所述来源也可以是细胞系, 但是本发明也设想了其它哺乳动物细胞系, 优选细胞系来自人类。

15 既然已知所述序列, 可用合成肽的常规方法制备灵长类 DCRS5、其片段或衍生物。包括下列文献介绍的方法: Stewart 和 Young (1984) *Solid Phase Peptide Synthesis*, Pierce Chemical Co., Rockford, IL; Bodanszky 和 Bodanszky (1984) *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, New York; Bodanszky (1984) *The Principles of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, New York; 所有文献均通过引用结合到本文中。例如, 可以使用叠氮化物法、酰基氯法、酸酐法、混合酐法、

20 活性酯法(例如对硝基苯基酯、N-羧基琥珀酰亚胺酯或氰基甲基酯)、碳二咪唑法、氧化还原法或二环己基碳二亚胺(DCCD)加成法。前面方法可以使用固相合成以及液相合成。可以将相似技术用于部分

25 DCRS5 序列。

按照肽合成常规使用的上述方法适当地制备 DCRS5 蛋白、片段或衍生物, 通常是利用包括使氨基酸逐个按顺序与末端氨基酸缩合的所谓的逐步法, 或者使肽片段与末端氨基酸偶合。在偶合反应中不使用的氨基通常必须进行保护, 以便防止在不正确的位置进行偶

合。

如果使用固相合成，则使 C 末端氨基酸通过其羧基与不溶性载体或支持物结合。不溶性载体没有特别限制，只要它能与反应性羧基结合则可。这样的不溶性载体实例包括卤代甲基树脂(例如氯甲基树脂或溴甲基树脂)、羟基甲基树脂、苯酚树脂、叔烷氧基羰基脒化树脂等。

氨基保护的氨基酸按顺序通过其活化羧基与预先形成肽或链的反应氨基缩合结合，从而逐步合成所述肽。合成完整序列后，从不溶性载体分离出所述肽，从而生产出所述肽。这种固相法在 Merrifield 等(1963), J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2156 中有全面介绍，其通过引用结合到本文中。

制备的蛋白及其片段可通过肽分离(例如萃取、沉淀、电泳、各种形式的层析、免疫亲和等)从反应混合物中分离纯化。根据所需要的用途，可获得不同程度纯度的本发明受体。可应用本文公开的(见下文)蛋白纯化技术或者应用本文在免疫吸收亲和层析法中描述的抗体完成纯化。这种免疫吸收亲和层析如下进行：首先，使所述抗体结合到固体支持物上，然后所连接的抗体与合适细胞的溶解裂解物、表达所述受体的其它细胞裂解物或因为 DNA 技术而产生所述蛋白的细胞裂解物或上清液接触，参见下文。

一般来说，纯化蛋白的纯度至少约 40%，一般至少约 50%，通常至少约 60%，常见至少约 70%，更常见至少约 80%，优选至少约 90%，更优选至少约 95%，在特别实施方案中，为 97%-99%或更高。纯化通常为重量纯度，但是也可以为摩尔纯度。可适当应用不同测定。可纯化各种蛋白，然后将其混合。

25

VI. 抗体

可制备针对各种哺乳动物例如灵长类 DCRS5 蛋白及其片段的抗体，所述蛋白及其片段可以为天然原型和其重组形式，差别在于针

对所述活性受体的抗体更可能识别仅在天然构象中存在的表位。还设想了识别 DCRS5 与 IL-12R β 1 的组合物(例如官能团组合)呈现的表位的抗体。变性抗原检测例如在蛋白质印迹中也是有用的。也设想了抗独特型抗体,其可用作天然受体或抗体的激动剂或拮抗剂。

5 可通过用所述片段与免疫原性蛋白的缀合物免疫动物,制备抗所述蛋白预定片段的抗体,包括结合片段和单链型抗体。用分泌目的抗体的细胞制备单克隆抗体。筛选其中结合正常蛋白或缺陷蛋白的抗体,或者筛选激动剂活性或拮抗剂活性的抗体。单克隆抗体结合的 KD 通常约 1 mM,更常见至少约 300 μ M,常常至少约 100 μ M,
10 更常见至少约 30 μ M,优选至少约 10 μ M,更优选至少约 3 μ M 或更低。

本发明的抗体,包括抗原结合片段,具有重要诊断或治疗价值。它们可为结合所述受体并抑制与配体结合或抑制所述受体引发生物反应(例如作用于其底物)的能力的有效拮抗剂。它们也可用作非中和
15 抗体,它们可与毒素或放射性核素偶合,所述毒素或放射性核素结合生产细胞或局限于白介素来源的细胞。此外,上述抗体可与药物或其它治疗药物直接缀合或通过接头间接缀合。

本发明抗体在诊断应用中也是有用的。作为捕获抗体或非中和抗体,它们可结合所述受体而不抑制配体或底物结合。作为中和抗
20 体,它们可用于竞争性结合测定。它们还可用于检测或定量配体。它们可用作蛋白质印迹分析、或者免疫沉淀或免疫纯化相应蛋白的试剂。同样,核酸和蛋白质可固定在固体支持物上,以进行亲和纯化或检测方法。所述支持物可以是例如固体树脂珠或塑料片。

蛋白片段可与其它物质、尤其是多肽结合,作为用作免疫原的
25 融合或共价结合多肽。哺乳动物细胞因子受体和片段可与各种免疫原融合或共价结合,所述免疫原例如钥孔鲷血蓝蛋白、牛血清白蛋白、破伤风类毒素等。关于制备多克隆抗血清方法的介绍参见 Microbiology, Hoeber Medical Division, Harper 和 Row 1969;

Landsteiner (1962) *Specificity of Serological Reactions*, Dover Publications, New York; Williams 等(1967) *Methods in Immunology and Immunochemistry*, 第 1 卷, Academic Press, New York; 所述文献均通过引用结合到本文中。典型方法包括用抗原超免疫动物。然后在重复免疫后立即收集动物血液, 分离 γ 球蛋白。

在某些情况下, 需要从各种哺乳动物宿主例如小鼠、啮齿类、灵长类、人类等制备单克隆抗体。制备所述单克隆抗体的方法介绍见例如: Stites 等(主编) *Basic and Clinical Immunology* (第四版), Lange Medical Publications, Los Altos, CA, 以及其中的参考文献; Harlow 和 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, CHS Press; Goding (1986) *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* (第二版) Academic Press, New York; 尤其是 Kohler 和 Milstein (1975), *Nature* 256: 495-497, 它论述了一种制备单克隆抗体的方法。所有这些参考文献均通过引用结合到本文中。简而言之, 这种方法包括用一种免疫原注射免疫动物。然后处死动物, 从其脾脏取出细胞, 然后将其与杂交瘤细胞融合。获得能够体外增殖的杂交细胞或“杂交瘤”。之后, 筛选杂交瘤细胞以分离单个克隆, 每种克隆分泌一种抗所述免疫原的抗体。这样, 获得的各种抗体为在免疫原物质上的被识别的特异性位点作用下产生的免疫动物的永生化单个克隆 B 细胞的产物。

其它合适技术包括使淋巴细胞暴露于抗原性多肽或者选择噬菌体或相似载体的抗体文库。参见 Huse 等(1989) “Generation of a Large Combinatorial Library of the Immunoglobulin Repertoire in Phage Lambda,” *Science* 246:1275-1281; Ward 等(1989) *Nature* 341:544-546, 均通过引用结合到本文中。本发明多肽和抗体可以修饰后使用或者不经修饰即使用, 包括嵌合抗体或人源化抗体。所述多肽和抗体常常通过共价或非共价与提供可检测信号的物质结合而标记。各种各样的标记及结合技术是已知的, 而且在科学及专利文献中有广泛报道。合适标记物包括放射性核素、酶、底物、辅助因子、抑制剂、

5 荧光部分、化学发光部分、磁粒等。指出所述标记物的应用的专利包括美国专利号 3,817,837、3,850,752、3,939,350、3,996,345、4,277,437、4,275,149 和 4,366,241。此外,可生产重组或嵌合免疫球蛋白,参见 Calibilly, 美国专利号 4,816,567; 或者应用转基因小鼠制备,参见 Mendez 等(1997) Nature Genetics 15:146-156。这些文献通过引用结合到本文中。

10 本发明抗体还可用于分离 DCRS5 蛋白或肽的亲亲和层析。制备层析柱,其中所述抗体与固体支持物结合,例如颗粒(例如琼脂糖、Sephadex 等),其中使细胞裂解物通过层析柱,洗柱,然后增加温和变性剂浓度,因此释放出纯化蛋白。或者,所述蛋白可用于纯化抗体。可使用合适交叉吸收或去除。

所述抗体也可用于筛选表达文库的特定表达产物。通常对用于所述方法的抗体进行标记,标记部分使得通过抗体结合可以容易地检测抗原的存在。

15 针对细胞因子受体产生的抗体还可用于产生抗独特型抗体。它们用于检测或诊断与所述蛋白表达或表达所述蛋白的细胞有关的各种病症。它们还可用作所述配体的激动剂或拮抗剂,其为竞争性受体抑制剂或代替天然配体。某些受体亚单位或组合物的抗体可用作激活抗体,它可影响信号转导,因此用作例如配体激动剂。

20 特异性结合针对特定免疫原(例如由 SEQ ID NO: 2 的氨基酸序列组成的免疫原)产生的抗体或特异性与所述抗体产生免疫反应的细胞因子受体蛋白通常以免疫测定进行测定。免疫测定通常采用例如针对例如 SEQ ID NO: 2 蛋白产生的多克隆抗血清。选择对其它细胞因子受体家族成员(例如 IL-12R β 2 受体亚单位或 IL-6 受体亚单位 gp130, 优选来自相同物种)交叉反应性低的抗血清,在用于免疫测定之前通过免疫吸收去除任何这样的交叉反应性。

25 为了制备用于免疫测定的抗血清,如本文所述分离例如 SEQ ID NO: 2 的蛋白。例如可在哺乳动物细胞系中产生重组蛋白。通常使

用标准佐剂例如弗氏佐剂以及标准小鼠免疫接种方案(参见 Harlow 和 Lane, 同上), 用选定蛋白免疫合适宿主, 例如小鼠近交系(如 Balb/c)。或者, 得自本文公开序列而且与载体蛋白缀合的合成肽可用作免疫原。收集多克隆抗血清, 用免疫测定(例如免疫原固定在固体支持物上的固相免疫测定)对免疫原蛋白进行滴定。选择滴度 10^4 或更高的多克隆抗血清, 使用竞争性结合免疫测定, 例如 Harlow 和 Lane, 同上, 第 570-573 页介绍的一种方法, 测试其对其它细胞因子受体家族成员如 gp130 或 IL-12R β 1 的交叉反应性。优选在该测定中使用至少两种细胞因子受体家族成员。这些细胞因子受体家族成员可生产为重组蛋白, 使用本文介绍的标准分子生物学及蛋白质化学技术进行分离。

竞争性结合形式的免疫测定可用于测定交叉反应性。例如, SEQ ID NO: 2 蛋白可固定在固体支持物上。加入所述测定中蛋白与抗血清竞争性结合固定抗原。上述蛋白与抗血清竞争性结合固定蛋白的能力与例如 gp130 或 IL-12R β 2 蛋白进行比较。使用标准计算方法计算上述蛋白的交叉反应百分率。选择并合并与以上所列各蛋白的交叉反应性百分率低于 10% 的抗血清。然后用上述蛋白通过免疫吸收从合并抗血清中去除交叉反应抗体。

然后免疫吸收的合并抗血清用于上述竞争性结合免疫测定, 以比较第二种蛋白与所述免疫原蛋白(例如 SEQ ID NO: 2 的 DCRS5 样蛋白)。为了进行这种比较, 分别分析广泛浓度的两种蛋白, 确定抑制 50% 抗血清与固定蛋白结合需要的各蛋白量。如果第二种蛋白的需要量是选定蛋白需要量的三分之一以下, 则认为第二种蛋白特异性结合针对所述免疫原产生的抗体。

当然, 这些细胞因子受体蛋白是包括许多鉴定基因的同源蛋白家族成员。对于特定基因产物来说, 例如 DCRS5, 该术语不仅指本文公开的氨基酸序列, 而且指为等位基因、非等位基因或种变异体的其它蛋白。还应该理解的是, 该术语包括使用常规重组技术如单

一位点突变的精细突变引入的非天然突变，或者通过切除编码相应蛋白的 DNA 的很短部分、或取代新的氨基酸、或加入新的氨基酸而引入的非天然突变。所述细微改变通常基本上保持原分子的免疫特性和/或其生物活性。因此，这些改变包括与指定天然 DCRS5 蛋白特异性免疫反应的蛋白。改变蛋白的生物特性可如下测定：在合适细胞系中表达所述蛋白，然后检测对例如转染淋巴细胞的合适作用。被认为是微小改变的特定蛋白修饰包括相似化学性质氨基酸的保守取代，见以上对整个细胞因子受体家族的论述。通过使一种蛋白与所述细胞因子受体蛋白优化排列对比，以及使用本文介绍的常规免疫测定测定免疫特性，人们可确定本发明的蛋白质组成。

而且，抗受体亚单位的抗体可用以空间性阻断配体结合功能受体。所述抗体可只针对其中任何一个亚单位或针对 DCRS5 和 IL-12R β 1 组合结构而产生。可得到抗体拮抗剂。

VII. 试剂盒、诊断及定量

本发明的天然和重组形式的细胞因子受体样分子特别可用于试剂盒和检测方法。例如，这些方法还可用于筛选例如配体对这些蛋白的结合活性。近年来开发了若干自动检测方法，以便每年可筛选成千上万的化合物。参见例如 BIOMEK 自动工作站，Beckman Instruments, Palo Alto, California, 以及 Fodor 等(1991) Science 251:767-773，它们均通过引用结合到本文中。后者介绍了通过在固体支持物上合成的多个规定聚合物的结合测试方法。提供大量纯化活性可溶性细胞因子受体(例如本发明提供的细胞因子受体)可大大促进开发筛选配体或激动剂/拮抗剂同源蛋白的合适方法。

纯化 DCRS5 可直接包被在板上，以用于上述配体筛选技术。然而，上述蛋白的非中和抗体可用作捕获抗体，以使相应的受体固定在用于例如诊断用途的固体相上。

本发明还设想了 DCRS5、其片段、肽及其融合产物在检测所述

蛋白或其配体的存在的各种诊断试剂盒以及方法中的应用。或者，抗所述分子的抗体可加入所述试剂盒和方法中。通常试剂盒具有含 DCRS5 肽或基因节段或者识别一种或另一种物质的试剂的区室。如果为肽，识别试剂通常为受体或抗体，如果为基因节段，则识别试剂通常为杂交探针。其它试剂盒组分可包括与配体/受体对的 p40、IL-B30 或 IL-12R β 1 相关的其它蛋白或试剂。

测定样品的 DCRS5 浓度的优选试剂盒通常包括对 DCRS5 具有已知结合亲和性的标记化合物如配体或抗体、作为阳性对照的 DCRS5 源(天然或重组 DCRS5)和分离结合标记化合物与游离标记化合物的手段，例如固定试样中的 DCRS5 的固相体。通常提供包含试剂的区室和说明书。还提供包含合适核酸或蛋白的试剂盒。

哺乳动物 DCRS5 或肽片段或者受体片段特异性抗体(包括抗原结合片段)可用于诊断用途，以便检测升高水平的配体和/或其片段的存在。诊断检测可以是均相检测(没有游离试剂和抗体抗原复合物的分离步骤)或非均相(具有分离步骤)。存在各种商业测定法，例如放射免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、酶免疫测定(EIA)、酶放大免疫分析技术(EMIT)、底物标记的荧光免疫测定(SLFIA)等。例如，可以如下使用未标记抗体：使用标记而且识别所述抗体的第二种抗体，前一种抗体针对细胞因子受体或其特定片段。这些检测还在文献中有深入的论述。参见例如 Harlow 和 Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, CSH., 以及 Coligan (主编, 1991 和定期增刊) *Current Protocols In Immunology* Greene/Wiley, New York.

抗独特型抗体具有用作细胞因子受体的激动剂或拮抗剂的相似用途。它们在合适条件下可用作治疗药物。

一般来说，用于诊断测定的试剂以试剂盒供应，以便优化所述测定的敏感性。对于本发明目的，根据测定、方法和标记物的性质，提供标记或未标记抗体、或者提供标记配体。通常结合提供其它添加剂，例如缓冲剂、稳定剂、信号产生必需的物质如酶的底物等。

优选所述试剂盒还包括正确使用和内容物用后处理的说明书。通常，试剂盒具有各有用试剂的区室，而且包含正确使用以及试剂处理的说明书。最好，所述试剂以干燥冻干粉提供，其中试剂可重新配制为含有合适浓度的水性溶液，从而进行测定。

- 5 可以勿须改进直接使用所述诊断测定的上述组分，或者可以以多种方式进行改进。例如，可通过共价或非共价连接直接或间接提供检测信号的部分而完成标记。在其中许多测定中，可直接或间接标记受试化合物、细胞因子受体或其抗体。可用于直接标记的标记物包括：放射性标记物如 ^{125}I 、酶(美国专利号 3,645,090)如过氧化物酶和碱性磷酸酶、以及能够监测荧光强度、波长位移或荧光极化变化的荧光标记物(美国专利号 3,940,475)。两个专利均通过引用结合到本文中。可间接标记的标记物包括一种组分的生物素化，然后结合与一种上述标记物偶合的抗生物素蛋白。
- 10

- 此外，有许多分离结合配体与游离配体、或者分离结合受试化合物或游离受试化合物的方法。细胞因子受体可固定在各种基体，然后洗涤。合适基体包括塑料如 ELISA 板、滤膜和珠。使受体固定在基体上的方法包括但不限于直接粘附到塑料上、应用捕获抗体、化学偶合和生物素抗生物素蛋白。这种方法的最后一步包括通过若干方法中的任何一种方法沉淀抗体/抗原复合物，包括应用例如有机溶剂如聚乙二醇或者盐如硫酸铵。其它合适的分离技术包括但不限于 Rattle 等(1984) Clin. Chem. 30(9):1457-1461 介绍的荧光素抗体磁粒方法和美国专利号 4,659,678 介绍的双抗磁粒分离法，它们均通过引用结合到本文中。
- 15
- 20

- 连接蛋白或片段与各种标记物的方法在文献中有广泛报道，在此不需要详细论述。其中许多技术涉及应用活化羧基通过碳二亚胺或活性酯形成肽键、巯基与活化卤素(如氯乙酰基)反应形成硫醚、或者活化烯烃如马来酰亚胺，以进行连接等。融合蛋白也具有这些用途。
- 25

本发明的另一个诊断方面涉及取自细胞因子受体序列的寡核苷酸或多核苷酸序列的应用。这些序列可用作检测怀疑患有免疫疾病的患者的相应细胞因子受体水平的探针。制备 RNA 和 DNA 核苷酸序列，对其进行标记，所述的序列的优选大小均在文献中有大量介绍和论述。通常寡核苷酸具有至少约 14 个核苷酸，常常至少约 18 个核苷酸，多核苷酸探针可多至数千个碱基。可使用各种标记物，最常用放射性核素，特别是 ^{32}P 。然而，也可使用其它技术，例如生物素修饰的核苷酸引入多核苷酸。然后，生物素用作结合抗生物素蛋白或抗体的位点，所述抗生物素蛋白或抗体可用各种标记物标记，例如放射性核素、荧光、酶等。或者，可使用能够识别特异性双链体(包括 DNA 双链体、RNA 双链体、DNA RNA 杂合双链体或 DNA 蛋白质双链体)的抗体。然后，再标记所述抗体，进行检测，其中所述双链体结合在表面上，这样当在表面形成双链体时，可检测结合所述双链体的抗体的存在。可以用常规技术对新的反义 RNA 进行探针，例如核酸杂交，加上或减去筛选，重组探测，杂交体释放的翻译(HRT)和杂交体中止的翻译(HART)。还包括扩增技术，例如聚合酶链式反应(PCR)。

还设想了也测试其它标记的定性或定量存在的诊断试剂盒。诊断或预后可能取决于用作标记的多个指标的综合考虑。因此，试剂盒可测试综合标记。见，如 Viallet 等(1989) Progress in Growth Factor Res. 1:89-97。检测可能反映功能受体信号转导差异的多态性可用于决定治疗策略。反映对配体的更强或更弱反应的差异可进一步区分反应/非反应患者亚群。

VIII. 治疗应用

本发明提供具有重要治疗价值的试剂。参见例如 Levitzki (1996) Curr. Opin. Cell Biol. 8:239-244。细胞因子受体(天然或重组)、其片段、突变蛋白受体和抗体以及经鉴定对所述受体或抗体具有结合亲和力

的化合物均可用于治疗所述受体或其配体表达异常的病症。所述异常通常表现为免疫紊乱。参见 WO 01/18051，其通过引用结合到本文中。另外，本发明在各种与异常表达或异常引发对所述配体的反应有关的疾病或病症方面具有治疗价值。例如，已经提出 p40/IL B30 配体参与细胞介导免疫的产生，例如抗肿瘤活性，建立体液和细胞免疫以及抗病毒作用。所述配体似乎特别激活 NK 细胞和 T 细胞。治疗可与 IL-18、IL-12、TNF、IFN γ 、放射/化疗、辅助治疗或抗肿瘤、抗病毒、或抗真菌化合物联合应用。

相反，可与 TNF、IFN γ 、IL-18 或 IL-12 拮抗剂、或与 IL-10、或与类固醇联合应用的拮抗剂适用于慢性 Th1 介导性疾病、自身免疫性疾病、或移植和/或排斥、多发性硬化、牛皮癣、慢性炎症性疾病、类风湿性关节炎、骨关节炎、或炎症性肠病。拮抗剂可以为抗所述受体亚单位、可溶性受体结构的抗体形式，或者是一种或多种所述受体亚单位的反义核酸。p40/IL-B30 配体与受体亚单位 DCRS5 和 IL-12R β 1 的配对对激动剂和拮抗剂的应用提供了了解。

根据所述 p40/IL-B30 活性，在治疗上，可溶性 DCRS5(同时存在或不存在可溶性 IL-12R β 1)或任一受体亚单位的抗体可实现所述细胞因子的拮抗剂作用。拮抗剂可用作不需要免疫反应或炎症反应的拮抗剂、用以针对记忆 T 细胞，或者与 IL-12/IL-12R 拮抗剂或其它抗炎剂或免疫抑制剂联合应用。临床适应症可以为慢性炎症或移植。各种多态性可增强或降低受体功能，如果作用明显的话，可用作治疗药物。所述变异的鉴定可进一步区分反应或非反应患者亚群。所述试剂可用作记忆 T 细胞和/或 NK 细胞的检测或标记试剂或烧蚀试剂。

基因治疗可使目的细胞群对 p40/IL-B30 配体产生反应，例如用作肿瘤免疫治疗的辅助治疗，以便促进活化肿瘤浸润淋巴细胞、T 细胞或 NK 细胞。反义策略可用于例如阻止受体反应。

已知 RNA 印迹分析显示产生 IL-12 p40 和/或 IL-B30 mRNA 的

细胞类型的各种异常病症。参见 Berkow(主编) The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck & Co., Rahway, N.J.; Thorn 等, Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill, N.Y.; Weatherall 等(主编) Oxford Textbook of Medicine, Oxford University Press, Oxford。许多其它医学病症对本发明提供的激动剂或拮抗剂治疗有效。参见例如 Stites 和 Terr (主编; 1991) Basic and Clinical Immunology Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut; Samter 等(主编) Immunological Diseases Little, Brown and Co.。其它可能的治疗适应症包括骨重建、性功能异常、预防神经变性疾病、痴呆、应激等。这些病症易于应用本发明提供的组合物预防或治疗。

可以纯化重组细胞因子受体、突变蛋白、激动剂或其拮抗剂抗体、或抗体, 然后给予患者。这些药物可与其它活性成分联合治疗应用, 例如利用常规药学上可接受的载体或稀释剂以及生理学上没有副作用的稳定剂和赋形剂。这些组合物可以无菌(例如过滤), 用剂量小瓶冻干, 或者以稳定水性制剂保藏。本发明还设想了抗体或其非补体结合性的结合片段的应用。

利用细胞因子受体或其片段筛选配体, 以鉴定对所述受体具有结合亲和性的分子。然后利用生物学测定确定推定配体能否可阻断固有刺激活性的竞争性结合。受体片段可用作阻滞剂或拮抗剂, 因为它阻断配体的活性。同样, 具有固有刺激活性的化合物可激活所述受体, 因此为激动剂, 因为它刺激配体活性, 例如诱导信号转导。本发明还设想了细胞因子受体抗体用作拮抗剂的治疗用途。

有效治疗必需的试剂量取决于许多不同因素, 包括给药方法、目标部位、试剂的生理周期、药理周期、患者的生理状态和给予的其它药物。因此, 应该逐渐增加治疗剂量以达到最佳安全性和疗效。通常体外使用剂量对于原位给予所述试剂所用的量提供有用的指导。对特定疾病的有效治疗剂量的动物试验可进一步预示人类剂量。在例如以下文献中介绍了对各种因素的考虑: Gilman 等(主编, 1990)

Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 第八版, Pergamon Press; Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 17 版 (1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; 各文献均通过引用结合到本文中。其中以及下文讨论了给药方法, 例如口服、静脉内、腹膜内或肌肉内给药、透皮扩散等。药学上可接受的载体包括水、盐水、缓冲剂和例如 Merck Index, Merck & Co., Rahway, New Jersey 中介绍的其它化合物。因为推定配体和其受体之间的可能的高亲和性结合或者转换数, 预期开始的低剂量的所述试剂应该有效。而且信号转导途径提示, 极低剂量的配体可能有效。因此, 预期采用合适载体时, 剂量范围为低于 1 mM 浓度, 通常低于约 10 μ M 浓度, 常常低于约 100 nM, 优选低于约 10 pM(皮摩尔), 最优选低于约 1 fM(费摩尔)。缓释制剂或缓释装置常常用来连续给药。

细胞因子受体、其片段、及抗体或其片段、拮抗剂、以及激动剂可直接给予要治疗的宿主, 或者根据所述化合物的大小, 最好在其给药前将其与载体蛋白如卵清蛋白或血清白蛋白缀合。治疗制剂可以按照许多常规剂型给药。尽管所述活性成分可以单独给药, 但是优选以药用制剂给药。制剂包含至少一种以上定义的活性成分和其一种或多种合格的载体。每种载体必须在与所述其它成分匹配和对患者无害的意义上在药理学和生理学上可接受。制剂包含适合口服、直肠、鼻或胃肠外(包括皮下、肌肉内、静脉内和皮肉)给药的载体。制剂可以常规以单位剂型提供, 而且可用药理学领域周知的方法制备。参见例如 Gilman 等(主编, 1990) Goodman and Gilman's: The Pharmacological Bases of Therapeutics, 第 8 版, Pergamon Press; Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 17 版(1990), Mack Publishing Co., Easton, Penn.; Avis 等(主编, 1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications Dekker, NY; Lieberman 等(主编, 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Dekker, NY; Lieberman 等(主编, 1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems Dekker,

NY。本发明疗法可与其它治疗药物、尤其是其它细胞因子受体家族成员的激动剂或拮抗剂联合应用或结合使用。

IX. 筛选

5 可用 DCRS5 或其片段进行药物筛选，以鉴定对所述受体单位具有结合亲和力的化合物，包括分离结合组分。然后，可应用后续生物学测定确定所述化合物是否具有特有刺激活性，因此它为阻滞剂或拮抗剂，因为它阻断配体的活性。

10 p40/IL-B30 配体与功能受体 DCRS3 和 IL-12R β 1 的匹配使得可筛选拮抗剂和具有正信号转导控制的激动剂。可进行小分子或抗体筛选。

15 一种药物筛选方法利用表达 DCRS5 和另一种细胞因子受体亚单位例如 IL-12R β 1 的重组 DNA 分子稳定转化的真核宿主细胞或原核宿主细胞。据认为信号转导利用 STAT4。分离表达独立于其它功能受体的受体的细胞。可将活的或固定的所述细胞用于标准抗体/抗原或配体/受体结合测定。参见例如 Parce 等(1989) Science 246:243-247; Owicki 等(1990) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 87:4007-4011，该文献了检测细胞反应的敏感方法。竞争性结合测定特别有用，其中使细胞与对所述配体具有已知结合亲和性的标记受体或抗体接触温育，例如
20 如 ^{125}I -抗体，然后测定试样对结合组合物的结合亲和性。之后分离结合与游离标记结合组合物，以评价配体结合程度。结合的受试化合物量与标记受体对已知来源的结合量成反比。许多技术可用来分离结合与游离配体以评价配体结合程度。分离步骤通常包括的程序例如为：粘附至滤膜上然后洗涤，粘附至塑料上然后洗涤，或离心细胞膜。
25 活细胞也可用来筛选药物对细胞因子介导功能的影响，例如 STAT4 信号转导等。某些检测方法可以消除分离步骤，例如近接敏感检测系统。

参考以下实施例可深入理解本发明的广泛范围，而下列实施例

不是用来将本发明限制于具体实施方案。

实施例

I. 通用方法

5 标准方法在例如以下文献中有介绍或涉及：Maniatis 等(1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Press; Sambrook 等(1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (第 2 版), 第 1-3 卷, CSH Press, NY; 或者 Ausubel 等(1987 和增刊) Current Protocols in Molecular Biology, Greene/Wiley, 10 New York。蛋白纯化方法包括例如硫酸铵沉淀、柱层析、电泳、离心、结晶等。参见例如 Ausubel 等(1987 和定期出版的增刊); Coligan 等(主编, 1996)和定期出版的增刊, Current Protocols In Protein Science Greene/Wiley, New York; Deutscher (1990) “Guide to Protein Purification”, Methods in Enzymology, 第 82 卷, 以及该系列的其它 15 卷号; 以及生产商关于蛋白纯化产物的应用的文献, 例如 Pharmacia, Piscataway, N.J., 或 Bio-Rad, Richmond, CA。与重组技术联合应用使得可融合至合适节段, 例如通过蛋白酶取出序列融合的 FLAG 序列或等同物。参见例如 Hochuli (1990) “Purification of Recombinant Proteins with Metal Chelate Absorbent”, 载于: Setlow(主编) Genetic Engineering, Principle and Methods 12:87-98, Plenum Press, N.Y.; Crowe 20 等(1992) QIAexpress: The High Level Expression & Protein Purification System QUIAGEN, Inc., Chatsworth, CA。

 例如使用计算机软件程序进行计算机序列分析, 例如 GCG(U. Wisconsin)和 GenBank 来源的程序。公共序列数据库也可使用, 例如 25 GenBank 等数据库。

 适用于 IL-10 受体的许多方法可用于 DCRS5, 例如美国专利号 5,789,192(IL-10 受体)所述, 其通过引用结合到本文中。

II. 功能克隆

观测到抗 hIL-12R β 1 抗体阻断人 T 细胞对 p40/IL-B30 的反应，以及阻断 p40/IL-30B 结合 IL-12R β 1。提示 IL-12R β 1 是受体复合物对 p40/IL-B30 的一个亚单位。

- 5 鉴定对 p40/IL-B30 反应但是对 IL-12 不反应的小鼠 T 细胞群，以及对 IL-12 反应但是对 p40/IL-B30 不反应的另一种 T 细胞群。此外，观测到表达重组 mIL-12R β 1 和 mIL-12R β 2 的 Ba/F3 细胞对 IL-12 反应，但是对 p40/IL-B30 不反应。综合上述结果表明，对 p40/IL-B30 的受体复合物包含 IL-12R β 1 和至少一种非 IL-12R β 2 的其它亚单位。
- 10 因此，设计表达克隆策略，以分离所述第二种受体组分。

- 用从 Kit225 细胞(对 IL-12 和 p40/IL-B30 均反应的 IL-2 依赖性人 T 细胞系)分离的 mRNA 制备 cDNA 文库。用反转录病毒表达载体 pMX 制备 cDNA 文库。用该 cDNA 文库感染表达重组 hIL-12R β 1 的 Ba/F3 细胞，使其在 IL-3 中恢复 3-4 天，然后用含 50 ng/ml hyper-hp40/hIL-B30 的培养基洗涤并以约 15,000 细胞/孔接种在 96 孔板中。
- 15 见 WO 01/18051。培养物每约 5 天补充额外的 hyper-hp40/hIL-B30。约 2 周后，5-10%孔细胞生长。从各孔收集细胞，用 hyper-hp40/hIL-B30 分别进一步扩大培养，测试对 hyper-hp40/hIL-B30 的生长依赖性。

- 通过 PCR 分析 p40/IL-B30 依赖性生长细胞的反转录病毒 cDNA 插入片段。分析了其中 40 个以上的分离物，所有分离物(除 1 个外)包含编码新的受体 DCRS5 的 cDNA。将该候选人 cDNA 克隆入表达载体，并转染入表达 hIL-12R β 1 的 Ba/F3 细胞。这些细胞成为对 p40/IL-B30 反应的细胞；因此，我们的结论是，新的 cDNA 编码目的 DCRS5，它为功能性 IL-B30 受体亚单位。
- 20

25

III. 全长 DCRS5 的特征；染色体定位

DCRS5 的胞质结构域整体上不与其它细胞因子受体胞质结构域(在该家族分子中观测到的共有结构域)密切相关。所述胞质结构域包

含 7 个 tyr 残基, 至少其中 3 个构成可识别的 SH2-结合基元: YEDI、YKPQ 和 YFPQ 的组成部分。YEDI 基元类似于鉴定的酪氨酸磷酸酶 shp2 的结合位点。后两个基元分别非常类似于已知结合 Stat1/Stat3 或 Stat3 的序列。YKPQ 基元与邻近侧翼序列在一定程度上类似于已知结合 Stat1-3 的 Stat4 和 IL-12R β 2 中的基元。这与初步的数据一致, 说明 p40/IL-B30 如 IL-12 激活 Stat4。

得自 DCRS5 序列的 PCR 引物用来探测人 cDNA 文库。序列可得自例如表 1, 优选邻近序列末端的序列。例如通过 λ gt10 噬菌体的 DNA 杂交筛选克隆灵长类、啮齿类或其它物种 DCRS5 的全长 cDNA。使用 T. aquaticus Taqplus DNA 聚合酶(Stratagene)在合适条件下进行 PCR 反应。

比较染色体分布制品。对用培养 72 小时的植物凝集素刺激的人淋巴细胞获得的染色体制品进行原位杂交。在培养的最后 7 小时加入 5-溴脱氧尿苷(60 μ g/ml 培养基), 保证杂交后染色体形成良好的带。

将借助于引物扩增的 PCR 片段克隆入合适载体。用 ^3H 通过缺口翻译标记载体。如 Mattei 等(1985) Hum. Genet. 69:327-331 所述, 以 200 ng/ml 终浓度的杂交溶液使放射性标记的探针与分开的中期染色体杂交。

用核示踪乳液(KODAK NTB2)包被后, 使载玻片曝光。为了避免形成带方法中的任何银颗粒滑动, 首先用缓冲的姬姆沙溶液将分开的中期染色体染色, 并照相。然后通过荧光染料-光解-姬姆沙(FPG)方法形成 R 带, 再照相, 然后分析。

相似的合适方法用于其它物种。

IV. DCRS5 mRNA 的定位

包含约 2 μ g poly(A) $^+$ RNA/道的人多组织(Cat# 1, 2)和癌细胞系印迹(Cat# 7757-1)购自 Clontech (Palo Alto, CA)。例如使用 Amersham Rediprime 随机引物标记试剂盒(RPN1633)用[α - ^{32}P] dATP 放射性标记

探针。例如于 65℃ 在 0.5 M Na₂HPO₄, 7% SDS, 0.5 M EDTA (pH 8.0) 中进行预杂交和杂交。例如开始于 65℃ 在 2 x SSC, 0.1% SDS 中洗涤 40 分钟, 然后在 0.1 x SSC, 0.1% SDS 中洗涤 20 分钟, 从而进行严格洗涤。之后将膜于 -70℃ 对 X 光胶片(Kodak)在存在增感屏下曝光。

5 用选定的合适人 DCRS5 克隆通过 cDNA 文库的 DNA 印迹进行更详细的研究, 以检测其在造血细胞或其它细胞亚群中的表达。

或者, 从表 1 选择 2 个合适引物。对根据存在信使 RNA 选择的合适 mRNA 样品(例如表达所述基因的样品)使用 RT-PCR 以获得 cDNA。

10 通过 PCR 信号预选择的合适组织的 cDNA 文库的杂交分离全长克隆。可进行 RNA 印迹。

利用合适技术如 PCR、免疫测定、杂交等分析编码 DCRS5 的基因的信息。组织和器官 cDNA 制品可得自例如 Clontech, Mountain View, CA。如上所述, 鉴定天然表达的来源是有用的。而鉴定功能受体亚单位对可预测什么细胞表达对各细胞因子配体产生生理反应的组合受体亚单位。

对于小鼠分布, 例如可进行 DNA 印迹分析: 用合适限制酶消化第一次扩增的 cDNA 文库的 DNA (5 μg), 释放插入片段, 在 1% 琼脂糖凝胶上电泳, 然后转移到尼龙膜上(Schleicher 和 Schuell, Keene, NY)。

20 小鼠 mRNA 分离样品包括: 静止的小鼠成纤维 L 细胞系(C200); Braf:ER(雌激素受体的 Braf 融合物)转染细胞, 对照(C201); T 细胞, TH1 型极化(脾细胞的 Mell4 亮、CD4+细胞, 用 IFN-γ 和抗 IL-4 极化 7 天; T200); T 细胞, TH2 型极化(脾细胞的 Mell 亮、CD4+细胞, 用 IL-4 和抗 IFN-γ 极化 7 天; T201); T 细胞, 高度 TH1 型极化(参见 Openshaw 等(1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367; 用抗 CD3 活化 2、6、16 小时, 合并物; T202); T 细胞, 高度 TH2 型极化(参见 Openshaw 等(1995) J. Exp. Med. 182:1357-1367; 用抗 CD3 活化 2、6、16 小时,

合并物; T203); CD44-CD25+ pre T 细胞, 从胸腺分选出(T204); TH1
T 细胞克隆 D1.1, 最后一次抗原刺激后静息 3 周(T205); TH1 T 细胞
克隆 D1.1, 10 $\mu\text{g/ml}$ ConA 刺激 15 小时(T206); TH2 T 细胞克隆 CDC35,
最后一次抗原刺激后静息 3 周(T207); TH2 T 细胞克隆 CDC35, 10
5 $\mu\text{g/ml}$ ConA 刺激 15 小时(T208); 脾的 Mell4+原初 T 细胞, 静息(T209);
Mell4+ T 细胞, 用 IFN- γ /IL-12/抗 IL-4 极化为 Th1 6、12、24 小时,
合并物(T210); Mell4+ T 细胞, 用 IL-4/抗 IFN- γ 极化为 Th2 6、13、24
小时, 合并物(T211); 未刺激的成熟 B 细胞白血病细胞系 A20 (B200);
未刺激的 B 细胞系 CH12 (B201); 未刺激的脾大 B 细胞(B202); 整个
10 脾的 B 细胞, LPS 活化(B203); 甲泛影酰胺富集的脾树突细胞, 静
息(D200); 骨髓树突细胞, 静息(D201); 用 LPS 活化 4 小时的单核
细胞系 RAW 264.7(M200); 用 GM 和 M-CSF 衍生的骨髓巨噬细胞
(M201); 巨噬细胞系 J774, 静息(M202); 巨噬细胞系 J774 + LPS + 抗
IL-10, 0.5、1、3、6、12 小时, 合并物(M203); 巨噬细胞系 J774 + LPS
15 + IL-10, 0.5、1、3、5、12 小时, 合并物(M204); 气雾剂刺激的小
鼠肺组织, Th2 型激发, 气雾剂 OVA 刺激 7、14、23 小时, 合并物(参
见 Garlisi 等(1995) *Clinical Immunology and Immunopathology* 75:75-83,
X206); 日圆线虫感染的肺组织(参见 Coffman 等(1989) *Science*
245:308-310; X200); 完整成年肺, 正常(O200); 完整肺, rag-1 (参见
20 Schwarz 等(1993) *Immunodeficiency* 4:249-252; O205); IL-10 K.O.脾(参
见 Kuhn 等(1991) *Cell* 75:263-274; X201); 完整成年脾, 正常(O201);
完整脾, rag-1 (O207); IL-10 K.O.集合淋巴结(O202); 完整集合淋巴
结, 正常(O210); IL-10 K.O.肠系膜淋巴结(X203); 完整肠系膜淋巴
结, 正常(O211); IL-10 K.O.结肠(X203); 完整结肠, 正常(O212); NOD
25 小鼠胰腺(参见 Makino 等(1980) *Jikken Dobutsu* 29:1-13; X205); 完整
胸腺, rag-1 (O208); 完整肾脏, rag-1 (O209); 完整心脏, rag-1 (O202);
完整大脑, rag-1 (O203); 完整睾丸, rag-1 (O204); 完整肝脏, rag-1
(O206); 大鼠正常关节组织(O300); 大鼠关节炎性关节组织(X300)。

人 mRNA 分离样品包括: 外周血单核细胞(单核细胞、T 细胞、NK 细胞、粒细胞、B 细胞), 静息(T100); 外周血单核细胞, 用抗 CD3 活化 2、6、12 小时, 合并物(T101); T 细胞, TH0 克隆 Mot 72, 静息(T102); T 细胞, TH0 克隆 Mot 72, 用抗 CD28 和抗 CD3 活化 3、6、12 小时, 合并物(T103); T 细胞, TH0 克隆 Mot 72, 用特异性肽无变应性处理 7、12 小时, 合并物(T104); T 细胞, TH1 克隆 HY06, 静息(T107); T 细胞, TH1 克隆 HY06, 用抗 CD28 和抗 CD3 活化 3、6、12 小时, 合并物(T108); T 细胞, TH1 克隆 HY06, 用特异性肽无变应性处理 2、6、12 小时, 合并物(T109); T 细胞, TH2 克隆 HY935, 静息(T110); T 细胞, TH2 克隆 HY935, 用抗 CD28 和抗 CD3 活化 2、7、12 小时, 合并物(T111); T 细胞 CD4+CD45RO: 用抗 CD28、IL-4 和抗 IFN γ 极化 27 天的 T 细胞, TH2 型极化, 用抗 CD3 和抗 CD28 活化 4 小时(T116); T 细胞肿瘤系 Jurkat 和 Hut78, 静息(T117); T 细胞克隆, 合并物的 AD130.2、Tc783.12、Tc783.13、Tc783.58、Tc782.69, 静息(T118); T 细胞随机 $\gamma\delta$ T 细胞克隆, 静息(T119); 脾细胞, 静息(B100); 脾细胞, 用抗 CD40 和 IL-4 活化(B101); B 细胞 EBV 系, 合并的 WT49、RSB、JY、CVIR、721.221、RM3、HSY, 静息(B102); B 细胞系 JY, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(B103); 合并的 NK20 克隆, 静息(K100); 合并的 NK20 克隆, 用 PMA 和离子霉素活化 6 小时(K101); NKL 克隆, 得自 LGL 白血病患者的外周血, IL-2 处理(K106); NK 细胞毒性克隆 640-A30-1, 静息(K107); 造血前体细胞系 TF1, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(C100); U937 前单核细胞系, 静息(M100); U937 前单核细胞系, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(M101); 淘洗的单核细胞, 用 LPS、IFN γ 、抗 IL-10 活化 1、2、6、12、24 小时, 合并物(M102); 淘洗的单核细胞, 用 LPS、IFN γ 、IL-10 活化 1、2、6、12、24 小时, 合并物(M103); 淘洗的单核细胞, 用 LPS、IFN γ 、抗 IL-10 活化 4、16 小时, 合并物(M106); 淘洗的单核细胞, 用 LPS、

IFN γ 、IL-10 活化 4、16 小时, 合并物(M107); 淘洗的单核细胞, 用 LPS 活化 1 小时(M108); 淘洗的单核细胞, LPS 活化 6 小时(M109); DC70% CD1a+, 得自 CD34+ GM-CSF、TNF α 12 天, 静息(D101); DC70% CD1a+, 得自 CD34+GM-CSF、TNF α 12 天, 用 PMA 和离子霉素活化 1 小时(D102); DC70% CD1a+, 得自 CD34+GM-CSF、TNF α 12 天, 用 PMA 和离子霉素活化 6 小时(D103); DC95% CD1a+, 得自 CD34+GM-CSF、TNF α 12 天, FACS 分选, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(D104); DC95% CD1a+, 没有 CD34+GM-CSF、TNF α 12 天, FACS 分选, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(D105); DC CD1a+CD86+, 得自 CD34+GM-CSF、TNF α 12 天, FACS 分选, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(K106); DC, 得自单核细胞 GM-CSF、IL-4 5 天, 静息(D107); DC, 得自单核细胞 GM-CSF、IL-4 5 天, 静息(D108); DC, 得自单核细胞 GM-CSF、IL-4 5 天, 用 LPS 活化 4、16 小时, 合并物(D109); DC, 得自单核细胞 GM-CSF、IL-4 5 天, 用 TNF α 、单核细胞上清液(supe)活化 4、16 小时, 合并物(D110); 平滑肌瘤 L11 良性肿瘤(X101); 正常子宫肌层 M5(O115); 恶性平滑肌瘤 GS1 (X103); 肺成纤维细胞肉瘤系 MRC5, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(C101); 肾上皮癌细胞系 CHA, 用 PMA 和离子霉素活化 1、6 小时, 合并物(C102); 雄性 28 周胚胎肾(O100); 雄性 20 周胚胎肺(O101); 雄性 28 周胚胎肝脏 (O102); 雄性 28 周胚胎心脏 (O103); 雄性 28 周胚胎大脑 (O104); 雄性 28 周胚胎膀胱 (O106); 雄性 28 周胚胎小肠(O107); 雄性 28 周胚胎脂肪组织(O108); 雌性 28 周胚胎卵巢(O109); 雌性 28 周胚胎子宫(O110); 雄性 28 周胚胎睾丸(O111); 雄性 28 周胚胎脾(O112); 成熟 28 周胎盘(O113); 12 岁龄发炎的扁桃体(X100)。

可分离其它物种的相似样品进行评价。

V. 克隆 DCRS5 的物种相应物

各种策略用来获得 DCRS5 的种相应物, 优选其它灵长类或啮齿类。一种方法是使用密切相关的种 DNA 探针的交叉杂交。该方法可用来作为中间步骤研究进化相似的物种。另一种方法是使用基于鉴定基因之间的相似或不同区段的特异性 PCR 引物, 例如高度保守或非保守多肽或核苷酸序列区段。

数据库检索可鉴定相似序列, 可获得合适探针。

VI. 产生哺乳动物 DCRS5 蛋白

工程合适的融合构建物(如 GST)用于在例如大肠杆菌中表达。例如构建小鼠 IGIF pGex 质粒, 转化入大肠杆菌。例如在包含 50 $\mu\text{g/ml}$ 氨苄青霉素的 LB 培养基中培养新转化的细胞, 用 IPTG(Sigma, St. Louis, MO)诱导。诱导过夜后, 收获细菌, 分离含 DCRS5 蛋白的沉淀。例如用 2 L TE 缓冲液(50 mM Tris-碱 pH 8.0, 10 mM EDTA 和 2 mM pefabloc)匀化沉淀。使其通过微型流化仪(Microfluidics, Newton, MA)3 次。液化上清液用 Sorvall GS-3 转子以 13,000 rpm 离心 1 小时。过滤所得的包含所述细胞因子受体蛋白的上清液, 通过用 50 mM Tris-碱 pH 8.0 平衡的谷胱甘肽-SEPHAROSE 柱。合并含 DCRS5-GST 融合蛋白的流分, 例如用凝血酶(Enzyme Research Laboratories, Inc., South Bend, IN)切割。切割的合并物然后通过用 50 mM Tris-碱平衡的 Q-SEPHAROSE 柱。合并含 DCRS5 的流分, 用冷的蒸馏水稀释, 以降低导电性, 再次通过新的 Q-Sepharose 柱, 或者接着再通过免疫亲和抗体柱。合并含 DCRS5 蛋白的流分, 等分, 贮藏于 -70°C 冷藏机。

比较细胞因子受体蛋白的 CD 谱提示, 所述蛋白正确折叠。参见 Hazuda 等(1969) J. Biol. Chem. 264:1689-1693。

VII. 制备 DCRS5 特异性抗体

用重组型所述蛋白, 例如纯化 DCRS5 或稳定转染的 NIH-3T3 细胞, 腹膜内免疫近交 Balb/c 小鼠。用蛋白在合适时间点加强免疫

小鼠，用额外的佐剂或不用额外的佐剂，以便进一步刺激产生抗体。收集血清，或者用收获的脾细胞制备杂交瘤。

或者，用所述基因或其片段转化的细胞(内源或外源细胞)免疫 Balb/c 小鼠，或者用富集表达所述抗原的分离膜免疫小鼠。适当时，通常在进一步给予数次后，收集血清。各种基因治疗技术可用于例如原位产生蛋白，以便产生免疫反应。可交叉吸收或免疫选择血清或抗体制品，从而制备特定特异性和高度亲和性的大致纯抗体。

可制备单克隆抗体。例如使脾细胞与合适融合伴侣融合，在生长培养基中通过标准方法选择杂交瘤。通过 ELISA 或其它测定筛选杂交瘤上清液中的结合 DCRS5 的抗体的存在。还选择或制备特异性识别具体 DCRS5 的抗体。

另一种方法中，将合成肽或纯化蛋白提呈给免疫系统，以产生单克隆抗体或多克隆抗体。参见例如 Coligan (主编, 1991) Current Protocols in Immunology Wiley/Greene; Harlow 和 Lane (1989) Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press。适当的情况下，结合试剂或者如上所述用例如荧光或其它方法标记，或者固定在用于淘选方法的支持物上。核酸也可导入动物细胞产生抗原，抗原再刺激免疫反应。参见例如 Wang 等(1993) Proc. Nat'l. Acad. Sci. 90:4156-4160; Barry 等(1994) BioTechniques 16:616-619; Xiang 等(1995) Immunity 2:129-135。

VIII. 产生 DCRS5 的融合蛋白

用 DCRS5 制备各种融合构建物，包括组合它与 IL-12R β 1 序列的实施方案。将合适基因的一部分与表位标记融合，例如 FLAG 标记，或者构建双杂交系统。参见例如 Fields 和 Song (1989) Nature 340:245-246。

表位标记可用于用抗 FLAG 抗体检测的表达克隆方法，以检测结合配偶体，例如相应细胞因子受体的配体。双杂交系统也可用来

分离特异性结合 DCRS5 的蛋白。

IX. 结构活性关系

5 采用标准方法和分析确定特定残基的重要信息。例如通过在确定位点(例如在以上鉴定的位点)产生许多不同变异,评价所述变异体的生物活性,从而进行标准突变分析。可进行到确定改进活性的位点的程度,或者集中在特定位点以确定保留、阻断或改进生物活性的可取代残基。

10 或者,天然变异体分析可揭示什么位点耐受天然突变。这种结果得自个体变异的群体分析或跨品系或物种的变异群体分析。分析选定个体的样品,例如应用 PCR 分析和测序。这可评价群体多态性。

X. DCRS5 和 IL-12R β 1 的共表达

15 编码相应基因的载体可转染入细胞。优选所述载体含有选择标记,以鉴定哪些细胞成功转化。两种基因的共表达使两种基因产物正确缔合形成活性受体复合物。

或者,可用使功能二聚体缔合的方法。参见例如 O'Shea 等(1989) Science 245:646-648; Kostelny 等(1992) J. Immunol. 148:1547-1553; Patel 等(1996) J. Biol. Chem. 271: 30386-30391。胞外结构域表达和物理缔合,例如 Fos/Jun 亮氨酸拉链式亲和力驱动的物理缔合,产生配体结合结构,该结构用作诊断作用或治疗作用的结合化合物。

本文中引用的所有参考文献通过引用结合到本文中,其引用程度如同各个出版物或专利申请特别具体指出的引用结合。

25 可在不偏离本发明精神和范围的情况下对本发明进行许多改进和改变,这对本发明技术人员而言是显而易见的。本文所述具体实施方案仅仅是举例性提供,本发明由所附权利要求书和所述权利要求主题的完全等同范围限定;而本发明不受本文举例性提供的具体实施方案限制。

5 <110> Schering Corporation
 <120> 哺乳动物受体蛋白、相关试剂及方法

 <130> DX01074
 10 <140> PCT/US01/15057

 <150> US 60/203,426
 <151> 2000-05-10
 15 <160> 5

 <170> PatentIn Ver. 2.0

 20 <210> 1
 <211> 2859
 <212> DNA
 <213> 未知

 25 <220>
 <223> 未知生物描述:灵长类; 推测为人类

 <220>
 <221> CDS
 30 <222> (119).. (2005)

 <220>
 <221> 成熟肽
 <222> (188).. (2005)
 35 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1).. (2859)
 <223> Xaa 根据遗传密码翻译
 40 <400> 1
 gtggtacggg aattccattg tgttgggcag ccaacaaggg tggcagcctg gctctgaagt 60

 ggaattatgt gcttcaaaca ggttgaaaga gggaaacagt cttttcctgc ttccagac 118
 45 atg aat cak gtc act att caa tgg gat gca gta ata gcc ctt tac ata 166
 Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile
 -20 -15 -10

5	ctc ttc agc tgg tgt cat gga gga att aca aat ata aac tgc tct ggc 214
	Leu Phe Ser Trp Cys His Gly Gly Ile Thr Asn Ile Asn Cys Ser Gly
	-5 -1 1 5
	cac atc tgg gta gaa cca gcc aca att ttt aag atg ggt atg aat atc 262
	His Ile Trp Val Glu Pro Ala Thr Ile Phe Lys Met Gly Met Asn Ile
10	10 15 20 25
	tct ata tat tgc caa gca gca att aag aac tgc caa cca agg aaa ctt 310
	Ser Ile Tyr Cys Gln Ala Ala Ile Lys Asn Cys Gln Pro Arg Lys Leu
	30 35 40
	cat ttt tat aaa aat ggc atc aaa gaa aga ttt caa atc aca agg att 358
15	His Phe Tyr Lys Asn Gly Ile Lys Glu Arg Phe Gln Ile Thr Arg Ile
	45 50 55
	aat aaa aca aca gct cgg ctt tgg tat aaa aac ttt ctg gaa cca cat 406
	Asn Lys Thr Thr Ala Arg Leu Trp Tyr Lys Asn Phe Leu Glu Pro His
	60 65 70
20	gct tct atg tac tgc act gct gaa tgt ccc aaa cat ttt caa gag aca 454
	Ala Ser Met Tyr Cys Thr Ala Glu Cys Pro Lys His Phe Gln Glu Thr
	75 80 85
	ctg ata tgt gga aaa gac att tct tct gga tat ccg cca gat att cct 502
	Leu Ile Cys Gly Lys Asp Ile Ser Ser Gly Tyr Pro Pro Asp Ile Pro
25	90 95 100 105
	gat gaa gta acc tgt gtc att tat gaa tat tca ggc aac atg act tgc 550
	Asp Glu Val Thr Cys Val Ile Tyr Glu Tyr Ser Gly Asn Met Thr Cys
	110 115 120
	acc tgg aat gct rgg aag ctc acc tac ata gac aca aaa tac gtg gta 598
30	Thr Trp Asn Ala Xaa Lys Leu Thr Tyr Ile Asp Thr Lys Tyr Val Val
	125 130 135
	cat gtg aag agt tta gag aca gaa gaa gag caa cag tat ctc acc tca 646
	His Val Lys Ser Leu Glu Thr Glu Glu Glu Gln Gln Tyr Leu Thr Ser
	140 145 150
35	agc tat att aac atc tcc act gat tca tta caa ggt ggc aag aag tac 694
	Ser Tyr Ile Asn Ile Ser Thr Asp Ser Leu Gln Gly Gly Lys Lys Tyr
	155 160 165
	ttg gtt tgg gtc caa gca gca aac gca cta ggc atg gaa gag tca aaa 742
	Leu Val Trp Val Gln Ala Ala Asn Ala Leu Gly Met Glu Glu Ser Lys
40	170 175 180 185

	caa ctg caa att cac ctg gat gat ata gtg ata cct tct gca gcc gtc	790
	Gln Leu Gln Ile His Leu Asp Asp Ile Val Ile Pro Ser Ala Ala Val	
	190 195 200	
5	att tcc agg gct gag act ata aat gct aca gtg ccc aag acc ata att	838
	Ile Ser Arg Ala Glu Thr Ile Asn Ala Thr Val Pro Lys Thr Ile Ile	
	205 210 215	
10	tat tgg gat agt caa aca aca att gaa aag gtt tcc tgt gaa atg aga	886
	Tyr Trp Asp Ser Gln Thr Thr Ile Glu Lys Val Ser Cys Glu Met Arg	
	220 225 230	
15	tac aag gct aca aca aac caa act tgg aat gtt aaa gaa ttt gac acc	934
	Tyr Lys Ala Thr Thr Asn Gln Thr Trp Asn Val Lys Glu Phe Asp Thr	
	235 240 245	
20	aat ttt aca tat gtg caa cag tca gaa ttc tac ttg gag cca aac att	982
	Asn Phe Thr Tyr Val Gln Gln Ser Glu Phe Tyr Leu Glu Pro Asn Ile	
	250 255 260 265	
	aag tac gta ttt caa gtg aga tgt caa gaa aca ggc aaa agg tac tgg	1030
	Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp	
	270 275 280	
25	cag cct tgg agt tca ccg ttt ttt cat aaa aca cct gaa aca gtt ccc	1078
	Gln Pro Trp Ser Ser Pro Phe Phe His Lys Thr Pro Glu Thr Val Pro	
	285 290 295	
30	cag gtc aca tca aaa gca ttc caa cat gac aca tgg aat tct ggg cta	1126
	Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu	
	300 305 310	
35	aca gtt gct tcc atc tct aca ggg cac ctt act tct gac aac aga gga	1174
	Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly	
	315 320 325	
40	gac att gga ctt tta ttg gga atg atc gtc ttt gct gtt atg ttg tca	1222
	Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser	
	330 335 340 345	
	att ctt tct ttg att ggg ata ttt aac aga tca ttc cga act ggg att	1270
	Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile	
	350 355 360	
45	aaa aga agg atc tta ttg tta ata cca aag tgg ctt tat gaa gat att	1318
	Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile	
	365 370 375	
	cct aat atg aaa aac agc aat gtt gtg aaa atg cta cag gaa aat agt	1366

	Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser	
	380 385 390	
5	gaa ctt atg aat aat aat tcc agt gag cag gtc cta tat gtt gat ccc Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro	1414
	395 400 405	
10	atg att aca gag ata aaa gaa atc ttc atc cca gaa cac aag cct aca Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr	1462
	410 415 420 425	
15	gac tac aag aag gag aat aca gga ccc ctg gag aca aga gac tac ccg Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro	1510
	430 435 440	
	caa aac tcg cta ttc gac aat act aca gtt gta tat att cct gat ctc Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu	1558
	445 450 455	
20	aac act gga tat aaa ccc caa att tca aat ttt ctg cct gag gga agc Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser	1606
	460 465 470	
25	cat ctc agc aat aat aat gaa att act tcc tta aca ctt aaa cca cca His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro	1654
	475 480 485	
30	gtt gat tcc tta gac tca gga aat aat ccc agg tta caa aag cat cct Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro	1702
	490 495 500 505	
35	aat ttt gct ttt tct gtt tca agt gtg aat tca cta agc aac aca ata Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile	1750
	510 515 520	
40	ttt ctt gga gaa tta agc ctc ata tta aat caa gga gaa tgc agt tct Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser	1798
	525 530 535	
	cct gac ata caa aac tca gta gag gag gaa acc acc atg ctt ttg gaa Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu	1846
	540 545 550	
45	aat gat tca ccc agt gaa act att cca gaa cag acc ctg ctt cct gat Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp	1894
	555 560 565	
	gaa ttt gtc tcc tgt ttg ggg atc gtg aat gag gag ttg cca tct att	1942

	Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile	
	570	575 580 585
5	aat act tat ttt cca caa aat att ttg gaa agc cac ttc aat agg att	1990
	Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile	
	590 595 600	
10	tca ctc ttg gaa aag tagagctgtg tgg tcaaaat caatatgaga aagctgcctt	2045
	Ser Leu Leu Glu Lys	
	605	
	gcaatctgaa cttgggtttt ccctgcaata gaaattgaat tctgcctctt tttgaaaaa	2105
15	atgtattcac atacaaatct tcacatggac acatgttttc atttccttg gataaatacc	2165
	taggtagggg attgctgggc catatgataa gcatatgttt cagttctacc aatcttgttt	2225
	ccagagtagt gacatttctg tgctcctacc atcaccatgt aagaattccc gggagctcca	2285
20	tgccctttta attttagcca ttcttctgcc tmatttctta aaattagaga attaaggtcc	2345
	cgaaggtgga acatgcttca tgg tcaacaca tacaggcaca aaaacagcat tatgtggacg	2405
25	cctcatgtat tttttataga gtcaactatt tctctttat tttccctcat tgaaagatgc	2465
	aaaacagctc tctattgtgt acagaaaggg taaataatgc aaaatacctg gtagtaaaat	2525
	aatgctgaa aattttcctt taaaatagaa tcattaggcc aggcgtgggtg gctcatgctt	2585
30	gtaatccag cactttggta ggctgaggtr ggtggatcac ctgaggtcag gagttcgagt	2645
	ccagcctggc caatatgctg aaacctgtc tctactaaaa ttacaaaaat tagccggcca	2705
35	tgg tggcagg tgcttgtaat ccagctact tgggaggctg aggcaggaga atcacttgaa	2765
	ccaggaaggc agaggttgca ctgagctgag attgtgccac tgcactccag cctgggcaac	2825
	aagagcaaaa ctctgtctgg aaaaaaaaaa aaaa	2859
40		
	<210> 2	
	<211> 629	
	<212> PRT	
	<213> 未知	
45		
	<400> 2	
	Met Asn Xaa Val Thr Ile Gln Trp Asp Ala Val Ile Ala Leu Tyr Ile	
	-20 -15 -10	

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

	250		255		260		265
	Lys Tyr Val Phe Gln Val Arg Cys Gln Glu Thr Gly Lys Arg Tyr Trp						
		270			275		280
5	Gln Pro Trp Ser Ser Pro Phe Phe His Lys Thr Pro Glu Thr Val Pro						
		285		290		295	
	Gln Val Thr Ser Lys Ala Phe Gln His Asp Thr Trp Asn Ser Gly Leu						
10		300		305		310	
	Thr Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly His Leu Thr Ser Asp Asn Arg Gly						
		315		320		325	
15	Asp Ile Gly Leu Leu Leu Gly Met Ile Val Phe Ala Val Met Leu Ser						
		330		335		340	
	Ile Leu Ser Leu Ile Gly Ile Phe Asn Arg Ser Phe Arg Thr Gly Ile						
		350		355		360	
20	Lys Arg Arg Ile Leu Leu Leu Ile Pro Lys Trp Leu Tyr Glu Asp Ile						
		365		370		375	
	Pro Asn Met Lys Asn Ser Asn Val Val Lys Met Leu Gln Glu Asn Ser						
25		380		385		390	
	Glu Leu Met Asn Asn Asn Ser Ser Glu Gln Val Leu Tyr Val Asp Pro						
		395		400		405	
30	Met Ile Thr Glu Ile Lys Glu Ile Phe Ile Pro Glu His Lys Pro Thr						
		410		415		420	
	Asp Tyr Lys Lys Glu Asn Thr Gly Pro Leu Glu Thr Arg Asp Tyr Pro						
		430		435		440	
35	Gln Asn Ser Leu Phe Asp Asn Thr Thr Val Val Tyr Ile Pro Asp Leu						
		445		450		455	
	Asn Thr Gly Tyr Lys Pro Gln Ile Ser Asn Phe Leu Pro Glu Gly Ser						
40		460		465		470	
	His Leu Ser Asn Asn Asn Glu Ile Thr Ser Leu Thr Leu Lys Pro Pro						
		475		480		485	
45	Val Asp Ser Leu Asp Ser Gly Asn Asn Pro Arg Leu Gln Lys His Pro						
		490		495		500	
	Asn Phe Ala Phe Ser Val Ser Ser Val Asn Ser Leu Ser Asn Thr Ile						
		510		515		520	

Phe Leu Gly Glu Leu Ser Leu Ile Leu Asn Gln Gly Glu Cys Ser Ser
 525 530 535
 5 Pro Asp Ile Gln Asn Ser Val Glu Glu Glu Thr Thr Met Leu Leu Glu
 540 545 550
 Asn Asp Ser Pro Ser Glu Thr Ile Pro Glu Gln Thr Leu Leu Pro Asp
 555 560 565
 10 Glu Phe Val Ser Cys Leu Gly Ile Val Asn Glu Glu Leu Pro Ser Ile
 570 575 580 585
 Asn Thr Tyr Phe Pro Gln Asn Ile Leu Glu Ser His Phe Asn Arg Ile
 15 590 595 600
 Ser Leu Leu Glu Lys
 605
 20
 <210> 3
 <211> 1887
 <212> DNA
 <213> 反向翻译
 25
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1887)
 <223> n 可为 a, c, g 或 t
 30
 <400> 3
 atgaaycayg tnacnathca rtgggaygcn gtnathgcn y tntayathyt nttywsntgg 60
 tgycaaggng gnathacnaa yathaaytgy wsnggcayca thtgggtnga rcengcnaen 120
 35 athttayaara tgggnatgaa yathwsnath taytgycarg cngcnathaa raaytgyca 180
 ccmngnaary tncayttyta yaaraayggn athaargarm gnttycarat hacnmgnath 240
 40 aayaaracna cngcnmgnyt ntgttayaar aayttyytng arcncaygc nwsnatgtay 300
 tgyacngcng artgyccnaa rcayttycar garacnytna thtgyggnaa rgayathwsn 360
 wsnggntayc cncengayat hcengaygar gtnacntgyg tnathtayga rtaywsnggn 420
 45 aayatgacnt gyacntggaa ygcnmngaar ytnacntaya thgayacnaa rtaygtngtn 480
 caygtnaarw snytngarac ngargargar carcartayy tnacnwsnws ntayathaay 540

	athwsnacng aywsnytnca rggnggnaar aartayytng tntgggtncn rgengcnaay 600	
	gcnytnggna tggargarws naarcarytn carathcayy tngaygayat hgtcnathccn 660	
5	wsngcngcng tnathwsnmg ngengaraen athaaygna cngtncnnaa racnathath 720	
	taytgggayw snacaracnac nathgaraar gtnwsntgyg aratgmngta yaargcnacn 780	
10	acnaaycara cntggaaygt naargartty gayacnaayt tyacntaygt ncArcarwsn 840	
	garttytayy tngarcnnaa yathaartay gtnttycarg tnmngtgyca rgaracnggn 900	
	aarmngtayt ggcarcentg gwsnwsncn ttyttycaya aracncnga racngtncn 960	
15	cargtnacnw snaargcntt ycarcaygay acntggaayw snggnytnac ngtnngenwsn 1020	
	athwsnacng gncayytncn nwsngayaay mgngngaya thggnytnyt nytnggnatg 1080	
20	athgtnttyg cngtnatgyt nwsnathytn wsnytnathg gnathttyaa ymgnwsntty 1140	
	mgnacongna thaarmngmg nathytnyt ytnathcna artggynta ygargayath 1200	
	ccnaayatga araaywsnaa ygtngtnaar atgytncarg araaywsnga rytatgaay 1260	
25	aayaaywsnw sngarcargt nytntaygt n gayccnatga thacngarat haargarath 1320	
	ttyathcng arcayaarcc nacngaytay aaraargara ayacongnc nytngaraen 1380	
30	mgngaytayc ncaraayws nytnttygay aayacnacng tngtntayat hcngayyt n 1440	
	aayacongnt ayaarcenca rathwsnaay ttytncng arggnwsnaa ytnwsnaay 1500	
	aayaaygara thacnwsnyt nacnytnaar ccncngtng aywsnytna ywsnggnaay 1560	
35	aayccnmgy tncaraarca yccnaaytty gcnttywsng tnwsnwsngt naaywsnytn 1620	
	wsnaayacna thttytngg ngarytnwsn ytnathytna aycargnga rtgywsnwsn 1680	
40	ccngayathc araaywsngt ngargargar acnacatgy tnytnaraa ygaywsncn 1740	
	wsngaracna thcngarca racnytnyt ccngaygart tygtwsntg yytnggnath 1800	
	gtnaaygarg arytnccnws nathaayacn taytccnc araayathyt ngarwsncay 1860	
45	ttyaaymgna thwsnytnyt ngaraar	1887

<210> 4

<211> 918

<212> PRT
 <213> 未知

 <220>
 5 <223> 未知生物描述:灵长类; 推测为人类

 <400> 4
 Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Val Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu
 1 5 10 15
 10 Thr Thr Glu Ser Thr Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser
 20 25 30

 Pro Glu Ser Pro Val Val Gln Leu His Ser Asn Phe Thr Ala Val Cys
 15 35 40 45

 Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr
 50 55 60
 20 Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr
 65 70 75 80

 Ile Ile Asn Arg Thr Ala Ser Ser Val Thr Phe Thr Asp Ile Ala Ser
 85 90 95
 25 Leu Asn Ile Gln Leu Thr Cys Asn Ile Leu Thr Phe Gly Gln Leu Glu
 100 105 110

 Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
 30 115 120 125

 Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys
 130 135 140
 35 Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu
 145 150 155 160

 Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
 165 170 175
 40 Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
 180 185 190

 Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
 45 195 200 205

 Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
 210 215 220

	Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu	
	225	230 235 240
5	Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys	
		245 250 255
	Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile	
		260 265 270
10	Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp	
		275 280 285
	Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu	
		290 295 300
15	Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile	
		305 310 315 320
	Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile	
20		325 330 335
	Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys	
		340 345 350
25	Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val	
		355 360 365
	Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Ala	
		370 375 380
30	Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Leu Ala Thr Leu	
		385 390 395 400
	Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile	
35		405 410 415
	Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala	
		420 425 430
40	Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu	
		435 440 445
	Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala	
		450 455 460
45	Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr	
		465 470 475 480
	Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val	

	485	490	495
	Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala		
	500	505	510
5	Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys		
	515	520	525
10	Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val		
	530	535	540
	Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr		
	545	550	555
15	Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu		
	565	570	575
	Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met		
20	580	585	590
	Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Thr Phe		
	595	600	605
25	Thr Thr Pro Lys Phe Ala Gln Gly Glu Ile Glu Ala Ile Val Val Pro		
	610	615	620
	Val Cys Leu Ala Phe Leu Leu Thr Thr Leu Leu Gly Val Leu Phe Cys		
	625	630	635
30	Phe Asn Lys Arg Asp Leu Ile Lys Lys His Ile Trp Pro Asn Val Pro		
	645	650	655
	Asp Pro Ser Lys Ser His Ile Ala Gln Trp Ser Pro His Thr Pro Pro		
35	660	665	670
	Arg His Asn Phe Asn Ser Lys Asp Gln Met Tyr Ser Asp Gly Asn Phe		
	675	680	685
40	Thr Asp Val Ser Val Val Glu Ile Glu Ala Asn Asp Lys Lys Pro Phe		
	690	695	700
	Pro Glu Asp Leu Lys Ser Leu Asp Leu Phe Lys Lys Glu Lys Ile Asn		
	705	710	715
45	Thr Glu Gly His Ser Ser Gly Ile Gly Gly Ser Ser Cys Met Ser Ser		
	725	730	735
	Ser Arg Pro Ser Ile Ser Ser Ser Asp Glu Asn Glu Ser Ser Gln Asn		

	740	745	750
	Thr Ser Ser Thr Val Gln Tyr Ser Thr Val Val His Ser Gly Tyr Arg		
	755	760	765
5	His Gln Val Pro Ser Val Gln Val Phe Ser Arg Ser Glu Ser Thr Gln		
	770	775	780
	Pro Leu Leu Asp Ser Glu Glu Arg Pro Glu Asp Leu Gln Leu Val Asp		
10	785	790	795 800
	His Val Asp Gly Gly Asp Gly Ile Leu Pro Arg Gln Gln Tyr Phe Lys		
	805	810	815
15	Gln Asn Cys Ser Gln His Glu Ser Ser Pro Asp Ile Ser His Phe Glu		
	820	825	830
	Arg Ser Lys Gln Val Ser Ser Val Asn Glu Glu Asp Phe Val Arg Leu		
	835	840	845
20	Lys Gln Gln Ile Ser Asp His Ile Ser Gln Ser Cys Gly Ser Gly Gln		
	850	855	860
25	Met Lys Met Phe Gln Glu Val Ser Ala Ala Asp Ala Phe Gly Pro Gly		
	865	870	875 880
	Thr Glu Gly Gln Val Glu Arg Phe Glu Thr Val Gly Met Glu Ala Ala		
	885	890	895
30	Thr Asp Glu Gly Met Pro Lys Ser Tyr Leu Pro Gln Thr Val Arg Gln		
	900	905	910
	Gly Gly Tyr Met Pro Gln		
35	915		
	<210> 5		
	<211> 862		
40	<212> PRT		
	<213> 未知		
	<220>		
	<223> 未知生物描述:灵长类; 推测为人类		
45	<400> 5		
	Met Ala His Thr Phe Arg Gly Cys Ser Leu Ala Phe Met Phe Ile Ile		
	1	5	10 15

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

	275	280	285
	Glu Tyr Glu Phe Gln Ile Ser Ser Lys Leu His Leu Tyr Lys Gly Ser		
	290	295	300
5	Trp Ser Asp Trp Ser Glu Ser Leu Arg Ala Gln Thr Pro Glu Glu Glu		
	305	310	315 320
	Pro Thr Gly Met Leu Asp Val Trp Tyr Met Lys Arg His Ile Asp Tyr		
10		325	330 335
	Ser Arg Gln Gln Ile Ser Leu Phe Trp Lys Asn Leu Ser Val Ser Glu		
	340	345	350
15	Ala Arg Gly Lys Ile Leu His Tyr Gln Val Thr Leu Gln Glu Leu Thr		
	355	360	365
	Gly Gly Lys Ala Met Thr Gln Asn Ile Thr Gly His Thr Ser Trp Thr		
20	370	375	380
	Thr Val Ile Pro Arg Thr Gly Asn Trp Ala Val Ala Val Ser Ala Ala		
	385	390	395 400
	Asn Ser Lys Gly Ser Ser Leu Pro Thr Arg Ile Asn Ile Met Asn Leu		
25	405	410	415
	Cys Glu Ala Gly Leu Leu Ala Pro Arg Gln Val Ser Ala Asn Ser Glu		
	420	425	430
30	Gly Met Asp Asn Ile Leu Val Thr Trp Gln Pro Pro Arg Lys Asp Pro		
	435	440	445
	Ser Ala Val Gln Glu Tyr Val Val Glu Trp Arg Glu Leu His Pro Gly		
35	450	455	460
	Gly Asp Thr Gln Val Pro Leu Asn Trp Leu Arg Ser Arg Pro Tyr Asn		
	465	470	475 480
	Val Ser Ala Leu Ile Ser Glu Asn Ile Lys Ser Tyr Ile Cys Tyr Glu		
40	485	490	495
	Ile Arg Val Tyr Ala Leu Ser Gly Asp Gln Gly Gly Cys Ser Ser Ile		
	500	505	510
45	Leu Gly Asn Ser Lys His Lys Ala Pro Leu Ser Gly Pro His Ile Asn		
	515	520	525
	Ala Ile Thr Glu Glu Lys Gly Ser Ile Leu Ile Ser Trp Asn Ser Ile		
	530	535	540

	Pro Val Gln Glu Gln Met Gly Cys Leu Leu His Tyr Arg Ile Tyr Trp	
	545	550 555 560
5	Lys Glu Arg Asp Ser Asn Ser Gln Pro Gln Leu Cys Glu Ile Pro Tyr	
	565	570 575
	Arg Val Ser Gln Asn Ser His Pro Ile Asn Ser Leu Gln Pro Arg Val	
	580	585 590
10	Thr Tyr Val Leu Trp Met Thr Ala Leu Thr Ala Ala Gly Glu Ser Ser	
	595	600 605
	His Gly Asn Glu Arg Glu Phe Cys Leu Gln Gly Lys Ala Asn Trp Met	
15	610	615 620
	Ala Phe Val Ala Pro Ser Ile Cys Ile Ala Ile Ile Met Val Gly Ile	
	625	630 635 640
20	Phe Ser Thr His Tyr Phe Gln Gln Lys Val Phe Val Leu Leu Ala Ala	
	645	650 655
	Leu Arg Pro Gln Trp Cys Ser Arg Glu Ile Pro Asp Pro Ala Asn Ser	
	660	665 670
25	Thr Cys Ala Lys Lys Tyr Pro Ile Ala Glu Glu Lys Thr Gln Leu Pro	
	675	680 685
	Leu Asp Arg Leu Leu Ile Asp Trp Pro Thr Pro Glu Asp Pro Glu Pro	
30	690	695 700
	Leu Val Ile Ser Glu Val Leu His Gln Val Thr Pro Val Phe Arg His	
	705	710 715 720
35	Pro Pro Cys Ser Asn Trp Pro Gln Arg Glu Lys Gly Ile Gln Gly His	
	725	730 735
	Gln Ala Ser Glu Lys Asp Met Met His Ser Ala Ser Ser Pro Pro Pro	
	740	745 750
40	Pro Arg Ala Leu Gln Ala Glu Ser Arg Gln Leu Val Asp Leu Tyr Lys	
	755	760 765
	Val Leu Glu Ser Arg Gly Ser Asp Pro Lys Pro Glu Asn Pro Ala Cys	
45	770	775 780
	Pro Trp Thr Val Leu Pro Ala Gly Asp Leu Pro Thr His Asp Gly Tyr	
	785	790 795 800

	Leu	Pro	Ser	Asn	Ile	Asp	Asp	Leu	Pro	Ser	His	Glu	Ala	Pro	Leu	Ala
						805				810					815	
5	Asp	Ser	Leu	Glu	Glu	Leu	Glu	Pro	Gln	His	Ile	Ser	Leu	Ser	Val	Phe
				820					825					830		
	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	His	Pro	Leu	Thr	Phe	Ser	Cys	Gly	Asp	Lys	Leu
10				835				840					845			
	Thr	Leu	Asp	Gln	Leu	Lys	Met	Arg	Cys	Asp	Ser	Leu	Met	Leu		
		850					855					860				
15																
20																