

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 38/20 (2006.01)

C07K 14/54 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580030590.1

[43] 公开日 2007年9月5日

[11] 公开号 CN 101031316A

[22] 申请日 2005.7.29

[21] 申请号 200580030590.1

[30] 优先权

[32] 2004.7.29 [33] US [31] 60/592,069

[32] 2004.11.19 [33] US [31] 60/629,702

[32] 2005.4.29 [33] US [31] 60/676,047

[86] 国际申请 PCT/US2005/026951 2005.7.29

[87] 国际公布 WO2006/012644 英 2006.2.2

[85] 进入国家阶段日期 2007.3.12

[71] 申请人 津莫吉尼蒂克斯公司

地址 美国华盛顿

[72] 发明人 S·道尔 K·M·克鲁施尔

P·V·斯瓦库玛

W·R·金德斯沃格 陈仲良

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

代理人 胡国群

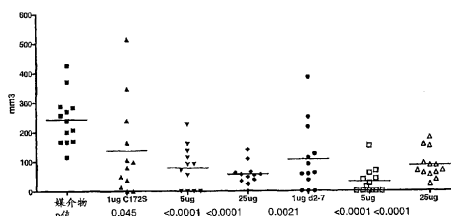
权利要求书9页 说明书135页 序列表155页  
附图3页

[54] 发明名称

IL-28 和 IL-29 治疗癌症和自身免疫性疾病的用途

[57] 摘要

使用 IL-28 和 IL-29 分子治疗患有癌症和自身免疫性疾病的患者的方法。IL-28 和 IL-29 分子包括具有和人 IL-28 或 IL-29 多肽序列的同源性的多肽和融合至具有 IL-28 和 IL-29 功能性活性的多肽的蛋白。该分子可用作单一疗法或和其他已知的癌症和/或自身免疫疗法一起使用。



1. 治疗癌症的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

2. 权利要求 1 的方法，其中所述多肽还包含聚乙二醇。

3. 权利要求 2 的方法，其中所述聚乙二醇通过末端氨基共价地连接至所述多肽。

4. 权利要求 2 的方法，其中所述聚乙二醇是大约 20kD、30kD 或 40 kD。

5. 权利要求 2 的方法，其中所述聚乙二醇是线性的或分枝的。

6. 权利要求 2 的方法，其中所述聚乙二醇是单甲氧基-PEG 丙醛。

7. 权利要求 1 的方法，其中所述患者是哺乳动物。

8. 权利要求 7 的方法，其中所述患者是人。

9. 治疗癌症的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、

慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

10. 治疗癌症的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；和

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

11. 治疗癌症的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性

淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

12. 权利要求 11 的方法，其中所述第二多肽是干扰素。

13. 权利要求 12 的方法，其中所述第二多肽是干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$  或干扰素  $\gamma$ 。

14. 抑制癌症的进展的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

15. 抑制癌症的进展的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

16. 延迟癌症发生的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

17. 延迟癌症发生的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞

性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

18. 减少癌症的严重度的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95%的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

19. 减少癌症的严重度的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95%的序列同一性的多肽；

第二多肽；

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、

胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

20. 抑制癌症的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

21. 抑制癌症的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；

药物可接受的媒介物；和

其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。

22. 抑制非何杰金氏淋巴瘤的至少一种病症或症状的方法，其包

括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述至少一种病症或症状选自颈部、腋窝或腹股沟中的淋巴结无痛肿胀、盗汗、不明原因的发烧、体重减轻和过度疲劳。

23. 抑制非何杰金氏淋巴瘤的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；和

药物可接受的媒介物；和

其中所述至少一种病症或症状选自颈部、腋窝或腹股沟中的淋巴结无痛肿胀、盗汗、不明原因的发烧、体重减轻和过度疲劳。

24. 抑制多发性骨髓瘤的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述至少一种病症或症状选自背部疼痛、身高减少、贫血、肾损伤、反复的呼吸道感染和高血钙症。



25. 抑制多发性骨髓瘤的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性的多肽；

第二多肽；和

药物可接受的媒介物；

其中所述至少一种病症或症状选自背部疼痛、身高减少、贫血、肾损伤、反复的呼吸道感染和高血钙症。

26. 抑制头颈部肿瘤的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，所述多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 95% 的序列同一性，其中所述至少一种病症或症状选自在数周内不能愈合的头部或颈部的溃疡或疮区域、吞咽困难、呼吸或说话困难、口中麻木的感觉、鼻出血、持续耳痛、听觉困难以及口或颈的肿胀或肿块。

27. 抑制头颈部肿瘤的至少一种病症或症状的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，所述制剂包含：

和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有

至少 95%的序列同一性的多肽;

第二多肽; 和

药物可接受的媒介物;

其中所述至少一种病症或症状选自在数周内不能愈合的头部或颈部的溃疡或疮区域、吞咽困难、呼吸或说话困难、口中麻木的感觉、鼻出血、持续耳痛、听觉困难以及口或颈的肿胀或肿块。

## IL-28 和 IL-29 治疗癌症和自身免疫性疾病的用途

### 发明背景

细胞因子通常刺激造血谱系细胞的增殖或分化，或参与身体的免疫和炎症反应。影响血细胞生成的细胞因子的示例是刺激红细胞的发育的促红细胞生成素 (EPO)、刺激巨核细胞谱系的细胞的发育的血小板生成素 (TPO)、和刺激嗜中性粒细胞的发育的粒细胞集落刺激因子 (G-CSF)。这些细胞因子用于在遭受贫血症、血小板减少症和中性粒细胞减少症或接受癌症化学疗法的患者中恢复正常的血细胞水平。

白细胞介素是介导免疫应答的细胞因子的家族。免疫应答的中心是T细胞，该细胞产生许多细胞因子和针对抗原的适应性免疫。已将由T细胞产生的细胞因子分类为1类和2类(Kelso, A. *Immun. Cell Biol.* 76: 300-317, 1998)。1类细胞因子包括 IL-2、IFN- $\gamma$ 、LT- $\alpha$ ，其参与炎症反应、病毒免疫、细胞内寄生物免疫和同种异体移植排斥。2类细胞因子包括IL-4、IL-5、IL-6、IL-10和IL-13，参与体液反应、蠕虫免疫和过敏反应。1类和2类之间共有的细胞因子包括IL-3、GM-CSF和TNF- $\alpha$ 。一些证据表明产生1类和2类的T细胞群体优选地迁移入不同类型的发炎组织。

免疫系统是人体抵抗由病原体即细菌、病毒、真菌等引起的疾病，以及抵抗由身体的自身细胞和组织的异常生长（即癌症肿瘤）导致的疾病的主要防御系统。正常情况下，免疫系统能够区分身体的正常细胞或“自身”和外来病原体或异常细胞或“非自身”。免疫系统避免和自身身体反应的过程称为耐受。有时，免疫系统丧失识别“自身”为正常的能力，随后产生抗组织或细胞的反应，导致耐受的丧失，产生自身免疫状态。由自身免疫性引起的病理学通常具有严重的临床后果，其是世界上特别是发达国家中的其中一个主要健康问题。

自身免疫性疾病的一个示例是多发性硬化症 (MS)，其是中枢神

神经系统 (CNS) 的进行性疾病。在MS患者中，患者自身的免疫系统破坏髓鞘质，其是围绕和使大脑及脊髓中的神经纤维绝缘的保护层。髓鞘的破坏导致神经传递的破坏和形成瘢痕破坏神经纤维。最终的结果是在受影响的患者中表现许多症状，包括麻刺感或麻木感、言语不清、视觉损伤、眩晕等。在疾病的过程中，四肢无力，导致行动问题，在最严重的情况下，导致四肢瘫痪。基于临床诊断，目前存在四种类型的MS分类，其基于大脑或脊髓受影响的部分、严重度、发作频率等。

MS目前的治疗法包括皮质类固醇药物（以减轻急性发作的症状）以及其他药物如IFN- $\beta$ 和Novantrone®。Novantrone®已被批准用于晚期MS患者，特别是还未进行其他治疗法的患者。Novantrone®对大多数细胞具有细胞毒性，从而如所预期的，具有许多副作用并在最大治疗效果所需要的剂量上是有毒的。IFN- $\beta$ 也是有毒的，要限制该药在

MS患者中的剂量。此外，已显示这些药物的连续使用使患者对进一步使用同一药物不敏感，因此限制了使用这些药物作为长期治疗剂的能力。

从治疗的观点来看，特别吸引人的是干扰素（由De Maeyer和De Maeyer-Guignard, “Interferons,” in *The Cytokine Handbook*, 第3版, Thompson (ed.), pages 491-516 (Academic Press Ltd. 1998), 和由Walsh, *Biopharmaceuticals: Biochemistry and Biotechnology*, pages 158-188 (John Wiley & Sons 1998)提供关于干扰素的综述)。干扰素表现了各种生物学活性，并用于治疗某些自身免疫性疾病、特定的癌症和增强抗传染因子（包括病毒、细菌、真菌和原生动物的免疫应答。目前，已鉴定了6种形式的干扰素，其已被分为两大类。所谓的“I类”IFN包括IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\omega$ 、IFN- $\delta$ 和干扰素- $\tau$ 。目前，IFN- $\gamma$ 和IFN- $\alpha$ 的一个亚类是仅有的II类IFN。

I类IFN，被认为来源于相同的祖先基因，已保留足够的相似结构以通过相同的细胞表面受体发挥作用。人IFN- $\alpha/\beta$ 受体的 $\alpha$ 链包含具有II类细胞因子受体的特征的细胞外N端结构域。IFN- $\gamma$ 和I类IFN或II类IFN- $\alpha$ 亚类不共有显著的同源性，但和I类IFN共有许多生物学活性。

临床医生通过使用干扰素治疗广泛的病症来利用该蛋白的多种活性。例如，IFN- $\alpha$ 的一种形式已在超过50个国家中被批准用于治疗病症例如毛细胞性白血病、肾细胞癌、基细胞癌、恶性黑色素瘤、AIDS相关的卡波西氏肉瘤、多发性骨髓瘤、慢性髓细胞性白血病、非何杰金淋巴瘤、喉乳头状瘤病、蕈样真菌病、尖锐湿疣、慢性乙型肝炎、丙型肝炎、慢性丁型肝炎和慢性非甲型、非乙型/丙型肝炎。美国食品与药品管理局已批准了使用IFN- $\beta$ 治疗多发性硬化症(神经系统的慢性疾病)。使用IFN- $\gamma$ 治疗慢性肉芽肿病，其中干扰素增强患者破坏传染性细菌、真菌和原生生物病原体的免疫应答。临床研究也表明IFN- $\gamma$ 可用于治疗AIDS、利什曼病和瘤型麻风。

IL-28A、IL-28B和IL-29构成近年来发现的新的蛋白家族，所述蛋白具有和I类干扰素的序列同源性以及和IL-10的基因组同源性。在共同拥有的PCT申请WO 02/086087和Sheppard等人，*Nature Immunol.* 4: 63-68, 2003 (两者都在此引用作为参考)中全面描述了该新家族。在功能上，IL-28和IL-29在其诱导细胞中的抗病毒状态的能力上和I类INF相似，但与I类IFN不同，其不表现抗某些B细胞系的抗增殖活性。

可激活即通过抗原或其他刺激物激活成熟T细胞，以产生，例如，细胞因子、生物化学信号转导分子或进一步影响T细胞群体命运的受体。

B细胞可通过其细胞表面上的受体(包括B细胞受体)和进行辅助细胞的功能(例如产生细胞因子)的其他辅助分子来激活。B细胞的激活可导致这样的抗体产生，该抗体结合肿瘤细胞上的免疫原性细胞表面蛋白和启动补体介导的细胞裂解、建立NK细胞或巨噬细胞至肿瘤的桥梁以进行抗体依赖性细胞介导的细胞毒反应(ADCC)、通过阻止存活或诱导细胞凋亡信号干扰肿瘤细胞生长或通过APC促进肿瘤抗原的吸收和呈递来增强免疫原性。因此，体内增强B细胞应答具有提高抗肿瘤活性的潜能(Blattman等人，*Science*, 305: 200-205 (July 9, 2004))。

因此，可提高天然宿主抗肿瘤诱导或进展的防御能力的试剂可增

加患者的好转率和增加患者的存活率，而无以前的方法的细胞毒性副作用。

本发明提供了通过施用可用作单一疗法或和化学疗法、放射疗法、小分子或其他生物制剂一起使用的 IL-28A、IL-28B 或 IL-29 组合物来治疗实体瘤、淋巴瘤和自身免疫病症的这些方法。根据此处的教导，这些用途和其他用途对于本领域技术人员来说应当是很显然的。

#### 附图概述

图 1 显示在第 5 和第 12 天用小鼠 IL-28 质粒注射的小鼠在体内抑制 RENCA 肿瘤的生长。

图 2 显示用小鼠 IL-28 质粒、小鼠 IFN- $\alpha$  质粒和 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S 多肽注射的小鼠在体内抑制 RENCA 肿瘤生长。在第 5 天和 12 天注射质粒。从第 5 天至第 21 天每隔一天提供蛋白。

图 3 显示用 1  $\mu$ g、5  $\mu$ g 和 25  $\mu$ g N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S 多肽和 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽注射的小鼠在体内抑制 RENCA 肿瘤的生长。从第 5 至 23 天每隔一天提供所有蛋白。

图 4 显示当肿瘤体积达到 100mm<sup>3</sup> 时，每隔一天用载体 (■)、5  $\mu$ g 通过 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽 (▼)、和 25  $\mu$ g 通过 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛 (◆) 的人 IL-29 C172S d2-7 多肽注射 20 天的小鼠，当肿瘤达到 100mm<sup>3</sup> 时，每天用 5  $\mu$ g 通过 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽注射 20 天的小鼠 (●)，和从肿瘤注射的第 5 天开始，每隔一天预防性地施用 5  $\mu$ g 通过 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽，进行 20 天的小鼠 (▲)。

图 5A 显示从第 0 天开始，然后每隔一天经腹膜内注射 25  $\mu$ g 通过 N 末端缀合至 20kD 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽 10 次的小鼠在 E. G7 胸腺瘤模型中延长了小鼠的存活期。

图 5B 显示从第 0 天开始, 然后每隔一天用 25  $\mu\text{g}$  通过末端连接至 20k 甲氧基-聚乙二醇丙醛的人 IL-29 C172S d2-7 多肽或载体经腹膜内注射 10 次的小鼠在 E. G7 胸腺瘤模型中抑制肿瘤生长。

### 本发明的描述

在下列的描述中, 广泛地使用了许多术语。提供下列的定义以帮助理解本发明。

除非另外指出, “a”、“an”、“the”和“至少一”可交换使用并且表示一或超过一。

此处使用的术语“亲和标记物”是指可附着至第二多肽以提供第二多肽的纯化或检测或提供用于第二多肽附着至基质的位点的多肽片段。原则上, 可获得其抗体或其他特异性结合试剂的任何肽或蛋白可用作亲和标记物。亲和标记物包括多组氨酸片段、A蛋白 (Nilsson 等人, EMBO J. 4:1075, 1985; Nilsson 等人, Methods Enzymol. 198:3, 1991)、谷胱甘肽 S 转移酶 (Smith 和 Johnson, Gene 67:31, 1988)、Glu-Glu 亲和标记物 (Grussenmeyer 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:7952-4, 1985)、P 物质、Flag™ 肽 (Hopp 等人, Biotechnology 6:1204-10, 1988)、链霉抗生物素蛋白结合肽或其他抗原性表位或结合结构域。一般参见, Ford 等人, Protein Expression and Purification 2: 95-107, 1991。可从商业提供商商购获得编码亲和标记物的 DNA (例如, Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)。

此处所用的术语“等位变体”是指占据相同染色体基因座的基因的两种或更多种可选择的形式中的任一种形式。等位变异天然地通过突变产生, 其可导致群体中的表型多态现象。基因突变可以是沉默的 (被编码的多肽中无变化) 或可编码具有变异的氨基酸序列的多肽。术语等位变体此处也用于表示由基因的等位变体编码的蛋白。

术语“氨基末端”和“羧基末端”此处用于表示多肽内的位点。当上下文允许时, 这些术语用于, 参照多肽的特定序列或部分, 表示临近或相对位置。例如, 位于多肽内的参照序列的羧基末端的某些序

列靠近参照序列的羧基末端，但不必位于完整的多肽的羧基末端。

术语“癌症”或“癌细胞”此处用于表示在瘤中发现的组织或细胞，所述瘤具有将其和正常组织或组织细胞区分开的特征。在这些特征中，包括但不限于：退行性变化的程度、形状上的不规则、细胞轮廓的不清楚、核的大小、细胞核或细胞质结构的变化、其他表型变化、表示癌性或癌前状态的细胞蛋白的存在、增加的有丝分裂数目和转移的能力。关于“癌症”的术语包括癌、肉瘤、肿瘤、上皮瘤、白血病、息肉和硬癌（scirrus）、转化、赘生物等。

术语“互补物/反互补物对”表示在合适的条件下形成非共价缔合的、稳定的配对的非相同部分。例如，生物素和抗生物素蛋白（或链霉抗生物素）是互补物/反互补物对的原型成员。其他示例性互补物/反互补物对包括受体/配体对、抗体/抗原（或半抗原或表位）对、有义/反义多核苷酸对等。当想要互补物/反互补物对的随后的解离时，优选地互补物/反互补物对具有 $<10^9 \text{ M}^{-1}$ 的结合亲和力。

术语“多核苷酸分子的互补物”是指具有互补碱基序列和相反方向（当和参照序列相比时）的多核苷酸分子。

术语“简并核苷酸序列”是指包括一个或更多个简并密码子（当和编码多肽的参照多核苷酸相比时）的核苷酸序列。简并密码子包含不同的核苷酸三联体，但编码相同的氨基酸残基（即，GAU和GAC三联体都编码Asp）。

术语“表达载体”用于表示这样的线性或环状的DNA分子，即其包含有效地连接至提供其转录的另外的片段的编码目的多肽的片段。这些另外的片段包括启动子和终止子序列，也可包括一个或多个复制起始位点、一个或多个选择标记物、增强子、聚腺苷酸信号等。表达载体通常来源于质粒或病毒DNA，或可同时包含两者的元件。

术语“分离的”，当用于多核苷酸时，是指已将多核苷酸从其天然遗传环境分开，从而不含有外来的或不想要的编码序列，并以适合在基因工程蛋白生产系统中使用的形式存在。这些分离的分子是从其天然环境中分离的分子，其包括cDNA和基因组克隆。本发明的分离的



DNA分子不含通常和其结合的其他基因，但可包含天然发生的5'和3'非翻译区例如启动子和终止子。结合的区域鉴定对于本领域技术人员来说是很明了的(参见例如，Dyran和Tijan, *Nature* 316: 774-78, 1985)。

“分离的”多肽或蛋白是在其非天然环境(例如在血液和动物组织之外)的条件下发现的多肽或蛋白。在优选的形式中，分离的多肽基本上不含其他多肽，特别是动物来源的其他多肽。优选地以高度纯化的形式即大于95%的纯度，更优选地大于99%的纯度提供多肽。当在本说明书中使用时，术语“分离的”不排除相同的多肽以可选择的物理形式，例如二聚体或可选择地糖基化或经衍生的形式存在。

术语“水平”，当指免疫细胞，例如NK细胞、T细胞，特别是细胞毒性T细胞、B细胞等时，增加的水平是指增加的细胞数目或增强的细胞功能活性。

术语“赘生性”，当指细胞时，表示进行新的和非正常增殖的细胞，特别是其中增殖不受控制和进展，导致赘生物的组织中的细胞。赘生性细胞可以是恶性的，即侵袭性的和转移性的，或良性的。

术语“有效地连接的”，当指DNA片段时，表示以这样的方式排列片段以使其发挥想要的功能，例如，在启动子中起始转录并通过编码区段进行直至终止子。

“多核苷酸”是从5'至3'末端阅读的脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸碱基的单链或双链聚合物。多核苷酸包括RNA和DNA，其可从天然来源分离，体外合成、或通过天然和合成的分子的组合制备。多核苷酸的大小以碱基对(缩写为“bp”)、核苷酸(“nt”)或千碱基(“kb”)表示。在上下文允许的地方，后两个术语可描述单链或双链的多核苷酸。当术语用于双链分子时，其用于表示总的长度并且可理解为和术语“碱基对”的意思相同。本领域技术人员认识到，双链多核苷酸的两条链可在长度上稍微不同，认识到由于酶促切割的结果，其末端可有缺口；因此双链多核苷酸内的核苷酸可以不配对。

“多肽”是通过肽键连接的氨基酸残基的聚合物，无论是天然或

合成的聚合物。少于大约10个氨基酸残基的多肽一般称为“肽”。

就其本领域内公认的意义，此处所用的术语“启动子”是指这样的基因的部分，该部分包含提供RNA聚合酶的结合和转录的起始的DNA序列。启动子序列一般，但不总是，发现于基因的5'非编码区。

“蛋白”是包含一种或多种多肽链的大分子。蛋白也可包含非肽组分，例如糖基。糖和其他非肽取代物可通过产生蛋白的细胞被加入至蛋白，其可随细胞类型的变化而变化。此处根据其氨基酸主链结构定义蛋白；取代物例如糖基一般不指明，但其可以存在。

术语“受体”是指结合生物活性分子（即，配体）并介导该配体对细胞的作用的细胞结合蛋白。膜结合受体的特征在于包含细胞外配体结合结构域和通常参与信号转导的细胞内效应结构域的多个肽结构。配体对受体的结合导致受体的构象变化，这引起效应结构域和细胞中的其他分子之间的相互作用。该相互作用导致细胞代谢中的改变。和受体-配体相互作用关联的代谢事件包括基因转录、磷酸化、去磷酸化、环AMP产量的增加、细胞钙的动员、膜脂质的动员、细胞粘附、肌醇脂质的水解和磷脂的水解。一般地，受体可以是膜结合受体、胞质受体或细胞核受体；单体（例如，促甲状腺激素受体、 $\beta$ -肾上腺素能受体）或多聚体（例如，PDGF受体、生长激素受体、IL-3受体、GM-CSF受体、G-CSF受体、促红细胞生成素受体和IL-6受体）。

术语“分泌信号序列”是指编码这样的多肽（“分泌肽”）的DNA序列，该肽作为更大的多肽的组分，指导该更大的多肽通过其中合成其的细胞中的分泌途径。所述更大的多肽通常在通过分泌途径的运输过程中被切割以除去分泌肽。

可将通过不精确的分析方法（例如，凝胶电泳）确定的聚合物的分子量和长度理解为近似值。当这些值表示为“大约”X或“大致”X时，所述的X值理解为精确值 $\pm 10\%$ 。

“zcyto20”、“zcyto21”、“zcyto22”分别是以前对人IL-28A、人IL-29和人IL-28B的名称，此处可互换使用。IL-28A的核苷酸和氨基酸序列分别示于SEQ ID NO: 1和SEQ ID NO: 2。IL-29的核苷酸和氨基酸

序列分别示于 SEQ ID NO: 3和SEQ ID NO: 4。IL-28B的核苷酸和氨基酸序列分别示于SEQ ID NO: 5和SEQ ID NO: 6。在属于ZymoGenetics, Inc.的PCT申请W0 02/086087（此处引用作为参考）中全面地描述了这些序列。

“zcyto24”和“zcyto25”是小鼠IL-28的以前的名称，其分别示于SEQ ID NO: 7、8、9、10。在属于ZymoGenetics, Inc.的PCT申请W0 02/086087（此处引用作为参考）中全面地描述了所述多核苷酸和多肽。

“zcytor19”是IL-28受体 $\alpha$ -亚基的以前的名称，其示于SEQ ID NO: 11中。在Schering, Inc.的PCT申请W0 02/20569和属于ZymoGenetics, Inc的W0 02/44209（此处引用作为参考）中全面地描述了所述多核苷酸和多肽。“IL-28受体”表示形成异二聚体受体的IL-28  $\alpha$ 亚基和CRF2-4亚基。

所有参考资料以其全文在此引用作为参考。

#### A. IL-28、IL-29 和其受体

当指IL-28时，术语表示IL-28A和IL-28B。以前IL-28A被称为zcyto20（SEQ ID NO: 1和2），所述术语此处可互换使用，IL-29被称为zcyto21（SEQ ID NO: 3和4），此处所述术语可互换使用，IL-28B被称为zcyto22（SEQ ID NO: 5和6），此处该术语可互换使用（参见，PCT申请W0 02/086087和Sheppard等人，同上）。IL-28的小鼠直向同源物（ortholog）以前被称为zcyto24（SEQ ID NO: 7和8）、zcyto25（SEQ ID NO: 9和10）。

野生型IL-28A基因编码SEQ ID NO: 2中所示的200个氨基酸的多肽。可预测IL-28A的信号序列为包含SEQ ID NO: 2的氨基酸残基-25(Met)至残基-1 (Ala)的序列。IL-28A的成熟肽始于氨基酸残基1 (Val)。如下预测IL-28A螺旋：由氨基酸残基24 (Leu)至40 (Glu)界定螺旋A；由氨基酸残基58 (Thr)至65 (Gln)界定螺旋B；由氨基酸残基69 (Arg)至85 (Ala)界定螺旋C；由氨基酸残基95 (Val)至114 (Ala)界定

螺旋D; 由氨基酸残基126 (Thr)至142 (Lys)界定螺旋E; 和由氨基酸残基148 (Cys)至169 (Ala)界定螺旋E; 如SEQ ID NO: 2中所示的。

野生型IL-29基因编码SEQ ID NO: 4中所示的200个氨基酸的多肽。预测IL-29的信号序列为包含SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 119或SEQ ID NO: 121的氨基酸残基-19 (Met)至氨基酸残基-1 (Ala)的序列。IL-29的成熟肽始于氨基酸残基1 (Gly)。已在PCT申请W0 02/02627中描述了IL-29。如下预测IL-29螺旋: 由氨基酸残基30 (Ser)至44 (Leu)界定螺旋A; 由氨基酸残基57 (Asn)至65 (Val)界定螺旋B; 由氨基酸残基70 (Val)至85 (Ala)界定螺旋C; 由氨基酸残基92 (Glu)至114 (Gln)界定螺旋D; 由氨基酸残基118 (Thr)至139 (Lys)界定螺旋E; 和由氨基酸残基144 (Gly)至170 (Leu)界定螺旋F; 如SEQ ID NO: 4中所示的。

野生型IL-28B基因编码SEQ ID NO: 6中所示的200个氨基酸的多肽。可预测IL-28B的信号序列为包含SEQ ID NO: 6的氨基酸残基-21 (Met)至氨基酸残基-1 (Ala)的序列。IL-28B的成熟肽始于氨基酸残基1 (Val)。如下预测IL-28B螺旋: 由氨基酸残基8 (Leu)至41 (Glu)界定螺旋A; 由氨基酸序列58 (Trp)至65 (Gln)界定螺旋B; 由氨基酸残基69 (Arg)至86 (Ala)界定螺旋C; 由氨基酸序列95 (Gly)至114 (Ala)界定螺旋D; 由氨基酸序列126 (Thr)至142 (Lys)界定螺旋E; 和由氨基酸残基148 (Cys)至169 (Ala)界定螺旋F; 如SEQ ID NO: 6中所示的。

本发明在SEQ ID NO: 1、2、3、4、5和6所示的IL-28和IL-29野生型序列中提供了突变, 所述突变导致单一形式的IL-28或IL-29分子的表达。因为形式的不均一性据认为是多种分子内二硫键模式的结果, 本发明的特定实施方案包括对野生型IL-28和IL-29序列内的半胱氨酸残基的突变。当在大肠杆菌 (*E. coli*) 中表达IL-28和IL-29时, 存在N末端甲硫氨酸。例如, SEQ ID NO: 12-17显示了当N末端Met存在时的IL-28A、IL-29和IL-28B的核苷酸和氨基酸残基的编号。表1显示了野生型IL-28A、IL-28B和IL-29的形成分子内二硫键的半胱氨酸对的可能组合。

表1

IL-28A SEQ ID NO: 2	C <sub>16</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>48</sub> -C <sub>148</sub>	C <sub>50</sub> -C <sub>148</sub>	C <sub>167</sub> -C <sub>174</sub>	C <sub>16</sub> -C <sub>48</sub>	C <sub>16</sub> -C <sub>50</sub>	C <sub>48</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>50</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>115</sub> -C <sub>148</sub>
Met IL-28A SEQ ID NO: 13	C <sub>17</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>49</sub> -C <sub>149</sub>	C <sub>51</sub> -C <sub>149</sub>	C <sub>168</sub> -C <sub>175</sub>	C <sub>17</sub> -C <sub>49</sub>	C <sub>17</sub> -C <sub>51</sub>	C <sub>49</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>51</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>116</sub> -C <sub>149</sub>
IL-29 SEQ ID NO: 4	C <sub>15</sub> -C <sub>112</sub>	C <sub>49</sub> -C <sub>145</sub>	C <sub>112</sub> -C <sub>171</sub>						
Met IL-29 SEQ ID NO: 15	C <sub>16</sub> -C <sub>113</sub>	C <sub>50</sub> -C <sub>146</sub>	C <sub>113</sub> -C <sub>172</sub>						
IL-28B SEQ ID NO: 6	C <sub>16</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>48</sub> -C <sub>148</sub>	C <sub>50</sub> -C <sub>148</sub>	C <sub>167</sub> -C <sub>174</sub>	C <sub>16</sub> -C <sub>48</sub>	C <sub>16</sub> -C <sub>50</sub>	C <sub>48</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>50</sub> -C <sub>115</sub>	C <sub>115</sub> -C <sub>148</sub>
Met IL-28B SEQ ID NO: 17	C <sub>17</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>49</sub> -C <sub>149</sub>	C <sub>51</sub> -C <sub>149</sub>	C <sub>168</sub> -C <sub>175</sub>	C <sub>17</sub> -C <sub>49</sub>	C <sub>17</sub> -C <sub>51</sub>	C <sub>49</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>51</sub> -C <sub>116</sub>	C <sub>116</sub> -C <sub>149</sub>

本发明的多核苷酸和多肽分子可在存在于野生型IL-28A、IL-29或IL-28B分子的一个或多个半胱氨酸上具有突变，但仍保持一些此处描述的生物学活性。表2举例说明了示例性半胱氨酸突变体，特别是半胱氨酸(C)至丝氨酸(S)的点突变。

表2

IL-28A C48S	SEQ ID NO: 19
Met IL-28A C49S	SEQ ID NO: 21
IL-28A C50S	SEQ ID NO: 23
Met IL-28A C51S	SEQ ID NO: 25
IL-29 C171S	SEQ ID NO: 27
Met IL-29 C172S	SEQ ID NO: 29

已显示家族的所有成员都结合相同的II类细胞因子受体IL-28R。IL-28  $\alpha$ 亚基以前称为zcytor19受体。尽管不想被理论束缚，但这些分子似乎通过相同的途径借助于IL-28R受体传导信号。在共同拥有的PCT专利申请WO 02/44209（此处引用作为参考）、Sheppard等人，同上、Kotenko等人，Nature Immunol. 4:69-77, 2003和PCT WO/03/040345中描述了IL-28受体。IL-28R是II类细胞因子受体的成员，其特征在于在其细胞外结构域中存在一个或多个半胱氨酸受体组

件(CRM)。其他II类细胞因子受体包括 zcytor11 (共同拥有的美国专利号5,965,704)、CRF2-4 (Genbank检索号Z17227)、IL-10R (Genbank检索号U00672和NM\_001558)、DIRS1、zcytor7 (共同拥有的美国专利号5,945,511)和组织因子。IL-28受体,和所有已知的II类受体(除了干扰素 $\alpha/\beta$ 受体 $\alpha$ 链以外)一样,在其细胞外结构域中只具有单个II类CRM。

也根据其组件螺旋的长度将四螺旋束细胞因子(Four-helical bundle cytokines)分类。“长螺旋”形式细胞因子一般由24-30个残基之间的螺旋构成,包括IL-6、睫状神经营养因子(CNTF)、白血病抑制因子(LIF)和人生长激素(hGH)。“短螺旋”形式细胞因子一般由18-21个残基之间的螺旋构成,包括IL-2、IL-4和GM-CSF。使用CNTF和IL-6的研究证明可将CNTF螺旋和IL-6中的等同的螺旋交换,从而为嵌合体提供结合CNTF的特性。因此,四螺旋细胞因子的功能结构域似乎可基于结构同源性而不论序列同一性来确定,并且其可在嵌合体中保持功能完整性(Kallen等人, *J. Biol. Chem.* 274:11859-11867, 1999)。因此,IL-28和IL-29多肽可用于和特别是其他干扰素一起制备嵌合融合分子,从而确定和调控受体结合性特异性。其中特别吸引人的是组合来自干扰素和细胞因子例如INF- $\alpha$ 、IL-10、和人生长激素的螺旋和环状结构域的融合蛋白。

本发明提供了多核苷酸分子,包括编码IL-28或IL-29多肽的DNA和RNA分子。例如,本发明提供了编码此处描述的IL-28A C48S、Met IL-28A C49S、IL-28A C50S、Met IL-28A C51S、IL-29 C171S和Met IL-29 C172S多肽的简并核苷酸序列。本领域技术人员容易地认识到,考虑到遗传密码子的简并性,在这些多核苷酸分子中可能存在相当多的序列变异。SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35是分别包含编码IL-28A C48S、Met IL-28A C49S、IL-28A C50S、Met IL-28A C51S、IL-29 C171S和Met IL-29 C172S的所有DNA的简并DNA序列。本领域技术人员将认识到,通过用U替代T,SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35的简并序列也提供了编码SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35的所有RNA序列,从而本

发明也涉及所述RNA序列。

zcyto20或IL-28A基因编码如SEQ ID NO: 2中所示的205个氨基酸的多肽。IL-28A的信号序列包含SEQ ID NO: 2的氨基酸残基-25 (Met)至氨基酸残基-1 (Ala)，或SEQ ID NO: 2的氨基酸残基-21 (Met)至氨基酸残基-1 (Ala)。IL-28A的成熟肽始于SEQ ID NO: 2的氨基酸残基1 (Val)。如下预测Zcyto20螺旋：由氨基酸残基52 (Ala)至66 (Leu)界定螺旋A；由氨基酸残基78 (Arg)至87 (Val)界定螺旋B；由氨基酸残基91 (Pro)至108 (Thr)界定螺旋C；由氨基酸残基116 (Val)至138 (Ser)界定螺旋D；由氨基酸残基151 (Thr)至172 (Lys)界定螺旋E；和由氨基酸残基177 (Gly)至197 (Cys)界定螺旋F；如SEQ ID NO: 2中所示的。基于多重比对的Zcyto20的进一步分析预测，氨基酸残基37和136、69和197、以及71和178(如SEQ ID NO: 2中所示)上半胱氨酸可形成分子内二硫键。编码此处描述的 Zcyto20多肽区域、结构域、基元、残基和序列的对应的多核苷酸示于SEQ ID NO: 1中。当编码成熟多肽的多核苷酸序列在原核系统例如大肠杆菌中表达时，可以不需要分泌信号序列，N末端Met存在，导致多肽例如SEQ ID NO: 13中所示的多肽的表达。

本发明的IL-28A多肽也包括成熟多肽的第2半胱氨酸C2上的突变。例如，来自SEQ ID NO: 2的多肽的N端的C2是氨基酸位点48或，如果在大肠杆菌中表达，位点49（加上N末端Met）上的半胱氨酸（参见，例如，SEQ ID NO: 13）。该第2半胱氨酸（其中有7个，如IL-28B）或IL-28A的C2可突变成不形成二硫键的任何氨基酸，例如突变成丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、缬氨酸或天冬酰胺。本发明的IL-28A C2突变体分子，例如SEQ ID NO: 18和20中所示的多核苷酸分子，包括分别编码SEQ ID NO: 19和21中所示的IL-28A C2突变多肽的DNA和RNA分子。本发明的另外的IL-28A C2突变体分子包括SEQ ID NO: 36和37所示的多肽。

除了IL-28A C2突变体，本发明也包括在成熟的多肽的第3半胱氨酸位点C3上包含突变的IL-28A多肽。例如，来自SEQ ID NO: 2的多肽的N端的C3是位点50或，如果在大肠杆菌中表达，位点51（加上N末端Met）上的半胱氨酸（参见，例如，SEQ ID NO: 13）。本发明的IL-28A C3突变

分子包括,例如,SEQ ID NO: 22和24中显示的多核苷酸分子,包括分别编码SEQ ID NO: 23和25中所示的IL-28A C3突变多肽的DNA和RNA分子。本发明的其他IL-28A C3突变分子包括SEQ ID NO: 38和39中所示的多肽。

本发明的IL-28A多肽包括,例如分别由SEQ ID NO: 1、12、18、20、22和24所示的IL-28A多核苷酸分子编码的SEQ ID NO: 2、13、19、21、23、25。此外,本发明也提供了SEQ ID NO: 36、37、38和39中所示的IL-28A多肽。

Zcyto22或IL-28B基因编码SEQ ID NO: 6中所示的205个氨基酸的多肽。IL-28B的信号序列包含SEQ ID NO: 6的氨基酸残基-25 (Met)至氨基酸残基0 (Ala),或可选择地SEQ ID NO: 6的氨基酸残基-21 (Met)至氨基酸残基0 (Ala)。IL-28B的成熟肽始于SEQ ID NO: 6的氨基酸残基1 (Val)。如下预测IL-28B的螺旋:由氨基酸残基8 (Leu)至41 (Glu)界定螺旋A;由氨基酸残基58 (Trp)至65 (Gln)界定螺旋B;由氨基酸残基69 (Arg)至86 (Ala)界定螺旋C;由氨基酸残基95 (Gly)至114 (Ala)界定螺旋D;由氨基酸残基126 (Thr)至142 (Lys)界定螺旋E;和由氨基酸残基148 (Cys)至169 (Ala)界定螺旋F;如SEQ ID NO: 6中所示的。当在原核生物系统例如大肠杆菌中表达编码成熟多肽的多核苷酸序列时,可以不需要分泌信号序列,但存在N末端Met,导致多肽例如SEQ ID NO: 17中所示的多肽的表达。

本发明的IL-28B多肽也包含成熟多肽的第2半胱氨酸C2上的突变。例如,来自SEQ ID NO: 6的多肽的N端的C2是氨基酸位点48或,如果在大肠杆菌中表达,位点49(加上N末端Met)上的半胱氨酸(参见,例如,SEQ ID NO: 17)。该第2半胱氨酸(其中有7个半胱氨酸,如IL-28A)或IL-28B的C2可突变成不形成二硫键的任一氨基酸,例如,突变成丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、缬氨酸或天冬酰胺。本发明的IL-28B C2突变分子包括,例如,SEQ ID NO: 122和124中所示的多核苷酸,包括分别编码SEQ ID NO: 123和125中所示的IL-28B C2突变多肽的DNA和RNA分子。本发明的其他IL-28B C2突变分子包括SEQ ID NO: 130和132中所示



的多核苷酸分子,所述多核苷酸分子包括分别编码SEQ ID NO: 131和133中所示的IL-28B C2突变多肽的DNA和RNA分子(PCT申请WO 03/066002 (Kotenko等人))。

除了IL-28B C2突变体外,本发明也包括在成熟多肽的第3半胱氨酸位点C3上包含突变的IL-28B多肽。例如,来自SEQ ID NO: 6的多肽的N端的C3是位点50或,如果在大肠杆菌中表达,位点51(加上N末端Met)上的半胱氨酸(参见,例如,SEQ ID NO: 17)。本发明的IL-28B C3突变分子包括,例如,SEQ ID NO: 126和128中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 127和129中所示的IL-28B C3突变多肽的DNA和RNA分子(PCT公开号WO 03/066002 (Kotenko等人))。本发明的其他IL-28B C3突变分子包括如SEQ ID NO: 134和136中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 135和137中所示的IL-28B C3突变多肽的DNA和RNA分子(PCT公开号WO 03/066002 (Kotenko等人))。

本发明的IL-28B多肽包括,例如,分别由SEQ ID NO: 5、16、122、124、126、128、130、132、134和136中所示的IL-28B多核苷酸分子编码的SEQ ID NO: 6、17、123、125、127、129、131、133、135和137。

本发明的Zcyto21或IL-29多肽也包括成熟的多肽的第5半胱氨酸C5上的突变。例如,来自SEQ ID NO: 4的多肽的N端C5是位点171或,如果在大肠杆菌中表达时,位点172(加上N末端Met)上的半胱氨酸(参见,例如,SEQ ID NO: 15)。该IL-29的第5半胱氨酸或C5可突变成不形成二硫键的任何氨基酸,例如突变成丝氨酸、丙氨酸、苏氨酸、缬氨酸或天冬酰胺。这些IL-29 C5突变多肽具有C1(SEQ ID NO: 4的Cys15)/C3(SEQ ID NO: 4的Cys112)和C2(SEQ ID NO: 4的Cys49)/C4(SEQ ID NO: 4的Cys145)的二硫键模式。本发明的其他IL-29 C5突变分子包括SEQ ID NO: 26、28、82、84、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158和160中所示的多核苷酸分子,包括分别编码SEQ ID NO: 27、29、83、85、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159和161中所示的IL-29 C5突变多肽的DNA和RNA分子。本

发明的其他IL-29 C5突变分子包括SEQ ID NO: 86、88、94和96中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 87、89、95和97中所示的IL-29 C5突变多肽的DNA和RNA (PCT公开号WO 03/066002 (Kotenko等人))。此外,本发明的IL-29 C5突变分子包括SEQ ID NO: 102、104、110和112中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 103、105、111和113中所示的IL-29 C5突变多肽的DNA和RNA分子 (PCT公开号WO 02/092762 (Baum等人))。

除了IL-29 C5突变体外,本发明也包括在成熟多肽的第1半胱氨酸位点C1上包含突变的IL-29多肽。例如,来自SEQ ID NO: 4的多肽的N末端C1是位点15或,当在大肠杆菌中表达时,位点16 (加上N末端Met) 上的半胱氨酸 (参见,例如,SEQ ID NO: 15)。因此这些IL-29 C1突变多肽具有 C2 (SEQ ID NO: 4的Cys49) /C4 (SEQ ID NO: 4的Cys145) 和 C3 (SEQ ID NO: 4的Cys112) /C5 (SEQ ID NO: 4的Cys171) 的预测的二硫键模式。本发明的其他IL-29 C1突变分子包括SEQ ID NO: 74、76、78和80中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 75、77、79和81中所示的IL-29 C1突变多肽的DNA和RNA分子。本发明的其他IL-29 C1突变分子包括SEQ ID NO: 90、92、98和100中所示的多核苷酸分子,包括分别编码SEQ ID NO: 91、93、99和101中所示的IL-29 C1突变多肽的DNA和RNA分子 (PCT公开号WO 03/066002 (Kotenko等人))。此外,本发明的IL-29 C1突变分子包括SEQ ID NO: 106、108、114和116中所示的多核苷酸分子,其包括分别编码SEQ ID NO: 107、109、115和117中所示的IL-29 C1突变多肽的DNA和RNA分子 (PCT公开号WO 02/092762 (Baum等人))。

本发明的IL-29多肽包括,例如,由SEQ ID NO: 3、14、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158和160 中所示的IL-29多核苷酸分子编码的SEQ ID NO: 4、15、27、29、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、

111、113、115、117、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159和161，其还可包括SEQ ID NO: 119中所示的信号序列或SEQ ID NO: 121中所示的信号序列。其他的IL-29多肽包括SEQ ID NO: 40和41。编码SEQ ID NO: 119的信号序列多肽的多核苷酸分子示于SEQ ID NO: 118。编码SEQ ID NO: 120的信号序列多肽的多核苷酸分子示于SEQ ID NO: 121。

表3列出了SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35中所用的单字母密码子以表示简并核苷酸位点。“方案”是由密码子字母表示的核苷酸。“互补”表示互补核苷酸的密码子。例如，密码子Y表示C或T，其互补R表示A或G，A和T互补，G和C互补。

表3

核苷酸	方案	互补	方案
A	A	T	T
C	C	G	G
G	G	C	C
T	T	A	A
R	A G	Y	C T
Y	C T	R	A G
M	A C	K	G T
K	G T	M	A C
S	C G	S	C G
W	A T	W	A T
H	A C T	D	A G T
B	C G T	V	A C G
V	A C G	B	C G T
D	A G T	H	A C T
N	A C G T	N	A C G T

用于SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35的简并密码子，包括给定的氨基酸的所有可能的密码子，示于表4。

表4

氨基酸	单字母 密码子	密码子	简并密码子
Cys	C	TGC TGT	TGY
Ser	S	AGC AGT TCA TCC TCG TCT	WSN
Thr	T	ACA ACC ACG ACT	ACN
Pro	P	CCA CCC CCG CCT	CCN
Ala	A	GCA GCC GCG GCT	GCN
Gly	G	GGA GGC GGG GGT	GGN
Asn	N	AAC AAT	AA Y
Asp	D	GAC GAT	GAY
Glu	E	GAA GAG	GAR
Gln	Q	CAA CAG	CAR
His	H	CAC CAT	CAY
Arg	R	AGA AGG CGA CGC CGG CGT	MGN
Lys	K	AAA AAG	AAR
Met	M	ATG	ATG
Ile	I	ATA ATC ATT	ATH
Leu	L	CTA CTC CTG CTT TTA TTG	YTN
Val	V	GTA GTC GTG GTT	GTN
Phe	F	TTC TTT	TTY
Tyr	Y	TAC TAT	TAY
Trp	W	TGG	TGG
Ter	.	TAA TAG TGA	TRR
Asn Asp	B		RAY
Glu Gln	Z		SAR
任何	X		NNN

本领域技术人员认识到，在确定代表编码各氨基酸的所有可能的密码子的简并密码子的过程中引入一些不确定性。例如，丝氨酸的简并密码子 (WSN) 可，在一些情况下，编码精氨酸 (AGR)，精氨酸的简并密码子 (MGN) 可，在一些情况下，编码丝氨酸 (AGY)。类似的关系存在于编码苯丙氨酸和亮氨酸的密码子之间。因此，由简并序列构成的一些多核苷酸可编码变异的氨基酸序列，但本领域技术人员可容易地参照 SEQ ID NO: 19、21、23、25、27 和 29 的氨基酸序列鉴定这些变异序列。可就此处描述的功能容易地检验变异序列。

本领域技术人员也认识到，不同的物种可表现“偏爱密码子利

用”。一般地，参见，Grantham, 等人, Nuc. Acids Res. 8: 1893-912, 1980; Haas, 等人 Curr. Biol. 6: 315-24, 1996; Wain-Hobson, 等人, Gene 13: 355-64, 1981; Grosjean和Fiers, Gene 18: 199-209, 1982; Holm, Nuc. Acids Res. 14: 3075-87, 1986; Ikemura, J. Mol. Biol. 158: 573-97, 1982。如此处所用的，术语“偏爱密码子利用”或“偏爱密码子”是表示这样的蛋白翻译密码子的本领域的术语，所述密码子在某些物种的细胞中最频繁使用，从而倾向于编码各氨基酸的可能的密码子（参见表4）中的一个或少数几个代表。例如，氨基酸苏氨酸(Thr)可由ACA、ACC、ACG或ACT编码，但在哺乳动物细胞中ACC是最常使用的密码子；在其他物种中，例如昆虫细胞、酵母、病毒或细菌中，不同的Thr密码子可以是优选的。可通过各种本领域已知的方法将特定物种的偏爱密码子导入本发明的多核苷酸。将偏爱密码子序列导入重组DNA可，例如，通过在特定的细胞类型或物种内使蛋白翻译更有效来增加蛋白的生产。因此，SEQ ID NO: 30、31、32、33、34和35中公开的简并密码子序列用作这样的模板，该模板用于在本领域中通常使用的和此处公开的各种细胞类型和物种中最优化多核苷酸的表达。可检测和最优化包含偏爱密码子的序列以在各种物种中表达，和就此处公开的功能对所述序列进行检验。

如前面所提到的，本发明的分离的多核苷酸包括DNA和RNA。用于制备DNA和RNA的方法在本领域内是熟知的。一般地，从产生大量IL-28或IL-29 RNA的组织或细胞中分离RNA。通过Northern印迹法(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 5201, 1980)、或通过就对靶细胞或组织的活性筛选来自各种细胞类型的条件化的培养基来鉴定这些组织和细胞。在鉴定产生所述活性或RNA的细胞或组织后，可使用异硫氰酸胍提取，然后通过CsCl梯度中离心进行分离来制备总RNA(Chirgwin 等人, Biochemistry 18: 52-94, 1979)。通过使用Aviv和Leder (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69: 1408-12, 1972)的方法来从总RNA制备Poly (A)<sup>+</sup> RNA。使用已知的方法从poly(A)<sup>+</sup> RNA制备互补DNA (cDNA)。在可选择的方法中，可分离基因组DNA。然后通过例

如，杂交或PCR鉴定和分离编码IL-28或IL-29多肽的多核苷酸。

可通过常规的克隆方法获得编码IL-28或IL-29的全长克隆。互补DNA (cDNA)克隆是优选的，尽管对于一些应用(例如，在转基因动物中表达)，使用基因组克隆，或修饰cDNA克隆以使其包含至少一个基因组内含子可以是优选的。用于制备cDNA和基因组克隆的方法是熟知的并且在本领域技术人员的水平之内，其包括使用此处公开的序列或其部分探测或引发(priming)文库。可用抗IL-28受体片段的抗体，或其他特异性结合伴侣探测表达文库。

本领域技术人员将认识到，在例如SEQ ID NO: 1、3和5中公开的序列分别代表人IL-28和IL-29条带的单个等位基因的突变，认识到预期会发生等位变异和可变剪接。例如，已鉴定了IL-29的变体，在所述变体中，SEQ ID NO: 4中所示的氨基酸残基169(Asn)中是Arg，如WO 02/086087中所描述的。本发明包括了这些等位基因。可根据标准的方法通过探测来自不同个体的cDNA或基因组文库来克隆该序列的等位变体。SEQ ID NO: 1、3和5中所示的DNA序列的等位变体，包括包含沉默突变的变体和其中突变导致氨基酸序列改变的变体(除了半胱氨酸突变外)，在本发明的范围之内，作为SEQ ID NO: 2、4和6的等位变体的蛋白也是在本发明的范围之内。产生自可变剪接的mRNA的、保持IL-28或IL-29多肽的特性的cDNA也包括在本发明的范围之内，由这些cDNA和mRNA编码的多肽也在本发明的范围之内。可根据本领域已知的标准方法通过探测来自不同个体或组织的cDNA或基因组文库来克隆这些序列的等位变体和剪接变体，可如此处所述，引入对编码半胱氨酸或半胱氨酸残基的多核苷酸的突变。

在本发明的实施方案内，分离的编码IL-28和IL-29的核酸分子可在严紧条件下和这样的核酸分子杂交，所述这样的核酸分子具有SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、

160的核苷酸序列或具有和SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160互补的核苷酸序列。一般地,选择严紧条件以使其比确定的离子强度和pH下的特定的序列的热解链温度( $T_m$ )低大约5℃。 $T_m$ 是这样的温度(在确定的离子强度和pH下),在该温度下,50%的靶序列和完全匹配的探针杂交。

如果核苷酸序列具有一定程度的互补性,则成对的核酸分子,例如DNA-DNA、RNA-RNA和DNA-RNA可杂交。杂交可耐受双螺旋中错配的碱基对,但杂交的稳定受到错配程度的影响。错配杂交体的 $T_m$ 因每1-1.5%的碱基对错配而降低1℃。改变杂交条件的严紧度使得可以控制杂交体中存在的错配的程度。严紧度的程度随杂交温度增加和杂交缓冲液的离子强度降低而增加。

改变这些条件使之适合于特定的多核苷酸杂交体正好在本领域技术人员的能力之内。特定靶序列的 $T_m$ 是这样的温度(在确定的条件下),在该温度下,50%的靶序列和完全匹配的探针序列杂交。影响 $T_m$ 的条件包括,多核苷酸探针的大小和碱基对含量、杂交溶液的离子强度和杂交溶液中去稳定剂的存在。许多计算 $T_m$ 的公式在本领域中是已知的,对于DNA、RNA和DNA-RNA杂交体以及不同长度的多核苷酸探针序列是明确的(参见,例如, Sambrook 等人 Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版 (Cold Spring Harbor Press 1989); Ausubel 等人, (eds.), Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Inc. 1987); Berger 和 Kimmel (eds.), Guide to Molecular Cloning Techniques, (Academic Press, Inc. 1987); 和 Wetmur, Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 26:227 (1990))。序列分析软件例如 OLIGO 6.0 (LSR; Long Lake, MN) 和 *Primer Premier 4.0* (Premier Biosoft International; Palo Alto, CA), 以及因特网上的地址是可获得的用于基于用户定义的标准分析给定的序列和计

算 $T_m$ 的工具。这些程序也可在确定的条件下分析给定的序列和鉴定合适的探针序列。一般地，在低于计算的 $T_m$ 大约20-25℃的温度下进行更长核苷酸序列(>50碱基对的)的杂交。对于更短的探针，<50碱基对，通常在 $T_m$ 或低于计算的 $T_m$ 大约5-10℃的温度下进行杂交。这允许DNA-DNA和DNA-RNA杂交物的最大杂交比例。

杂交后，可在严紧条件或在高度严紧条件下洗涤核酸分子以除去未杂交的核酸分子。常用的严紧洗涤条件包括在55-65℃下、在含有0.1% 十二烷基硫酸钠(SDS)的0.5x - 2x SSC中进行洗涤。即，编码变体、半胱氨酸突变体、或IL-28或IL-29多肽的核酸分子在这样的严紧洗涤条件下和分别具有SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158或160的核苷酸序列(或其互补序列)的核酸分子杂交，在所述严紧洗涤条件中，洗涤严紧度等同于55-65℃下的含有0.1% SDS的0.5x - 2x SSC，包括，55℃下含有0.1% SDS的0.5x SSC或65℃下含有0.1% SDS的2x SSC。本领域技术人员可通过例如在洗涤溶液用SSPE替代SSC容易地设计等同的条件。

一般的高度严紧的洗涤条件包括在50-65℃下在含有0.1%十二烷基硫酸钠(SDS)的0.1x - 0.2x SSC溶液中进行洗涤。换句话说，编码IL-28或IL-29多肽的变体的核酸分子在这样的高度严紧洗涤条件下和具有SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158或160的核苷酸序列(或其互补序列)的核酸分子杂交，在所述高度严紧洗涤条件中，洗涤严紧度等同于50-65℃下的含有0.1% SDS的0.1x- 0.2x SSC，包括，50℃下含有0.1% SDS的0.1x SSC或65℃下含有0.1% SDS的0.2x SSC。



本发明也提供了这样的IL-28或IL-29多肽,所述多肽分别和本发明的多肽例如SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161具有基本相似的序列同一性。术语“基本相似的序列同一性”此处用于表示分别与SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161中所示的序列具有至少80%、至少90%、至少95%、或大于95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的序列同一性的多肽,或其直向同源物。本发明也包括这样的多肽,所述多肽包含和本发明的多肽或其片段具有至少80%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或大于99.5%的序列同一性的氨基酸序列。本发明还包括编码这些多肽的核酸分子。本发明的IL-28和IL-29多肽优选地是重组多肽。在另一方面,本发明的IL-28和IL-29多肽具有至少15、至少30个、至少45或至少60个连续的氨基酸。例如,本发明的IL-29多肽涉及这样的多肽,该多肽具有来自SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161的至少15、至少30、至少45或至少60个连续的氨基酸。下面描述用于确定百分比同一性的方法。

本发明也涉及可使用这样的两个判据鉴定的变异核酸分子,所述判据是: 分别具有SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、

127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161的氨基酸序列和被编码的多肽之间的相似性的确定，和/或如上所述的杂交测定。这些变体包括这样的核酸分子，该分子 (1) 在这样的严紧洗涤条件下和分别具有SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158或160的核苷酸序列（或其互补序列）的核酸分子杂交，在所述严紧条件中，洗涤严紧度等同于55 - 65°C 下的含有0.1% SDS 的0.5x - 2x SSC；或(2) 编码和SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161的氨基酸序列具有至少80%、至少90%、至少95%或大于95%、96%、97%、98%、99%或99.5% 的序列同一性的多肽。可选择地，变体可表征为这样的核酸分子，即其：(1) 在高度严紧的洗涤条件下和具有SEQ ID NO: 1、3、5、12、14、16、18、20、22、24、26、28、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158或160的核苷酸序列（或其互补序列）的核酸分子杂交，在所述高度严紧洗涤条件中，洗涤严紧度等同于50 - 65°C 下的含有0.1% SDS 的0.1x - 0.2x SSC，和(2) 编码和SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161的氨基酸序列具有至少80%、至少90%、至少95% 或大于95%、96%、97%、98%、99%

或99.5%的序列同一性的多肽。

本发明还提供了编码这样的多肽的多核苷酸，该多肽治疗、预防此处描述的癌症、抑制其进展、延迟其发生、和/或减少其严重度或抑制其中的至少一种病症或症状，其中被编码的多肽是选自SEQ ID NO: 36-41的序列。

由常规方法确定百分比序列同一性。参见，例如，Altschul 等人，Bull. Math. Bio. 48:603 (1986)，以及Henikoff 和Henikoff，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 (1992)。简而言之，通过使用10的缺口开放罚分、1的缺口延伸罚分和表5中所示的Henikoff和Henikoff (同上) “BLOSUM62” 打分矩阵 (由标准的单字母代码表示氨基酸) 排列两个氨基酸序列以最优化比对分值。

#### 相同匹配的总数目

----- x 100

[较长的序列的长度加上被导入较长的  
的序列中以排列2个序列的缺口的数目]

表5

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4																			
R	-1	5																		
N	-2	0	6																	
D	-2	-2	1	6																
C	0	-3	-3	-3	9															
Q	-1	1	0	0	-3	5														
E	-1	0	0	2	-4	2	5													
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6												
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8											
I	-1	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4											
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4									
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5								
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5							
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6						
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7					
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4				
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5			
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11		
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4

本领域技术人员认识到,存在许多可获得的比对两个氨基酸序列的已建立的算法。Pearson和Lipman的“FASTA”相似性搜寻算法适合这样的蛋白比对方法,该方法用于检查此处公开的氨基酸序列和假定的变异的IL-28或IL-29的氨基酸序列共有的同一性水平。由Pearson和Lipman, Proc. Nat' l Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), 和Pearson, Meth. Enzymol. 183:63 (1990)描述FASTA算法。

简而言之,FASTA首先通过鉴定由被查询序列(例如,SEQ ID NO: 2)和测试序列共有的区域来表征序列相似性,在不考虑保守性氨基酸替代、插入或缺失的情况下,所述区域具有最高的同一性密度(如果ktup变量是1)或成对同一性密度(如果ktup=2)。然后通过使用氨基酸取代矩阵比较所有成对氨基酸的相似性来对具有最高同一性密度的10个区域重新评分,所述区域的末端被“修剪”成只包含对最高评分有贡献的残基。如果存在几个具有高于“截止”值的评分(通过预先确定的公式基于序列的长度和ktup值计算的)的区域,那么检查经修剪的起始区域以确定是否可连接所述区域以形成具有缺口的近似比对。最后,使用Needleman-Wunsch-Sellers算法(Needleman和Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444 (1970); Sellers, SIAM J. Appl. Math. 26:787 (1974))的修改方法排列两个氨基酸序列的最高评分区域,所述算法允许氨基酸插入和缺失。FASTA分析的优选的参数是:ktup=1、缺口开放罚分=10、缺口延伸罚分=1和取代矩阵=BLOSUM62。如Pearson, Meth. Enzymol. 183:63 (1990)的附录2中所解释的,可通过修改评分矩阵文件(“SMATRIX”)将这些参数引入FASTA程序。

也可通过使用上面公开的比率,使用FASTA确定核酸分子的序列同一性。对于核酸序列比较, ktup值可在1至6,优选地3至6之间的范围内变动,最优选地为3,其他参数设置为缺省值。

具有基本上相似的序列同一性的变异的IL-28和IL-29多肽的特征在于具有一个或多个氨基酸替代、缺失或加入。这些改变优选地是微不足道的(minor nature),即不显著地影响多肽的折叠或活性的保守性氨基酸替代(参见表6)和其它替代;小缺失,通常为1至大约

30个氨基酸；和氨基或羧基末端延伸，例如氨基末端甲硫氨酸残基、长达大约20-25个残基的小连接体肽或亲和标记物。本发明因此包括包含这样的序列的多肽，该序列和SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161的对应区域具有至少80%、优选地至少90%、和更优选地至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、至少99.5%或大于99.5%的同一性。包含亲和标记物的多肽还可包含IL-28和IL-29多肽与亲和标记物之间的蛋白水解断裂位点。优选的这样的位点包括凝血酶断裂位点和因子Xa断裂位点。

表 6

保守性氨基酸替代

碱性氨基酸:	精氨酸
	赖氨酸
	组氨酸
酸性氨基酸:	谷氨酸
	天冬氨酸
极性氨基酸:	谷氨酰胺
	天冬酰胺
疏水性氨基酸:	亮氨酸
	异亮氨酸
	缬氨酸
芳香族氨基酸:	苯丙氨酸
	色氨酸
	酪氨酸

小氨基酸:            甘氨酸  
                          丙氨酸  
                          丝氨酸  
                          苏氨酸  
                          甲硫氨酸

可确定构成这样的区域或结构域的氨基酸残基, 所述区域或结构域对于保持结构完整性是至关重要的。在这些区域内, 可确定或多或少容忍改变和维持分子的总体三级结构的特定残基。用于分析序列结构的方法包括, 但不限于多个具有高度氨基酸或核苷酸同一性的序列的比对、二级结构的倾向、二元模式 (binary patterns)、互补堆积 (complementary packing) 和埋藏的极性相互作用 (Barton, Current Opin. Struct. Biol. 5: 372-376, 1995和Corde等人, Current Opin. Struct. Biol. 6: 3-10, 1996)。一般地, 当设计对分子的修饰或鉴定特异性片段时, 确定结构的同时要评估经修饰的分子的活性。

这样改变IL-28或IL-29多肽中的氨基酸序列以使生物学活性所需的高级结构的破坏最小。例如, 在IL-28或IL-29多肽包含一个或多个螺旋的位置, 这样改变氨基酸残基以使不破坏分子的螺旋几何结构和其他组成, 其中构象上的变化减弱了一些至关重要的功能, 例如, 该分子对其结合伴侣的结合作用。可通过, 例如, 上面公开的计算机建模预测或通过晶体结构的分析确定氨基酸序列改变的效应 (参见, 例如, Laphorn等人, Nat. Struct. Biol. 2: 266-268, 1995)。本领域内熟知的其他技术将变异蛋白的折叠和标准分子 (例如, 天然蛋白) 的折叠进行比较。例如, 可进行变异分子和标准分子中的半胱氨酸模式的比较。质谱技术和使用还原和烷化的化学修饰技术提供了用于确定和二硫键关联的或不参与这些连接的半胱氨酸残基的方法 (Bean等人, Anal. Biochem. 201: 216-226, 1992; Gray, Protein Sci. 2: 1732-1748, 1993; 和Patterson等人, Anal. Chem. 66: 3727-3732, 1994)。一般认为, 如果经修饰的分子不具有和标准分子相同的半胱氨酸

酸模式时，折叠将受到影响。用于测量折叠的另一个熟知的和可接受的方法是圆二色法 (circular dichroism) (CD)。测量和比较经修饰的分子和标准分子产生的CD光谱是常规方法 (Johnson, Proteins 7: 205-214, 1990)。晶体学是另一个熟知的用于分析折叠和结构的方法。核磁共振 (NMR)、降解肽谱法 (digestive peptide mapping) 和表位作图也是已知的用于分析蛋白和多肽之间的折叠和结构相似性的方法 (Schaanan等人, Science 257: 961-964, 1992)。

可产生 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159或161中所示的IL-28或IL-29多肽序列的 Hopp/Woods 亲水分布图 (Hopp 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. 78: 3824-3828, 1981; Hopp, J. Immun. Meth. 88: 1-18, 1986 和 Triquier 等人, Protein Engineering 11: 153-169, 1998)。该分布图基于滑动6残基窗口。忽略埋藏的G、S和T残基以及暴露的H、Y和W残基。本领域技术人员认识到，当设计IL-28或IL-29多肽的氨基酸序列中的修饰时，要考虑亲水性或疏水性，以使不破坏总体结构和生物学特征谱。其中特别吸引人的取代是选自Val、Leu和Ile或选自Met、Gly、Ser、Ala、Tyr和Trp的疏水性残基。

可从IFN- $\alpha$ 和IL-28A、IL-28B和IL-29的家族的成员 (如表1和2中所示的) 之间的序列相似性的分析推断出必需氨基酸。通过使用方法例如前面描述的“FASTA”分析法，在蛋白的家族内鉴定高度相似的区域并将其用于分析氨基酸序列的保守区域。基于结构鉴定变异多核苷酸的可选择的方法是确定编码潜在的变异的IL-28或IL-29的基因的核酸分子是否可和上述核酸分子杂交。

鉴定本发明中的多肽中的必需氨基酸的其他方法是本领域内已知的方法，例如定点诱变法或丙氨酸扫描诱变法 (Cunningham和Wells, Science 244: 1081 (1989), Bass 等人, Proc. Natl Acad. Sci. USA



88: 4498 (1991), Coombs 和 Corey, "Site-Directed Mutagenesis and Protein Engineering," in Proteins: Analysis and Design, Angeletti (ed.), pages 259-311 (Academic Press, Inc. 1998)). 在后一种技术中, 在分子的每一个残基上引入单个丙氨酸突变, 并就下面公开的生物学或生物化学活性检测所得的分子以鉴定对于该分子的活性是至关重要的氨基酸残基。也参见, Hilton 等人, J. Biol. Chem. 271: 4699 (1996)。

本发明也包括 IL-28 或 IL-29 多肽的功能性片段和编码这些功能性片段的核酸分子。此处定义的“功能性” IL-28 或 IL-29 或其片段的特征在于其增殖或分化活性, 在于其诱导或抑制特化的细胞功能的能力或在于其特异性结合抗 IL-28 或 IL-29 抗体或 IL-28 受体(可溶性的或固定的)的能力。此处公开了 IL-28 或 IL-29 多肽的特化的活性和如何检测其。如本说明书中前面所描述的, IL-28 和 IL-29 多肽的特征在于 6 螺旋束。因此, 本发明还提供了这样的融合蛋白, 该融合蛋白包含: (a) 包含此处描述的一个或多个螺旋的多肽分子; 和 (b) 包含这些螺旋中的一个或多个螺旋的功能性片段。可通过另一个螺旋束细胞因子或干扰素例如 IFN- $\alpha$ , 或通过非天然的和/或非相关的帮助融合蛋白分泌的分泌信号肽提供融合蛋白的其他多肽部分。

本发明的 IL-28 或 IL-29 多肽, 包括全长多肽、半胱氨酸突变多肽、生物学活性片段和融合多肽, 可根据常规技术, 使用已导入编码该多肽的表达载体的细胞来产生。如此处所用的, “已导入表达载体的细胞”包括已通过外源 DNA 分子的导入直接被操作的细胞和其包含导入的 DNA 的后代。合适的宿主细胞是可用外源 DNA 转化或转染并在培养中生长的细胞类型, 包括细菌、真菌细胞和培养的高等真核细胞。由 Sambrook 等人, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第 2 版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989, 和 Ausubel 等人, eds., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc., NY, 1987 公开了用于操作经克隆的 DNA 分子和将外源 DNA 导入各种宿主细胞的技术。

一般地，编码本发明的IL-28或IL-29多肽的DNA序列有效地连接至其表达所需的其他基因元件，通常包括表达载体内的转录启动子和终止子。载体通常也包含一种或更多种选择标记物和一个或多个复制起始位点，尽管本领域技术人员认识到，在某些系统内，可在分开的载体上提供选择标记物，和可通过融合入宿主细胞基因组提供外源DNA的复制。启动子、终止子、选择标记物、载体和其他元件的选择是基本上在本领域技术人员的水平之内的常规设计。许多这样的元件描述于文献中并可通过商业提供商商购获得。

为指导IL-28或IL-29多肽进入宿主细胞的分泌途径，在表达载体中提供分泌信号序列(也称作前导序列、前原序列(prepro sequence)或前序列(pre sequence))。分泌信号序列可以是，例如，半胱氨酸突变体IL-28或IL-29的分泌信号序列，例如，SEQ ID NO: 119或SEQ ID NO: 121，或可来源于另一种分泌蛋白(例如，t-PA；参见，美国专利号5,641,655)或可从新合成。分泌信号序列有效地连接至IL-28或IL-29 DNA序列，即，将两个序列连接在正确的阅读框架内和定位以指导新合成的多肽进入宿主细胞的分泌途径。分泌信号序列通常位于编码目的多肽的DNA序列的5'，尽管某些信号序列可位于目的DNA序列的其他位置(参见，例如，Welch等人，美国专利号5,037,743；Holland等人，美国专利号5,143,830)。

广泛的合适的重组宿主细胞包括，但不限于，革兰氏阴性原核宿主生物。大肠杆菌的合适株系包括W3110、从K12衍生的株系MM294、TG-1、JM-107、BL21和UT5600。其他合适的株系包括：BL21(DE3)、BL21(DE3) pLysS、BL21(DE3) pLysE、DH1、DH4I、DH5、DH5I、DH5IF'、DH5IMCR、DH10B、DH10B/p3、DH11S、C600、HB101、JM101、JM105、JM109、JM110、K38、RR1、Y1088、Y1089、CSH18、ER1451、ER1647、大肠杆菌K12、大肠杆菌K12 RV308、大肠杆菌K12 C600、大肠杆菌HB101、大肠杆菌K12 C600 R. sub. k-M. sub. k-、大肠杆菌K12 RR1 (参见，例如，Brown (ed.)，Molecular Biology Labfax (Academic Press 1991))。其他革兰氏阴性原核宿主可包括粘质沙雷氏菌(*Serratia*)、

假单胞菌 (*Pseudomonas*)、柄杆菌 (*Caulobacter*)。原核宿主可包含革兰氏阳性生物例如芽孢杆菌属 (*Bacillus*)，例如枯草芽孢杆菌 (*B. subtilis*) 和苏云金芽孢杆菌 (*B. thuringiensis*) 和苏云金芽孢杆菌以色列变种 (*B. thuringiensis* var. *israelensis*)，和链霉菌属 (*Streptomyces*)，例如，变铅青链霉菌 (*S. lividans*)、产二素链霉菌 (*S. ambofaciens*)、弗氏链霉菌 (*S. fradiae*)、和灰褐类群链霉菌 (*S. griseofuscus*)。枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) 的合适株系包括BR151、YB886、MI119、MI120和B170 (参见，例如，Hardy, "Bacillus Cloning Methods," in DNA Cloning: A Practical Approach, Glover (ed.) (IRL Press 1985))。用于在原核宿主中繁殖载体的标准技术对于本领域技术人员来说是熟知的 (参见，例如，Ausubel等人 (eds.), Short Protocols in Molecular Biology, 第3版 (John Wiley & Sons 1995); Wu等人, Methods in Gene Biotechnology (CRC Press, Inc. 1997))。在一个实施方案中，本发明的方法使用在W3110株系中表达的IL-28或IL-29，所述株系已以ATCC # 27325保藏在美国典型培养物保藏中心(ATCC)。

当需要使用本发明的表达系统大规模生产IL-28或IL-29时，可使用分批发酵。一般地，分批发酵包括第一阶段，制备种子瓶，通过将表达IL-28或IL-29的大肠杆菌株系在振荡摇瓶培养中培养在合适的培养基中，以使其培养至600nm处为5和20之间的光密度(OD)来进行制备。合适的培养基包含来自源例如硫酸铵、磷酸铵、氯化铵、酵母提取物、经水解的动物蛋白、水解的植物蛋白或水解的酪蛋白的氮。从磷酸钾、磷酸铵、磷酸或磷酸钠提供磷酸。其他组分可以是氯化镁或硫酸镁、硫酸铁或氯化铁以及其他微量元素。生长培养基可补充以糖类，例如，果糖、葡萄糖、半乳糖、乳糖和甘油，以促进生长。可选择地，使用补料分批培养来产生高产量的IL-28或IL-29蛋白。在这样的条件下培养产生IL-28或IL-29的大肠杆菌株系，该条件类似于所描述的用于接种分批发酵的第一阶段容器的条件。

发酵后，通过离心、重悬浮于匀浆缓冲液中来收获细胞并对细胞

进行匀浆,例如,在APV-Gaulin匀浆机(Invensys APV, Tonawanda, New York)或其他类型的细胞破裂设备,例如砂磨机或超声破碎器中进行匀浆。可选择地,直接从发酵罐取出细胞并在APV-Gaulin匀浆器中进行匀浆。可使用含有还原剂例如 $\beta$ 巯基乙醇(10-100 mM)或二硫苏糖醇(5-50 mM)的盐酸胍(5-8 M)或尿素(7-8 M)溶解经洗涤的内含体制备物。可在Tris、磷酸盐、HEPES或其他合适的缓冲液中制备溶液。内含体也可用含有硫酸月桂酯钠(0.1-2%)的尿素(2-4 M)溶解。在从经转化的大肠杆菌宿主株系(其中IL-28或IL-29作为可折射的内含体积累)中回收纯化的IL-28或IL-29的方法中,破裂细胞,通过离心回收内含体。然后溶解内含体并将其在6M含有还原剂的盐酸胍中进行变性。然后在受控制的复性步骤中氧化经还原的IL-28或IL-29。可将重折叠的IL-28或IL-29通过过滤器以净化和除去不溶性蛋白。然后将溶液通过过滤器以净化和除去不溶性蛋白。在IL-28或IL-29蛋白重折叠和浓缩后,在阳离子交换柱上的稀释缓冲液中捕获重折叠的IL-28或IL-29蛋白并使用疏水作用层析法进行纯化。

培养的哺乳动物细胞是本发明内的合适的宿主。用于将外源DNA导入哺乳动物宿主细胞的方法包括磷酸钙介导的转染(Wigler等人, *Cell* 14:725, 1978; Corsaro和Pearson, *Somatic Cell Genetics* 7:603, 1981; Graham和Van der Eb, *Virology* 52:456, 1973)、电穿孔法(Neumann等人, *EMBO J.* 1:841-5, 1982)、DEAE-葡聚糖介导的转染(Ausubel等人, *ibid.*)和脂质体介导的转染(Hawley-Nelson等人, *Focus* 15:73, 1993; Ciccarone等人, *Focus* 15:80, 1993, 和病毒载体(Miller和Rosman, *BioTechniques* 7:980-90, 1989; Wang和Finer, *Nature Med.* 2:714-6, 1996)。由例如Levinson等人, 美国专利号4,713,339; Hagen等人, 美国专利号4,784,950; Palmiter等人, 美国专利号4,579,821; 和Ringold, 美国专利号4,656,134公开了重组多肽在培养的哺乳动物细胞中的生产。合适的培养的哺乳动物细胞包括COS-1 (ATCC No. CRL 1650)、COS-7 (ATCC No. CRL 1651)、BHK (ATCC No. CRL 1632)、BHK 570 (ATCC No. CRL 10314)、293 (ATCC

No. CRL 1573; Graham等人, J. Gen. Virol. 36: 59-72, 1977)和中国仓鼠卵巢(例如, CHO-K1; ATCC No. CCL 61)细胞系。其他合适的细胞系在本领域是已知的并可从公共保藏库例如美国典型培养物保藏中心, Manassas, VA获得。一般地, 强转录启动子是优选的, 例如来自SV-40或细胞巨化病毒的启动子。参见, 例如, 美国专利号4, 956, 288。其他合适的启动子包括来自金属硫蛋白基因的启动子(美国专利号4, 579, 821和4, 601, 978)和腺病毒主要晚期启动子。

药物选择通常用于选择其中已插入外源DNA的培养的哺乳动物细胞。这些细胞一般称作“转染子”。已在选择剂存在的情况下培养的并且能够将目的基因传递至其后代的细胞称作“稳定的转染子”。优选的选择标记物是编码对抗生素新霉素的抗性的基因。在新霉素类型的药物例如G-418等存在的情况下进行选择。也可将选择系统用于增加目的基因的表达水平, 称作“扩增”的方法。通过在低水平的选择剂存在的情况下培养转染子来进行扩增, 然后增加选择剂的量以选择产生高水平的被导入的基因的产物的细胞。优选的可扩增的选择标记物是二氢叶酸还原酶, 该酶提供对氨甲蝶呤的抗性。也可使用其他药物抗性基因(例如, 潮霉素抗性、多药耐药、嘌呤霉素乙酰转移酶)。引入改变的表型的可选择标记物, 例如绿色荧光蛋白, 或细胞表面蛋白例如CD4、CD8、I类MHC、胎盘碱性磷酸酶可用于通过这些方法如FACS分选或磁珠分离技术, 将经转染的细胞从未转染的细胞中分选出来。

也可将其他高等真核细胞用作宿主, 包括植物细胞、昆虫细胞和鸟类细胞。由发根农杆菌 (*Agrobacterium rhizogenes*) 作为用于在植物细胞中表达基因的载体的用途已由Sinkar等人, J. Biosci. (Bangalore) 11: 47-58, 1987进行了综述。由Guarino等人, 美国专利号5, 162, 222和WIPO公开号WO 94/06463公开了昆虫细胞的转化和外源多肽在其中的产生。可用重组杆状病毒转染昆虫细胞, 所述杆状病毒一般衍生自首蓐银纹夜蛾核型多角体病毒(AcNPV)。参见, King, L. A. 和 Possee, R. D., The Baculovirus Expression System: A

Laboratory Guide, London, Chapman & Hall; O'Reilly, D.R. 等人, Baculovirus Expression Vectors: A Laboratory Manual, New York, Oxford University Press., 1994; 和, Richardson, C. D., Ed., Baculovirus Expression Protocols. Methods in Molecular Biology, Totowa, NJ, Humana Press, 1995。产生重组杆状病毒的第二种方法使用由Luckow (Luckow, V.A, 等人, J Virol 67: 4566-79, 1993)描述的基于转座子的系统。该系统以Bac-to-Bac试剂盒(Life Technologies, Rockville, MD)的形式出售。该系统使用包含Tn7转座子的转移载体pFastBac1™ (Life Technologies), 将编码IL-28或IL-29多肽的DNA转移至杆状病毒基因组(其以被称为“杆粒”的大质粒的形式保持在大肠杆菌中)。pFastBac1™转移载体使用AcNPV多角体蛋白启动子驱动目的基因(在该情况下是IL-28或IL-29)的表达。然而, 可较大程度地修饰pFastBac1™。可除去多角体蛋白启动子并用杆状病毒碱性蛋白启动子(也称作Pcor、p6.9或MP启动子)替代, 所述杆状病毒碱性蛋白启动子在杆状病毒感染的早期表达, 并且已显示对表达分泌蛋白是有利的。参见, Hill-Perkins, M. S. 和Possee, R. D., J. Gen. Virol. 71: 971-6, 1990; Bonning, B. C. 等人, J. Gen. Virol. 75: 1551-6, 1994; 和, Chazenbalk, G. D., 和Rapoport, B., J. Biol. Chem. 270: 1543-9, 1995。在这些转移载体构建体中, 可使用碱性蛋白启动子的短的或长的形式。此外, 可构建用来源于昆虫蛋白的分泌信号序列取代天然的IL-28或IL-29分泌信号序列的转移载体。例如, 可在构建体中使用来自脱皮素葡糖基转移酶(Ecdysteroid Glucosyltransferase) (EGT)、蜜蜂蜂毒素(Melittin) (Invitrogen, Carlsbad, CA)、或杆状病毒gp67 (PharMingen, San Diego, CA)的分泌信号序列取代天然的IL-28或IL-29分泌信号序列。另外, 转移载体可包含编码在表达的IL-28或IL-29多肽的C或N末端的表位标记物, 例如, Glu-Glu表位标记物(Grussenmeyer, T. 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. 82: 7952-4, 1985)的DNA的符合读框的融合物。使用本领域已知的技术, 将包含IL-28或IL-29的转移载体转化入大肠杆菌, 并

就包含标示重组杆状病毒的中断的lacZ基因的杆粒对其进行筛选。使用常规技术分离包含重组杆状病毒基因组的杆粒DNA, 将该DNA用于转染草地贪夜蛾细胞, 例如Sf9细胞。随后产生表达IL-28或IL-29的重组病毒。通过本领域内通常使用的方法制备重组病毒贮存物。

使用重组病毒感染宿主细胞, 通常为来源于秋季粘虫, 草地贪夜蛾的细胞系。一般参见, Glick和Pasternak, Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA, ASM Press, Washington, D.C., 1994。另一种合适的细胞系是来源于粉纹夜蛾 (*Trichoplusia ni*) 的High Five<sup>TM</sup>细胞系 (Invitrogen) (美国专利号5,300,435)。

真菌细胞, 包括酵母细胞, 也可用于本发明内。该方面中的特别吸引人的酵母品种包括酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、巴斯德毕赤氏酵母 (*Pichia pastoris*) 和甲醇毕赤酵母 (*Pichia methanolica*)。由例如, Kawasaki, 美国专利号4,599,311; Kawasaki等人, 美国专利号4,931,373; Brake, 美国专利号4,870,008; Welch等人, 美国专利号5,037,743; 和Murray等人, 美国专利号4,845,075公开了用于使用外源DNA转化酿酒酵母细胞和从其产生重组多肽的方法。通过由选择标记物确定的表型 (一般为抗药性或在缺少特定的营养物 (例如, 亮氨酸) 的情况下生长的能力) 选择经转化的细胞。用于酿酒酵母的优选的载体系统是由Kawasaki等人 (美国专利号4,931,373) 公开的POT1载体系统, 该系统允许通过在含有葡萄糖的培养基上生长来选择经转化的细胞。用于酵母的合适的启动子和终止子包括来自糖酵解酶基因的启动子和终止子 (参见, 例如, Kawasaki, 美国专利号4,599,311; Kingsman等人, 美国专利号4,615,974; 和Bitter, 美国专利号4,977,092) 和醇脱氢酶基因。也参见美国专利号4,990,446、5,063,154、5,139,936和4,661,454。用于其他酵母的转化系统在本领域是已知的, 包括多形汉逊氏酵母 (*Hansenula polymorpha*)、粟酒裂殖糖酵母 (*Schizosaccharomyces pombe*)、乳克鲁维氏酵母 (*Kluyveromyces lactis*)、脆壁克鲁氏维酵母

(*Kluyveromyces fragilis*)、玉蜀黍黑粉菌(*Ustilago maydis*)、巴斯德毕赤氏酵母、毕赤巴斯德毕赤氏酵母、季也蒙氏毕赤氏酵母(*Pichia guillermondii*)和麦芽糖假丝酵母(*Candida maltosa*)。参见,例如, Gleeson等人, *J. Gen. Microbiol.* 132: 3459-65, 1986和Cregg, 美国专利号4,882,279。可根据McKnight等人, 美国专利号4,935,349的方法使用曲霉属(*Aspergillus*)细胞。由Sumino等人, 美国专利号5,162,228公开了用于转化产黄头孢(*Acremonium chrysogenum*)的方法。由Lambowitz, 美国专利号4,486,533公开了转化脉孢菌属(*Neurospora*)的方法。在美国专利号5,955,349、5,888,768和6,001,597、美国专利号5,965,389、美国专利号5,736,383和美国专利号5,854,039中公开了毕赤巴斯德毕赤氏酵母作为产生重组蛋白的宿主的用途。

优选地纯化本发明的多肽和蛋白至 $\geq 80\%$ 的纯度,更优选地 $\geq 90\%$ 的纯度,更优选地 $\geq 95\%$ 的纯度,特别优选的是相对于污染性大分子特别是其他蛋白和核酸,高于99.9%的纯度的药物纯状态,并且无感染性和致热性因子。优选地,纯化的多肽或蛋白基本上不含其他多肽或蛋白,特别是动物来源的多肽或蛋白。

通过常规蛋白纯化方法,通常通过层析技术的组合来纯化表达的重组IL-28或IL-29蛋白(包括嵌合多肽和多聚体蛋白)。一般参见, *Affinity Chromatography: Principles & Methods*, Pharmacia LKB Biotechnology, Uppsala, Sweden, 1988; 和 Scopes, *Protein Purification: Principles and Practice*, Springer-Verlag, New York, 1994。通过在镍螯合型树脂进行亲和层析来纯化包含多组氨酸标记物(通常大约为6个组氨酸残基)的蛋白。参见,例如, Houchuli等人, *Bio/Technol.* 6: 1321-1325, 1988。可根据常规方法通过免疫亲和层析来纯化包含glu-glu标记物的蛋白。参见,例如, Grussenmeyer等人, 同上。根据本领域已知的方法在直链淀粉柱上纯化麦芽糖结合性蛋白融合物。

也可根据本领域已知的方法通过化学合成制备IL-28或IL-29多



肽，所述方法包括完全固相合成法、部分固相法、片段缩合或经典的液相合成法。参见，例如，Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149, 1963; Stewart等人, *Solid Phase Peptide Synthesis* (第2版), Pierce Chemical Co., Rockford, IL, 1984; Bayer和Rapp, *Chem. Pept. Prot.* 3: 3, 1986; 和Atherton等人, *Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press, Oxford, 1989。体外合成对于更小的多肽的制备是特别有利的。

通过使用本领域已知的方法，可以单体或多聚体、糖基化或非糖基化、PEG化或非PEG化、融合蛋白的形式制备IL-28或IL-29蛋白；所述蛋白可以包含或不包含起始的甲硫氨酸氨基酸残基。用于治疗IL-28或IL-29缀合物可包含药物可接受的水溶性聚合物部分。已显示干扰素和水溶性聚合物的缀合物增加干扰素的循环半衰期，和减少多肽的免疫原性(参见，例如，Nieforth等人, *Clin. Pharmacol. Ther.* 59: 636 (1996), 和Monkarsh等人, *Anal. Biochem.* 247: 434 (1997))。

合适的水溶性聚合物包括聚乙二醇(PEG)、单甲氧基-PEG、单-(C1-C10)烷氧基-PEG、芳氧基-PEG, 聚-(N-乙烯基吡咯烷酮)PEG、2, 2, 2-三氟乙磺酰基单甲氧基 PEG、单甲氧基-PEG丙醛、PEG丙醛、二-琥珀酰亚氨基碳酸PEG、丙二醇同聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如，丙三醇)、单甲氧基-PEG丁醛、PEG丁醛、单甲氧基-PEG乙醛、PEG乙醛、甲氧基PEG-琥珀酰亚氨基丙酯、甲氧基PEG-琥珀酰亚氨基丁酯、聚乙烯醇、葡聚糖、纤维素或其他基于糖的聚合物。合适的PEG可具有从大约600至大约60,000的分子量，例如，5,000道尔顿、12,000道尔顿、20,000道尔顿、30,000道尔顿和40,000道尔顿，其可以是线性的或分支的。IL-28或IL-29缀合物也可包含这些水溶性聚合物的混合。

IL-28或IL-29缀合物的一个示例包含IL-28或IL-29部分和附着至IL-28或IL-29部分的N末端的聚烷基氧化物部分。PEG是一个合适的聚烷基氧化物。作为举例说明，可用PEG修饰IL-28或IL-29，该方法称为“PEG化”。可通过本领域已知的PEG化反应的任一反应进行IL-28

或IL-29的PEG化(参见, 例如, EP 0 154 316, Delgado等人, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 9:249 (1992), Duncan 和 Spreafico, Clin. Pharmacokinet. 27:290 (1994), 和 Francis等人, Int J Hematol 68:1 (1998))。例如, 可通过酰化反应或通过和反应性聚乙二醇分子的烷化反应来进行PEG化。在可选择的方法中, 通过缩合活化的PEG来形成IL-28或IL-29缀合物, 其中PEG的末端羟基或氨基已被活化的连接体取代(参见, 例如, Karasiewicz等人, 美国专利号5,382,657)。

通过酰化作用进行的PEG化通常需要使PEG的活化酯衍生物和IL-28或IL-29多肽反应。活化的PEG酯的示例是酯化成N-羟基琥珀酰亚胺酯的PEG。如此处所用的, 术语“酰化作用”包括下列类型的IL-28或IL-29和水溶性聚合物之间的连接类型: 酰胺、氨基甲酸酯、氨基甲酸乙酯等。用于通过酰化作用制备PEG化的IL-28或IL-29的方法通常包括步骤: (a) 在一个或多个PEG基团附着至IL-28或IL-29的条件下, 使IL-28或IL-29多肽和PEG反应(例如PEG的醛衍生物的反应性酯), 和 (b) 获得反应物。一般地, 基于已知的参数和想要的结果确定酰化反应的最佳反应条件。例如, PEG: IL-28或IL-29的比率越大, 多PEG化的IL-28或IL-29产物的百分比越大。

通过烷化作用进行的PEG化通常包括在还原剂存在的情况下使PEG的衍生物的末端醛, 例如丙醛、丁醛、乙醛等和IL-28或IL-29反应。PEG基团优选地通过 $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ 基团附着至多肽。

通过还原性烷化作用产生单PEG化产物的衍生化作用利用不同类型的伯氨基团(其是可获得的用于衍生化作用的基团)的差别反应性。一般地, 在允许利用赖氨酸残基的 $\epsilon$ 氨基和蛋白的N末端残基的 $\alpha$ 氨基之间的pKa差异的pH下进行所述反应。通过这样的选择性衍生化作用, 可控制包含反应性基团例如醛的水溶性聚合物与蛋白的附着。和聚合物的缀合主要发生在蛋白的N末端而无其他反应性基团例如赖氨酸侧链氨基的显著修饰。

产生基本上均一的单聚合物IL-28或IL-29缀合分子的群体的还

原性烷化反应可包括步骤：(a)在还原性烷化反应条件下，在适合允许IL-28或IL-29的氨基末端上的 $\alpha$ 氨基的选择性修饰的pH下，使IL-28或IL-29多肽和反应性PEG反应，和(b)获得反应产物。用于还原性烷化反应的还原剂在水溶液中应当是稳定的并且优选地能够只还原在还原性烷化反应的最初过程中形成的希夫碱。优选的还原剂包括硼氢化钠、氰基硼氢化钠、二甲胺硼烷、三甲胺硼烷和吡啶硼烷。

为了产生单聚合物IL-28或IL-29缀合物的基本上均一的群体，还原性烷化反应条件是允许水溶性聚合物部分选择性附着至IL-28或IL-29的N末端的反应条件。这样的反应条件通常提供了赖氨酸氨基和N末端上的 $\alpha$ 氨基之间的pKa差异。pH也影响了所使用的聚合物对蛋白的比例。一般地，如果pH越低，想要更高的聚合物对蛋白的比例，因为N末端 $\alpha$ 基团的反应性越低，则需要更多的聚合物获得最佳条件。如果pH越高，则不需要如此大的聚合物：IL-28或IL-29的比例，因为可获得更多的反应性基团。一般地，pH落在3-9、或3-6的范围之内。另一个要考虑的因素是水溶性聚合物的分子量。一般地，聚合物的分子量越高，可附着至蛋白的聚合物分子的数目越少。为了进行PEG化反应，一般的分子量是大约2kDa至大约100 kDa、大约5kDa至大约50kDa、大约12kDa至大约40kDa、或大约20kDa至大约30kDa。水溶性聚合物对IL-28或IL-29的摩尔比例一般在1:1至100:1的范围之内。一般地，对于多PEG化，水溶性聚合物对IL-28或IL-29的摩尔比是1:1至20:1，对于单PEG化则为1:1至5:1。

用于产生包含干扰素和水溶性聚合物的缀合物的一般方法在本领域内是已知的。参见，例如，Karasiewicz等人，美国专利号5,382,657，Greenwald等人，美国专利号5,738,846，Nieforth等人，Clin. Pharmacol. Ther. 59:636 (1996)，Monkarsh等人，Anal. Biochem. 247:434 (1997)。可通过使用标准的纯化方法，例如透析、超滤、离子交换层析、亲和层析、大小排阻层析等从未缀合的IL-28或IL-29多肽中分离PEG化的种类。

本发明的IL-28或IL-29分子能够特异性地结合IL-28受体和/或

充当抗肿瘤剂 (antumor agent)。可使用已建立的方法测定 IL-28 或 IL-29 多肽对 IL-28 受体的结合。可根据厂商说明书用碘珠 (Pierce, Rockford, IL) 碘化 IL-28 或 IL-29, 然后如下所述使用  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29。

在第一方法中, 在可能的结合竞争剂 (包括未标记的 IL-28 或 IL-29) 存在或不存在的条件下, 将 50 纳克  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29 和 1000ng IL-28 受体人 IgG 融合蛋白组合。也进行相同的结合反应, 用作特异性对照的其他细胞因子受体人 IgG 融合蛋白替换。在  $4^{\circ}\text{C}$  下温育后, 向反应物中加入 G 蛋白 (Zymed, San Francisco, CA) 以捕获受体-IgG 融合蛋白和与其结合的任何蛋白, 在  $4^{\circ}\text{C}$  下再温育反应物 1 小时。然后收集 G 蛋白琼脂糖, 用 PBS 洗涤 3 次, 通过  $\gamma$  计数器 (Packard Instruments, Downers Grove, IL) 测量  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29 的结合。

在第二方法中, 可测定分子抑制  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29 对板结合受体的结合的能力。可通过在板中温育  $100\mu\text{l}$   $1\text{g}/\text{mL}$  的受体溶液过夜, 将代表细胞外配体结合性结构域的 IL-28 受体的片段吸附至 96 孔板的小孔。在第二形式中, 可将受体-人 IgG 融合蛋白结合至已用抗融合蛋白的人 IgG 部分的抗体包被的 96 孔板的小孔。在用受体包被板后, 洗涤板, 用 SUPERBLOCK (Pierce, Rockford, IL) 进行封闭, 再洗涤。溶液包含固定浓度的  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29, 该溶液具有或不具有浓度不断增加的潜在结合竞争剂, 包括 IL-28、IL-29、IL-28 和 IL-29, 向板中恰当的小孔中加入  $100\mu\text{l}$  该溶液。在  $4^{\circ}\text{C}$  下温育 1 小时后, 洗涤板并通过计数 (Topcount, Packard Instruments, Downers grove, IL) 确定  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29 的结合的量。可通过这些结合测定法中使用的受体分子和通过用作抑制剂的分子确定  $^{125}\text{I}$ -IL-28 或  $^{125}\text{I}$ -IL-29 的结合特异性。

除了 PEG 化外, 可通过遗传学方法将人白蛋白偶联至本发明的多肽以延长其半衰期。人白蛋白是最普遍的天然发生的人循环系统中的血液蛋白, 其在身体的循环系统中持续超过 20 天。研究已显示经基因工程融合至人白蛋白的治疗性蛋白具有更长的半衰期。IL28 或 IL29

白蛋白融合蛋白，如 PEG 化一样，可为患者提供这样的长效疗法选择，和目前可获得的治疗法相比，该长效疗法选择提供更方便的给药方案，具有类似的或提高的功效和安全性(美国专利号 6,165,470; Syed 等人, Blood, 89(9): 3243-3253 (1997); Yeh 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 1904-1908 (1992); 和 Zeisel 等人, Horm. Res., 37: 5-13 (1992))。

如前述的 PEG 化和人白蛋白一样，可将人 IgG 的 Fc 部分融合至本发明的多肽。所得的融合蛋白，由于 Fc 部分的原因，可具有增加的循环半衰期(美国专利号 5,750,375, 美国专利号 5843,725, 美国专利号 6,291,646; Barouch 等人, Journal of Immunology, 61: 1875-1882 (1998); Barouch 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97(8): 4192-4197 (April 11, 2000); 和 Kim 等人, Transplant Proc., 30(8): 4031-4036 (Dec. 1998))。

如此处所用的，术语“抗体”包括多克隆抗体、单克隆抗体、其抗原结合片段例如 F(ab')<sub>2</sub> 和 Fab 片段、单链抗体等，包括经基因工程改造的抗体。可通过将非人 CDR 移植至人构架区和恒定区或通过整合整个非人可变结构域(任选通过暴露的残基的取代用人样表面掩盖其，其中所得的抗体是“镶边”抗体)来人源化非人抗体。在一些情况下，人源化的抗体可在人的可变区构架结构域内保留非人残基以增强合适的结合特征。通过人源化抗体，可增加生物学半衰期，减少给人施用后有害免疫应答的潜能。本领域技术人员可生产具有特异性和不同恒定结构域(即，不同的 Ig 亚类)的人源化抗体以促进或抑制和特定抗体恒定结构域关联的各种免疫功能。如果抗体以大于对对照(非 IL-28 和 IL-29)多肽或蛋白的结合亲和力至少 10 倍的结合亲和力结合 IL-28 或 IL-29 多肽或蛋白，那么抗体被确定为特异性结合。可容易地通过本领域内的常规方法中的一种方法确定单克隆抗体的亲和力(参见，例如，Scatchard, Ann. NY Acad. Sci. 51: 660-672, 1949)。

用于制备多克隆和单克隆抗体的方法在本领域内是熟知的(参见例如，Hurrell, J. G. R., Ed., Monoclonal Hybridoma Antibodies:

Techniques and Applications, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 1982, 其在此引用作为参考)。多肽免疫原可以是全长分子或其部分。如果多肽部分是“半抗原样的”，可有利地将该部分结合至或连接至大分子载体（例如钥孔血蓝蛋白 (KLH)、牛血清白蛋白 (BSA) 或破伤风类毒素) 以用于免疫接种。

可使用本领域技术人员已知的各种测定法检测特异性结合 IL-28 或 IL-29 多肽的抗体。 Using Antibodies: A Laboratory Manual, Harlow and Lane (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999 中详尽地描述了示例性测定法。这些测定法的代表性示例包括：并行免疫电泳 (concurrent immunoelectrophoresis)、放射免疫测定法、放射免疫沉淀法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、点印迹测定法、Western 印迹测定法、抑制或竞争测定法和夹心分析法。

对于某些用途，包括体外和体内诊断用途，有利地使用经标记的抗体。合适的直接标记物或标记包括放射性核素、酶、底物、辅助因子、抑制剂、荧光标记物、化学发光标记物、磁性颗粒等；间接标记物或标记可使用生物素-抗生物素蛋白或其他互补物/反互补物对作为中间物。也可将本发明的抗体直接或间接地缀合至药物、毒素、放射性核素等，这些缀合物用于体内诊断或治疗用途（例如，细胞增殖的抑制）。一般参见，Ramakrishnan 等人，Cancer Res. 56: 1324-1330, 1996.

给患者施用药物制剂可以是局部、吸入、静脉内、动脉内、腹膜内、肌内、皮下、胸膜内、鞘内施用、通过局部导管的输注进行的施用或通过直接的病灶内注射进行的施用。当通过注射施用治疗性蛋白时，可通过连续输注或通过单次或多次推注进行施用。一般地，药物制剂包含药物可接受的媒介物例如盐水、缓冲盐水、5% 葡萄糖水溶液等和 IL-28 或 IL-29 多肽。制剂还可包含一种或多种赋形剂、防腐剂、助溶剂、缓冲剂、白蛋白以预防蛋白在瓶表面上的损失等。配制的方法在本领域内是熟知的并公开于，例如，Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Gennaro, ed., Mack Publishing Co.,

Easton, PA, 第19版, 1995。优选地以大约10至100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 总体积的浓度使用IL-28或IL-29多肽, 尽管可使用1 $\text{ng}/\text{ml}$ 至1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 范围内的浓度。对于局部应用, 例如促进伤口愈合, 可在0.1-10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  伤口面积的范围使用蛋白, 确切的剂量由临床医师根据可接受的标准, 考虑被治疗的病症的性质和严重度、患者的特征等来确定。剂量的确定在本领域技术人员的水平之内。每日给药或在一段治疗时期内间歇地给药。可通过推注或一般1至数小时的一段时间内的输注进行静脉内给药。也可使用持续释放制剂。一般地, IL-28或IL-29的治疗有效量是这样的量, 该量足以在被治疗的病症中产生临床上显著的改变, 例如在造血或免疫功能上的临床上显著的改变、死亡率上的显著减少或显著增加的组织学评分。

作为举例说明, 可以包含装有本发明的IL-28或IL29多肽的容器的试剂盒的方式提供药物制剂。可以用于单剂量或多剂量的注射液的形式、或以这样的无菌粉末的形式提供治疗性多肽, 所述无菌粉末可在注射前进行重构。可选择地, 这样的试剂盒包括用于施用治疗性多肽的干粉扩散器、液体气雾发生器、或喷雾器。这样的试剂盒还可包含关于药物组合物的适应症和应用的书面信息。此外, 这些信息可包括这样的声明, 即在已知对IL-28或IL29多肽具有超敏反应的患者中禁忌使用IL-28或IL29多肽制剂。

### B. IL-28 和 IL-29 对治疗癌症的用途

已显示本发明IL-28和IL-29多肽具有和干扰素 $\alpha$ 相似的抗病毒效应(参见WO 04/037995)。在美国已批准使用干扰素治疗自身免疫疾病、尖锐湿疣、慢性丙型肝炎、膀胱癌、宫颈癌、喉乳头状瘤病、蕈样真菌病、慢性乙型肝炎、感染了人免疫缺陷病毒的患者中的卡波西肉瘤、恶性黑色素瘤、毛细胞性白血病和多发性硬化症。此外, IL-28和IL-29多肽可用于通过抑制细胞增殖来治疗动脉硬化的形式, 例如动脉粥样硬化。因此, 本发明涉及IL-28或IL-29多肽、具有IL-28和IL-29活性的其融合蛋白和片段治疗这些病症以及治疗视网膜病的用途。本

发明提供了IL-28和IL-29蛋白、具有IL-28和IL-29的活性的多肽和肽的用途，即用于治疗、预防淋巴增生性疾病、抑制其进展、延迟其发生、和/或减轻和淋巴增生性疾病关联的病症或症状中的至少一种病症或症状，所述淋巴增生性疾病包括例如，B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病。此外，本发明还提供了IL-28和IL-29蛋白、具有IL-28和IL-29的活性的多肽和肽的这样的用途，即治疗、预防下列癌症、抑制其进展、延迟其发生、和/或减少其严重度或抑制和其相关的病症或症状中的至少一种的用途，所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头与颈的肿瘤（例如，咽下癌（Hypopharyngeal Cancer）、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌（Metastatic Squamous Neck Cancer with Occult Primary）、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤（anaplastic astrocytoma））、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌（例如，小细胞肺癌、非小细胞肺癌例如鳞状细胞癌、腺癌和大细胞癌、和间皮瘤）、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。

也已显示干扰素诱导培养细胞表达抗原（参见，例如，Auth等人，Hepatology 18: 546 (1993)，Guadagni等人，Int. J. Biol. Markers 9: 53 (1994)，Girolomoni等人，Eur. J. Immunol. 25: 2163 (1995)，和Maciejewski等人，Blood 85: 3183 (1995)。该活性增强了体外鉴定新的肿瘤相关抗原的能力。此外，干扰素提高人肿瘤抗原的表达水平的能力表明干扰素可用于佐剂（该佐剂用于免疫治疗）或可增强使用抗肿瘤抗原抗体的免疫闪烁成像（Guadagni等人，Cancer Immunol. Immunother. 26: 222 (1988)；Guadagni等人，Int. J. Biol. Markers



9: 53 (1994))。因此, 本发明包括IL-28或IL-29蛋白、具有IL-28和IL-29的活性的多肽和肽的用途, 即作为免疫治疗法的佐剂或提高使用抗肿瘤抗原抗体的免疫闪烁成像的用途。

可在体内测量IL-28或IL-29多肽对肿瘤进展和转移的活性和功效。已发展了几个同系基因型小鼠模型来研究多肽、化合物或其他疗法对肿瘤进展的影响。在这些模型中, 将在培养中传代的肿瘤细胞作为肿瘤供体移植入相同品系的小鼠。所述细胞在受体小鼠中发展成具有相似特征的肿瘤, 在其中一些模型中也发生转移。除其他以外, 用于我们的研究的合适的肿瘤模型包括路易士肺癌(ATCC编号CRL-1642)和B16黑色素瘤(ATCC编号CRL-6323)。这些都是常用的肿瘤系, 是容易进行体外培养和操作的C57BL6小鼠的同系基因型。由这些细胞系的任一细胞系的移植产生的肿瘤能够在C57BL6小鼠中转移至肺。最近已将路易士肺癌模型用于小鼠以鉴定血管发生的抑制剂(O'Reilly MS, 等人 *Cell* 79: 315-328, 1994)。通过重组蛋白、激动剂或拮抗剂的每日注射或重组腺病毒的一次性注射, 用实验试剂处理C57BL6/J小鼠。在该处理3天后, 在背部皮肤下移植 $10^5$ 至 $10^6$ 个细胞。可选择地, 可在移植之前用重组腺病毒例如表达IL-28和IL-29的重组腺病毒感染细胞自身, 以使所述蛋白在肿瘤位点或细胞内合成而非全身性地合成。小鼠通常在5天内发展出可见的肿瘤。使肿瘤生长长达3周的时期, 在该时期, 在对照处理组中其可达到 $1500 - 1800\text{mm}^3$ 大小。在整个实验过程中仔细地监控肿瘤大小和体重。在处死时, 将肿瘤连同肺和肝脏一起取出并称重。已显示肺的重量很好地和转移的肿瘤负荷相关。作为另外的测量, 对肺表面转移灶进行计数。使用本领域已知的和此处描述的方法, 制备切除的肿瘤、肺和肝脏以进行组织病理学检查、免疫组织化学和原位杂交。从而可评估所述的表达的多肽, 例如半胱氨酸突变的IL-28和IL-29对肿瘤招募脉管系统和进行转移的能力的影响。此外, 除了使用腺病毒外, 可用IL-28和IL-29瞬时转染移植的细胞。使用稳定的IL-28或IL-29转染子和使用可诱导的启动子在体内激活IL-28或IL-29的表达在本领域内是已知的并且可用于该系

统以评估转移的诱导。此外，可将纯化的经IL-28或IL-29条件化的培养基直接注射入该小鼠模型中，从而可用于该系统中。关于一般的参考资料，参见，O'Reilly MS, 等人 Cell 79: 315-328, 1994; 和 Rusciano D, 等人 Murine Models of Liver Metastasis. Invasion Metastasis 14: 349-361, 1995。

本发明提供了治疗癌症的方法，其包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽选自SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161，其中所述癌症选自B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌。多肽任选地还可包括聚乙二醇部分，该聚乙二醇部分可共价地连接至多肽(例如，通过氨基末端的氨基连接)。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约20kD、30kD或40kD的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了治疗癌症的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的序列具有至少90%或95%的序列同一性，其中所述癌症选自B细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性

白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌。所述多肽可具有SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的至少15、至少30、至少45或至少60个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约20kD、30kD或40kD的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PG丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了治疗癌症的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的序列具有至少90%或95%的序列同一性的多肽、和药物可接受的媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。所述多肽可具有SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、

23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$  或干扰素  $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如 IL-2 和/或 IL-21，或其组合。

本发明也提供了治疗癌症的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性的多肽、第二多肽、药物可接受媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、

83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽还任选地包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$ 、或干扰素  $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如 IL-2 和/或 IL-21，或其组合。

本发明也提供了抑制癌症的进展的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分

支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了抑制癌症进展的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性的多肽、第二多肽、药物可接受媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽任选地还包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$ 、或干扰素  $\gamma$ ，另一

种治疗剂，例如 IL-2 和/或 IL-21，或其组合。

本发明也提供了延迟癌症的發生的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤和骨癌。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了延迟癌症的發生的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性的多肽、

第二多肽、药物可接受媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包括聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$ 、或干扰素  $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如 IL-2 和/或 IL-21，或其组合。

本发明也提供了减少癌症的严重度的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性，其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞



性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽还可任选地包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了减少癌症的严重度的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性的多肽、第二多肽、药物可接受媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和退行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和退行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、

卡波西肉瘤、和骨癌(例如,骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤)。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包含聚乙二醇部分,该部分可共价地连接至多肽(例如,通过氨基末端的氨基连接)。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物,例如人。第二多肽可以是干扰素分子,例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$ 、或干扰素  $\gamma$ , 另一种治疗剂,例如 IL-2 和/或 IL-21, 或其组合。

本发明也提供了抑制癌症的至少一种病症或症状的方法,该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽,该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性,其中所述癌症选自 B 细胞淋巴瘤、慢性淋巴细胞性白血病、急性淋巴细胞性白血病、非何杰金氏淋巴瘤、多发性骨髓瘤、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞性白血病、肾细胞癌、宫颈癌、黑色素瘤、甲状腺癌、恶性胶质瘤、乳腺癌、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、

143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了抑制癌症的其中至少一种病症或症状的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90%或 95%的序列同一性的多肽、第二多肽、药物可接受媒介物；其中所述癌症选自肾细胞癌、宫颈癌（例如，鳞状类型和腺癌）、头颈部肿瘤（例如，咽下癌、喉癌、唇和口腔癌、不明原发性颈部鳞状转移癌、鼻咽癌、口咽癌、鼻窦和鼻腔癌、甲状旁腺癌和唾液腺癌）、黑色素瘤（例如，恶性黑色素瘤例如浅表扩展性黑色素瘤、结节性黑色素瘤和恶性雀斑样黑色素瘤）、甲状腺癌（例如，乳头状癌、滤泡癌、髓癌和移行发育性癌）、恶性胶质瘤（例如，多形性恶性胶质瘤和移行发育性星形细胞瘤）、乳腺癌（例如，导管癌）、结肠癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌、睾丸癌、卡波西肉瘤、和骨癌（例如，骨肉瘤、尤因肉瘤、软骨肉瘤、梭形细胞肉瘤和脊索瘤）。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该

部分可共价地连接至多肽(例如,通过氨基末端的氨基连接)。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物,例如人。第二多肽可以是干扰素分子,例如干扰素 $\alpha$ 、干扰素 $\beta$ 、或干扰素 $\gamma$ ,另一种治疗剂,例如 IL-2 和/或 IL-21,或其组合。

本发明也提供了抑制非何杰金氏淋巴瘤的至少一种病症或症状的方法,该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽,该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性,其中所述病症或症状中的至少一种选自颈部、腋窝或腹股沟中的淋巴结无痛肿胀、盗汗、不明原因发烧(unexplained fever)、体重减轻和过度疲劳。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分,该部分可共价地连接至多肽(例如,通过氨基末端的氨基连接)。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物,例如人。

本发明也提供了抑制非何杰金氏淋巴瘤的至少一种病症或症状的方法,该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂,该制剂包含:和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、

89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的序列具有至少90%或95%的序列同一性的多肽、第二多肽、和药物可接受媒介物；其中所述病症或症状中的至少一种选自颈部、腋窝或腹股沟中的淋巴结无痛肿胀、盗汗、不明原因发烧、体重减轻和过度疲劳。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的至少15、至少30、至少45或至少60个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约20kD、30kD或40kD的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素 $\alpha$ 、干扰素 $\beta$ 、或干扰素 $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如IL-2和/或IL-21，或其组合。

本发明也提供了抑制多发性骨髓瘤的至少一种病症或症状的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的序列具有至少95%的序列同一性，其中所述病症或症状中的至少一种选自背部疼痛、体重减轻、贫血、肾损伤、反复的呼吸道感染和高血钙症。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、

95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的至少15、至少30、至少45或至少60个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至该多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约20kD、30kD或40kD的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了抑制多发性骨髓瘤的至少一种病症或症状的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的序列具有至少90%或95%的序列同一性的多肽、第二多肽、和药物可接受媒介物；其中所述病症或症状中的至少一种选自背部疼痛、体重减轻、贫血、肾损伤、反复的呼吸道感染和高血钙症。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157和161的至少15、至少30、至少45或至少60个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约20kD、30kD或40kD的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素 $\alpha$ 、干扰素 $\beta$ 、或干扰素 $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如IL-2和/或IL-21，或其组合。

本发明也提供了抑制头与颈的肿瘤的至少一种病症或症状的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽，该多肽和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性，其中所述病症或症状中的至少一种选自在数周内不能愈合的头部或颈部的溃疡或疮区域、吞咽困难、呼吸或说话困难、口中麻木的感觉、鼻出血、持续耳痛、听觉困难以及口或颈的肿胀或肿块。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

本发明也提供了抑制头与颈的肿瘤的至少一种病症或症状的方法，该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的制剂，该制剂包含：和选自 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的序列具有至少 90% 或 95% 的序列同一性的多肽、第二多肽、和药物可接受媒介物；其中所述病症或症状中的至少一种选自在数周内不能愈合的头部或颈部的

溃疡或疮区域、吞咽困难、呼吸或说话困难、口中麻木的感觉、鼻出血、持续耳痛、听觉困难以及口或颈的肿胀或肿块。所述多肽可具有 SEQ ID NO: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161 的至少 15、至少 30、至少 45 或至少 60 个连续氨基酸。所述多肽任选地还可包含聚乙二醇部分，该部分可共价地连接至多肽（例如，通过氨基末端的氨基连接）。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。第二多肽可以是干扰素分子，例如干扰素  $\alpha$ 、干扰素  $\beta$ 、或干扰素  $\gamma$ ，另一种治疗剂，例如 IL-2 和/或 IL-21，或其组合。

存在 4 种主要类型的在皮肤中发生的恶性黑色素瘤。这些黑色素瘤称为皮肤黑色素瘤。

浅表扩展性黑色素瘤是黑色素瘤的最常见类型。大约 10 个中有 7 个（70%）是该类型。其主要在中年人中发生。妇女中最常见的位置是在腿上，而在男人中更常见地发生于躯干，特别是背部。其倾向于最初在整个皮肤表面上扩展：这称为放射生长期。如果在该时期除去黑色素瘤，则存在非常高的治愈机会。如果未除去黑色素瘤，其将开始向下生长至皮肤的更深层。此时存在其在血流或淋巴系统中扩散至身体的其他部分的可能性。结节性黑色素瘤最常发生在胸部或背部。其最常见地发现于中年人中。如果不将其去除，其倾向于非常快速地向皮肤更深层生长。该类型的黑色素瘤通常隆起高于皮肤表面的其他部分，感觉象肿块。其可以是非常深的棕黑色或黑色。恶性雀斑样黑色素瘤最常见地发现于脸部，特别是老年人中。其生长缓慢，可花费数年的时间进行发展。肢端黑色素瘤通常发现于手掌、脚的足底或脚趾甲周围。皮肤黑色素瘤的其他非常罕见的类型包括无黑色素性恶性黑



色素瘤（其中黑色素瘤丧失其色素并表现为白色区域）和结缔组织增生性黑色素瘤（其包含纤维状瘢痕组织）。恶性黑色素瘤可始于除皮肤以外的身体部分，但这非常罕见。可受影响的身体的部分是眼睛、口、指甲下（称为甲床黑瘤）、外阴或阴道组织、或内部（cancerbacup 国际互联网网站）。

大部分黑色素瘤始于正常皮肤外观上的改变。其可看起来象异常的新痣。不到三分之一的在已存在的痣上发展。可能很难区分痣和黑色素瘤之间的差异，但可使用下列核查项目来帮助区别。其被称为 ABCD 目录。不对称性-普通的痣在形状上通常是对称的。黑色素瘤可能是不规则的或不对称的。边缘-痣通常具有明确确定的规则边缘。黑色素瘤更可能具有带有锯齿边缘的不规则边缘。颜色-痣通常是均一的棕色。黑色素瘤倾向于具有超过一种颜色。其可以是不同的、混杂有黑色、红色、粉红色、白色或淡蓝色色调的棕色色度。直径-痣一般不超过铅笔的钝头（大约 6mm 截面）。黑色素瘤直径通常超过 7mm。正常的痣可从皮肤隆起和/或可具有毛发。搔痒、结硬皮或出血也可在黑色素瘤中发生-这些是较不一般的征兆，但不应当被忽视（cancerbacup 国际互联网网站）。可在这样的鼠类黑色素瘤模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的效应，所述模型类似于 Hermans 等人，Cancer Res. 2003 Dec 1; 63(23):8408-13; Ramont 等人，Exp Cell Res. 2003 Nov 15; 291(1):1-10; Safwat 等人，J Exp Ther Oncol. 2003 Jul-Aug; 3(4):161-8; 和 Fidler, I. J., Nat New Biol. 1973 Apr 4; 242(118):148-9 中描述的模型。

慢性髓细胞样白血病 (CML) 是主要影响成年人的罕见癌症类型。其是粒细胞（白细胞主要类型中的一种）的癌症。在 CML 中产生太多的粒细胞，当其未成熟时其被释放入血液中，因而不能正常行使功能。未成熟白细胞称为胚细胞 (blasts)。其他类型的血细胞的产生也被破坏。一般地，白细胞以有序和受控的方式修复和再生其自身，但在慢性髓细胞样白血病中，该过程不受控制，细胞不正常地持续地分裂和成熟。该疾病发展通常非常缓慢，这是其被称为‘慢性’髓细胞样

白血病 (cancerbacup 国际互联网网站) 的原因。

因为 CML 缓慢地发展 (进展), 因此难以在其早期阶段检测其。有时只有当因为另一种原因检测血液时才发现其。CML 的症状通常不明晰并且是非特异性的, 其由骨髓中增加的非正常的白细胞数目和减少的正常血细胞的数目引起: 腹部左侧的发胀或触痛肿块的感觉。这是因为, 在 CML 中, 脾脏可变大。脾脏是正好位于腹部左侧的肋骨下方的器官。其过滤血液和除去损坏的红细胞。脾脏肿胀也导致对胃的压力, 这可导致消化不良和食欲不振, 由于缺少红细胞 (贫血症) 的原因, 一些人感觉疲劳和显得脸色苍白, 由于血液中较低的血小板数目, 一些人可注意到其更容易出血或擦伤。擦伤也比正常人更容易, 可看到特殊的擦伤。这由通常在腿上或在口中看到的小血样斑构成, 其被称为瘀点。妇女可发现其周期变得非常严重。然而, 这些症状和征候非常罕见, 一些人可注意到全身化的搔痒。慢性髓细胞样白血病可在任何年龄发生, 但其更常见地影响中年和老年人。儿童中该病是罕见的 (cancerbacup 国际互联网网站)。可在这样的鼠类慢性髓细胞样白血病模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响, 所述模型类似于 Ren, R., *Oncogene*. 2002 Dec 9; 21 (56): 8629-42; Wertheim 等人, *Oncogene*. 2002 Dec 9; 21 (56): 8612-28; 和 Wolff 等人, *Blood*. 2001 Nov 1; 98 (9): 2808-16 中描述的模型。

非何杰金氏淋巴瘤是淋巴系统的癌症类型。存在两种主要类型的淋巴瘤。一种称为何杰金氏疾病 (以第一个描述其的 Dr Hodgkin 的名字命名)。另一种称为非何杰金氏淋巴瘤。存在大约 20 种不同类型的非何杰金氏淋巴瘤。在大多数何杰金氏疾病的病例中, 在活组织检查中发现称为里德-斯特恩伯格细胞的特殊细胞。该细胞通常不在其他淋巴瘤中发现, 因此其被称为非何杰金氏淋巴瘤。这似乎可能没有非常大的差异, 但其是重要的, 因为对何杰金氏和非何杰金氏淋巴瘤的疗法可以是非常不同的 (cancerbacup 国际互联网网站)。

通常, 非何杰金氏淋巴瘤的第一征候是颈、腋窝或腹股沟中的淋

巴结的无痛肿胀。其他症状可包括下列症状中的任一种：盗汗或不明原因的高温（发烧）；食欲不振、不明原因的体重减轻和过度疲劳；儿童可发生咳嗽或气喘。其也可有腹痛或你可注意到你孩子的腹部中的肿块，持续的遍及全身的皮肤搔痒（cancerbacup 国际互联网网站）。可在这样的何杰金氏淋巴瘤模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响，所述模型类似于 Ansell 等人，*Leukemia*. 2004 Mar; 18(3): 616-23; De Jonge 等人，*J Immunol*. 1998 Aug 1; 161(3): 1454-61; 和 Slavin 等人，*Nature*. 1978 Apr 13; 272(5654): 624-6 中描述的模型。

肾细胞癌，是涉及肾小管细胞中的癌性改变的肾癌形式，是成人中最常见的肾癌类型。细胞变成癌的原因不清楚。吸烟史大大地增加了发展肾细胞癌的可能性。一些人也可具有增加的发展肾细胞癌的内在可能性，肾癌家族史增加该可能性。患有脑视网膜血管瘤病（影响脑部毛细血管的遗传病）的人通常也发展肾细胞癌。要求透析治疗的肾病也增加了发展肾细胞癌的可能性。第一症状通常是尿血。有时两个肾都涉及。该癌症很容易转移或扩散至，最常见地，肺和其他器官，大约 1/3 的患者在诊断时具有转移灶（Medline Plus Medical Encyclopedia 国际互联网网站）。可在这样的鼠类肾细胞癌模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响，所述模型类似于 Sayers 等人，*Cancer Res*. 1990 Sep 1; 50(17): 5414-20; Salup 等人，*Immunol*. 1987 Jan 15; 138(2): 641-7; 和 Luan 等人，*Transplantation*. 2002 May 27; 73(10): 1565-72 中描述的模型。

子宫颈是向阴道开放的子宫的颈部。子宫颈癌，也称作宫颈癌，从子宫颈表面上的非正常细胞发展而来。子宫颈癌是影响妇女的最常见癌症中的一种。在子宫颈癌发生之前，通常在子宫颈表面的细胞中发生发育异常、癌前病变。这些异常细胞可进展至侵袭性癌症。在癌症出现后，其可进展通过 4 个阶段。根据癌症扩散的程度确定所述阶段。癌症扩散越多，治疗的范围可能越广泛。存在两种主要类型的子宫颈癌：(1) 鳞状类型（表皮样癌）：这是最常见的类型，占子宫颈癌

的大约 80%至 85%。该癌症可由性传播疾病引起。一个这样的性病是引起尖锐湿疣的人乳头状瘤病毒。癌性肿瘤在子宫颈上生长并生长入子宫颈内。该癌症通常始于子宫颈表面，其可过巴氏涂片 (Pap smear) 在早期阶段进行诊断。(2)腺癌：该类型的子宫颈癌发展自子宫颈沟中的颈腺中的组织。早期子宫颈癌通常不产生症状。该癌症通常通过巴氏涂片和骨盆检查来检测。这是只要你变得性活跃时你就应当开始进行巴氏涂片和骨盆检查的原因。从未有过性活跃的健康年轻妇女应当在 18 岁前进行其第一次一年一次的骨盆检查。子宫颈癌的晚期阶段导致异常的阴道出血或在意外时间例如月经期之间、性交之后或绝经之后的白带夹血丝。异常阴道分泌物可以是混浊的或带血的或可包含具有异味的粘液。癌症的晚期可导致疼痛 (University of Michigan Health System 国际互联网网站)。可在这样的鼠类子宫颈癌模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响，所述模型类似于 Ahn 等人, Hum Gene Ther. 2003 Oct 10; 14(15):1389-99; Hussain 等人, Oncology. 1992; 49(3):237-40; 和 Sengupta 等人, Oncology. 1991; 48(3):258-61 中描述的模式。

头与颈的大多数癌是称为癌瘤的类型 (特别是鳞状细胞癌)。头与颈的癌始于形成口、鼻、咽喉或耳的内层 (lining) 或覆盖舌表面层的细胞。然而，头与颈的癌症可从其他类型的细胞发展而来。淋巴瘤可从淋巴系统的细胞发展而来。肉瘤发展自构成肌肉、软骨或血管的支持性细胞。黑色素瘤始自为眼睛和皮肤提供颜色的称为黑素细胞的细胞。头与颈的癌症的症状依赖于其发生的部位 - 例如，舌癌可导致一些说话的含糊不清。最常见症状是在数周内不能愈合的头或颈部的溃疡或疮区域；吞咽困难、或咀嚼或吞咽时疼痛；呼吸或说话困难，例如持续有噪音的呼吸、言语不清或声音嘶哑；口中麻木的感觉；持续的鼻塞、或鼻出血；持续耳痛，耳鸣或听觉困难；口或颈部的肿胀或肿块；脸或上颌的疼痛；在吸烟或咀嚼烟草的人中，癌前病变可在口的衬里或舌上发生。这些可表现为持久的白斑 (粘膜白斑病) 或红斑 (粘膜红斑病)。其通常是无痛的但有时溃疡或可出血 (Cancerbacup 国

际互联网网站)。可在这样的鼠类的头与颈的肿瘤模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响,所述模型类似于 Kuriakose 等人, Head Neck. 2000 Jan; 22(1):57-63; Cao 等人, Clin Cancer Res. 1999 Jul; 5(7):1925-34; Hier 等人, Laryngoscope. 1995 Oct; 105(10):1077-80; Braakhuis 等人, Cancer Res. 1991 Jan 1; 51(1):211-4; Baker, S.R., Laryngoscope. 1985 Jan; 95(1):43-56; 和 Dong 等人, Cancer Gene Ther. 2003 Feb; 10(2):96-104 中描述的模型。

乳头状和滤泡甲状腺癌占有所有甲状腺癌的 80 至 90%。两种类型都始于甲状腺的滤泡细胞。大部分乳头状和滤泡甲状腺癌倾向于缓慢生长。如果早期检测到其,大部分可被成功地治愈。甲状腺髓样癌 (Medullary thyroid cancer) 占甲状腺癌病例的 5 至 10%。其产生于 C 细胞,而不是滤泡细胞。如果在甲状腺髓样癌扩散至身体的其他部分之前发现和治理其,很容易控制其。甲状腺退行发育性癌 (Anaplastic thyroid cancer) 是最不常见的甲状腺癌类型(只占病例的百分之 1 至 2)。其产生于滤泡细胞。癌细胞高度异常和难以识别。该类型的癌症通常难以控制,因为癌细胞倾向于非常快速地生长和扩散。早期甲状腺癌通常不产生症状。但随着癌症生长,症状可包括:亚当氏喉结附近的颈的前方的肿块、或小节;声音嘶哑或难以以正常声音说话;肿胀的淋巴结,特别是在颈部;难以吞咽或呼吸;或喉或颈部疼痛(National Cancer Institute 的国际互联网网站)。可在这样的鼠类或大鼠甲状腺肿瘤模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响,所述模型类似于 Quidville 等人, Endocrinology. 2004 May; 145(5):2561-71 (小鼠模型); Cranston 等人, Cancer Res. 2003 Aug 15; 63(16):4777-80 (小鼠模型); Zhang 等人, Clin Endocrinol (Oxf). 2000 Jun; 52(6):687-94 (大鼠模型); 和 Zhang 等人, Endocrinology. 1999 May; 140(5):2152-8 (大鼠模型)中描述的模型。

始于大脑组织的肿瘤称为大脑的原发性肿瘤。根据其开始的细胞

类型或大脑的部分命名原发性大脑肿瘤。最常见的原发性大脑肿瘤是神经胶质瘤。其始于神经胶质细胞。存在许多类型的神经胶质瘤。(1)星形细胞瘤-肿瘤产生于称为星形细胞的星状胶质细胞。在成人中,星形细胞瘤最常见地产生于大脑。在儿童中,其在脑干、大脑和小脑中发生。III期星形细胞瘤有时称作退行发育性星形细胞瘤。IV期星形细胞瘤通常称为多形性恶性胶质瘤。(2)脑干神经胶质瘤-肿瘤在脑的最低部分发生。在幼儿和中年成人中,最常诊断出脑干神经胶质瘤。(3)室管膜瘤-肿瘤产生自排列在脑室或脊髓的中央管中的细胞。其最常见地发现于儿童和年轻成人。(4)少突神经胶质瘤-该罕见肿瘤产生于产生覆盖和保护神经的脂肪物质的细胞。这些肿瘤通常在大脑中发生。其生长缓慢,通常不扩散入周围的脑组织。其最常见地在中年成人中。脑肿瘤的症状依赖于肿瘤的大小、类型和位置。当肿瘤压迫神经或破坏脑的某些区域时可引起症状。当脑肿胀或液体在颅内积累时也可产生其。这些症状是最常见的脑肿瘤症状:头痛(通常在早晨更严重);恶心或呕吐;说话、视觉或听觉上的改变;平衡或行走问题;情绪、个性或集中精力的能力的变化;记忆问题;肌肉痉挛或颤搐(癫痫发作或惊厥);以及手臂或腿的麻木或麻刺感(National Cancer Institute的国际互联网网站)。可在这样的神经胶质瘤动物模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响,所述模型类似于 Schueneman 等人, Cancer Res. 2003 Jul 15; 63(14): 4009-16; Martinet 等人, Eur J Surg Oncol. 2003 May; 29(4): 351-7; Bello 等人, Clin Cancer Res. 2002 Nov; 8(11): 3539-48; Ishikawa 等人, Cancer Sci. 2004 Jan; 95(1): 98-103; Degen 等人, J Neurosurg. 2003 Nov; 99(5): 893-8; Engelhard 等人, Neurosurgery. 2001 Mar; 48(3): 616-24; Watanabe 等人, Neurol Res. 2002 Jul; 24(5): 485-90; 和 Lumniczky 等人, Cancer Gene Ther. 2002 Jan; 9(1): 44-52 中描述的模式。

多发性骨髓瘤是种癌症类型。其影响某些称为浆细胞的白细胞。

当癌症涉及浆细胞时，身体保持产生越来越多的这些细胞。不必要的浆细胞—所有非正常的和所有完全相同的—被称为骨髓瘤细胞。骨髓瘤细胞倾向于集中在骨髓中和骨的硬的外侧部分。有时其只集中在一个骨中并形成单个团块，或肿瘤（称为浆细胞瘤）。然而，在多数情况下，骨髓瘤细胞集中在许多骨中，通常形成许多肿瘤并导致其他问题。当该情况发生时，疾病称为多发性骨髓瘤。

骨髓瘤细胞倾向于集中在骨髓中和骨的硬的外侧部分。有时其只集中在一个骨中并形成单个团块，或肿瘤（称为浆细胞瘤）。然而，在大多数情况下，骨髓瘤细胞集中在许多骨中，通常形成许多肿瘤并导致其他问题。当该情况发生时，疾病称为多发性骨髓瘤。因为具有多发性骨髓瘤的人具有不正常的大量的相同的浆细胞，因此其也具有太多的一种类型的抗体。这些骨髓瘤细胞和抗体可导致许多严重的医学问题：(1)随着骨髓瘤细胞在数量上的增加，其破坏和弱化骨，导致疼痛和有时断裂。骨疼痛可使患者行动困难；(2)当骨被破坏时，钙被释放入血中。这可导致高血钙症—血液中存在太多的钙。高血钙症可导致食欲不振、恶心、渴感、疲劳、肌无力、不安和意识错乱；(3)骨髓瘤细胞阻止骨髓形成正常的浆细胞和对于免疫系统非常重要的其他白细胞。患者可能不能够抵抗感染和疾病；(4)癌细胞也可阻止新的红细胞的生长，导致贫血症。患有贫血症的患者可经常感觉疲劳或虚弱；和(5)多发性骨髓瘤患者在其肾上可具有严重的问题。过量的抗体蛋白和钙可阻止肾正常地过滤和净化血液。多发性骨髓瘤的症状依赖于疾病的进展。在疾病的最早期，可以无症状。当症状确实发生时，患者通常具有骨痛，通常在背部和肋骨。患者也可具有断骨、虚弱、疲劳、体重减轻或反复的感染。当疾病进展时，症状可包括恶心、呕吐、便秘、排尿问题、腿部无力或麻木(National Cancer Institute的国际互联网网站)。可在这样的多发性骨髓瘤鼠类模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响，所述模型类似于 Oyajobi 等人, Blood. 2003 Jul 1; 102(1): 311-9; Croucher 等人, J Bone Miner Res. 2003 Mar; 18(3): 482-92; Asosingh 等人, Hematol

J. 2000; 1(5): 351-6; 和 Miyakawa 等人, Biochem Biophys Res Commun. 2004 Jan 9; 313(2): 258-62 中描述的模型。

可在人小细胞/非小细胞肺癌异种移植模型中评估 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白对肿瘤应答的影响。简而言之, 将人肿瘤移植入免疫缺陷型小鼠, 并用 IL-28 或 IL-29 多肽、片段或融合蛋白单独地或和其他这样的试剂一起治疗这些小鼠, 所述其他试剂可用于, 通过评估肿瘤的生长, 证明治疗的功效 (Nemati 等人, Clin Cancer Res. 2000 May; 6(5): 2075-86; 和 Hu 等人, Clin Cancer Res. 2004 Nov 15; 10(22): 7662-70)。

编程性细胞死亡的强效诱导剂 Apo2L/TNF 关联性编程性细胞死亡性诱导配体 (TRAIL) 作为潜在的肿瘤特异性癌症治疗剂已产生了令人振奋的前景, 因为相对于正常细胞, 其在经转化的细胞中选择性地诱导编程性细胞死亡。干扰素 (IFN) 是 TRAIL 表达的重要调节剂, 因此该配体似乎在抗病毒感染和恶性转化的监视中发挥重要作用。Fiorucci 等人, Curr Pharm Des. 2005; 11(7): 933-44。IL-28 和 IL-29 也似乎是 TRAIL 的重要调节剂 (参见实施例 41, 其中 TRAIL 受 IL-29 上调)。

### C. IL-28 和 IL-29 治疗自身免疫性疾病的用途

本发明也提供了治疗、预防自身免疫性疾病、抑制其进展、延迟其发生、和/或减少和其相关的至少一种病症或症状的方法, 该方法包括给需要其的患者施用治疗有效量的多肽, 该多肽选自 SEQ ID NOs: 2、4、6、13、15、17、19、21、23、25、27、29、36、37、38、39、40、41、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157 和 161, 其中所述自身免疫疾病选自多发性硬化、关节炎、类风湿性关节炎、炎性肠病、全身性红斑狼疮和牛皮癣。多肽任选地还可包含聚乙二醇部分, 该部分可共价地连接至多肽 (例如, 通过氨基末端的氨基连接)。聚乙二醇可以是线性的或分支的。聚乙二



醇可具有大约 20kD、30kD 或 40kD 的分子量。聚乙二醇可以是单甲氧基-PEG 丙醛。施用多肽的患者可以是哺乳动物，例如人。

### 1. 类风湿性关节炎

类风湿性关节炎是其中身体的免疫应答靶向抗身体的自身蛋白，特别是胶原蛋白的自身免疫性疾病，所述胶原蛋白是多个组织特别是关节的基础。所造成的抗胶原蛋白的免疫应答导致关节的破坏。一段时间后，患者可丧失运动其手指和脚趾的能力和可遭受关节和膝盖中的急性疼痛。来自关节炎患者的血清具有增加量的  $TNF\alpha$  (肿瘤坏死因子) 和抗胶原抗体，两者不仅都是慢性疾病的指示剂而且都对该疾病的病理学有贡献 (Smolen 和 Stein+er G, Nat. Rev. Drug Discov., 2: 473-488, 2003; Firestein, Nature 423: 356-361, 2003.)。此外，该疾病由  $CD4^+$  T 细胞启动和介导。DC 呈递作为  $CD4^+$  T 细胞的抗原的胶原蛋白。胶原蛋白诱导的关节炎 (CIA) 模型是在广泛的程度上反映人中看到的疾病的类风湿性关节炎的小鼠模型 (Moore, Methods Mol. Biol. 225: 175-179, 2003; Waksman, Scand. J. Immunol., 56: 12-34, 2002)。用 2 剂在 CFA 中乳化的胶原蛋白在尾的基部免疫小鼠。这导致在一段时间内增加的爪肿胀和可以目测对其评分和使用测径器进行测量。给成组的经胶原蛋白免疫的小鼠施用 IL-28A、IL-28B 或 IL-29，估计对疾病评分的影响。IL-28A、IL-28B 和 IL-29 对爪的评分和厚度的抑制表明其对正在进行的自身免疫应答的抑制作用。

### 2. 炎性肠病

由有缺陷的免疫调节导致的肠内炎症 (称为炎性肠病 (IBD)) 被表征为两个广泛的疾病定义，克罗恩疾病 (CD) 和溃疡性结肠炎 (UC)。一般地，CD 被认为是由于  $Th1$  应答的调节中的功能障碍造成的，而据信 UC 是由于  $Th2$  应答的调节中的功能障碍引起的。已显示多个细胞因子、趋化因子和基质金属蛋白酶在来自 IBD 患者的炎性损伤中被上调。这些因子包括 IL-1、IL-12、IL-18、IL-15、 $TNF-\alpha$ 、 $IFN-\gamma$ 、 $MIP1\alpha$ 、 $MIP1$

$\beta$  和MIP2。目前REMICADE® (Centocor, Malvern, PA)是, 当治疗CD患者时, 已成功地被用于靶向疾病自身的唯一药物, 其他治疗法通常提高患者的生活质量。和IBD关联的自身免疫应答的IL-28A、IL-28B和IL-29抑制在IBD模型例如小鼠DSS、TNBS、CD4+CD45Rb<sup>hi</sup>、mdrla-/-和移植物抗宿主病(GVHD)肠炎症模型中得到了证明。(Stadnicki A和Colman RW, Arch Immunol Ther Exp 51:149-155, 2003; Pizarro TT等人, Trends in Mol Med 9:218-222, 2003)。人IBD的一个试验模型是给啮齿类动物口服施用葡聚糖硫酸钠(DSS)。DSS诱导急性和慢性溃疡性结肠炎, 该肠炎具有和人中的组织学检查所见有些相似的特征。由DSS诱导的结肠炎涉及消化道细菌、巨噬细胞和中性粒细胞, 对T细胞和B细胞作用较小(Mahler等人, Am. J. Physiol. 274:G544-G551, 1998; Egger等人, Digestion 62:240-248, 2000)。TNBS诱导的结肠炎被认为是Th1介导的疾病, 从而和人中的UC相比, 其更和CD相似。将三硝基苯磺酸(TNBS)以不同剂量(依赖于品系)经直肠内途径输入小鼠以诱导抗原特异性(TNBS) T细胞应答, 该应答包括Th1样细胞因子IL-12、IL-18和IFN $\gamma$ 的分泌。结肠炎涉及抗原特异性T细胞、巨噬细胞和中性粒细胞至炎症位点的募集反应(Neurath等人, Int. Rev. Immunol., 19:51-62, 2000; Dohi T等人, J. Exp. Med. 189:1169-1179, 1999)。结肠炎的另一相对新的模型是至SCID小鼠内的CD4+CD45Rb<sup>hi</sup> 转移模型。基于CD45Rb的表达, 可将CD4<sup>+</sup> T细胞广泛地分为2类。CD4+CD45Rb<sup>hi</sup> 细胞被认为是初始(näive) T细胞, 而CD4+CD45Rb<sup>lo</sup> 细胞被认为是调节性T细胞。完全CD4<sup>+</sup> T细胞至同系SCID小鼠的转移不诱导结肠炎症状。然而, 如果只将 CD4+CD45Rb<sup>hi</sup> T细胞注射入SCID小鼠, 小鼠将在3-6周的时期内发展出结肠炎。CD4+CD45Rb<sup>lo</sup> 调节性T细胞和初始T细胞一起的共转移抑制了结肠炎, 表明调节性T细胞在调节免疫应答中起着重要作用(Leach等人, Am. J. Pathol., 148:1503-1515, 1996; Powrie等人, J. Exp. Med., 179:589-600, 1999)。该模型将证明, IL-28A、IL-28B和IL-29, 通过其在小鼠中产生耐受性DC的能力上调T调节性功能, 抑制结肠炎。和骨髓移植关联的

结肠炎的临床相关性模型是GVHD诱导的结肠炎。移植物抗宿主病(GVHD)在效应细胞的无免疫活性、组织相容性受者中发展,该受者增殖并攻击宿主细胞。接受同种异体骨髓移植的患者或重度再生障碍性贫血患者可能患有GVHD。在小鼠和人中,腹泻是该综合症的最常见和严重的症状。在人中,都已观察到结肠和小肠疾病。GVHD诱导的结肠炎的小鼠模型显示在人中看到的相似的组织学疾病。因而这些小鼠模型可用于确定抑制结肠炎的药物对GVHD的功效(Eigenbrodt等人, Am. J. Pathol., 137:1065-1076, 1990; Thiele等人, J. Clin. Invest., 84:1947-1956, 1989)。

### 3. 全身性红斑狼疮

全身性红斑狼疮(SLE)是与免疫复合物关联的疾病,其特征在于针对普遍存在的自身抗原(抗dsDNA)的长期的IgG抗体产生。SLE的作用是全身性的,而不是局限在特定器官。多个染色体基因座已和疾病关联并且可对疾病的不同方面起作用,例如抗dsDNA抗体和肾小球肾炎。已显示CD4<sup>+</sup> T细胞在SLE的小鼠模型中起重要作用(Horwitz, Lupus 10:319-320, 2001; Yellin和Thienel, Curr. Rheumatol. Rep., 2:24-37, 2000)。CD8<sup>+</sup> T细胞的作用没有得到明确的确定,但有证据表明“抑制剂”CD8<sup>+</sup> T细胞的功能在狼疮患者中被损害(Filaci等人, J. Immunol., 166:6452-6457, 2001; Sakane等人, J. Immunol., 137:3809-3813, 1986)。

就IL-28A、IL-28B和IL-29的活性测定来自人SLE患者和小鼠模型的血清。在和IL-28A、IL-28B或IL-29一起培养后,体外评估来自人SLE患者的PBL中的CD8<sup>+</sup> T细胞抑制剂的活性。通过其抑制抗CD3诱导的自体PBMC增殖的能力来评估来自SLE患者的CD8<sup>+</sup> T细胞的抑制剂活性。抑制功能和培养物中IFN  $\gamma$  和IL-6的分泌相关。来自经IL-28A、IL-28B或IL-29处理的患者的培养物中的增加的IFN  $\gamma$  和IL-6可显示更高的抑制剂活性(Filaci等人, J. Immunol. 166:6452-6457, 2001)。

#### 4. 牛皮癣

牛皮癣,是和增生性表皮角质形成细胞和浸润性单核细胞,包括CD4+记忆T细胞、中性粒细胞和巨噬细胞关联的慢性炎性皮肤病(Christophers, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 110:199, 1996)。目前认为环境抗原在引起和促成疾病的病理学中发挥重大的作用。然而,对自身抗原的耐受性的丧失被认为介导了牛皮癣的病理学。树突细胞和CD4<sup>+</sup>T细胞据认为在介导导致病理学的免疫应答的抗原呈递和识别中起着重要作用。最近发展了基于CD4+CD45RB转移模型的牛皮癣模型(Davenport等人, *Internat. Immunopharmacol.*, 2:653-672 (2002))。给用诱导牛皮癣的细胞注射的小鼠施用IL-28A、IL-28B或IL-29并评估对临床评分(皮肤疾病)的效果,显示了IL-28A、IL-28B和IL-29的有益效果。

IL-28A、IL-28B或IL-29可和已在自身免疫性和/或癌症中使用的其他试剂一起使用,所述其他试剂包括例如干扰素 $\alpha$ (IFN- $\alpha$ ,例如,PEGASYS®、PEG-INTRON®、INFERGEN®、Albuferon-Alpha™)、干扰素 $\beta$ (IFN- $\beta$ ,例如,AVONEX®、BETASERON®、REBIF®)、干扰素 $\gamma$ (IFN $\gamma$ ,例如,ACTIMMUNE®)、NOVANTRONE®、ENBREL®、REMICADE®、LEUKINE®、APO2L/TNF-关联性编程性细胞凋亡诱导性配体(TRAIL)、IL-21和IL-2。通过各种方法确定IL-28A、IL-28B和IL-29的最佳剂量水平和给药方案,所述方法包括IL-28A、IL-28B和IL-29的药物动力学和药效动力学的研究;动物模型中有效剂量的确定,和IL-28A、IL-28B和IL-29的毒性评估。然后可用在灵长类动物和临床试验中进行的直接的药物动力学测量预测患者中的理论剂量,该剂量获得具有足够的强度和持续时间以在患者中获得生物学反应的血浆IL-28A、IL-28B和IL-29水平。

通过下列非限定性实施例进一步举例说明本发明。

#### 实施例

#### 实施例1

### 哺乳动物表达质粒

通过同源重组构建包含zcyto20和zcyto21的表达质粒。使用PCR扩增法产生zcyto20和zcyto21 cDNA的片段。用于PCR的引物如下：

zcyto20/pZMP21: zc40923和zc43152分别为SEQ ID NOS: 42和43;  
zcyto21/pZMP21: zc40922和zc43153分别为SEQ ID NOS: 72和73。

将PCR反应混合物在1%的琼脂糖凝胶上跑胶，使用QIAquick™ Gel Extraction试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)凝胶提取对应于插入物大小的条带。

将用BglIII切割的质粒pZMP21用于和PCR插入片段重组。质粒pZMP21是包含表达盒的哺乳动物表达载体，该表达盒具有MPSV启动子、和用于编码性序列插入的多个限制位点；大肠杆菌复制起始位点；包含SV40启动子、增强子、复制起始位点、DHFR基因和SV40终止子的哺乳动物选择标记物表达单位；和在酿酒酵母中选择和复制所需的URA3和CEN-ARS序列。其由pZP9(以保藏号98668保藏于美国典型培养物保藏中心，10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209)和获自pRS316(以保藏号77145保藏于美国典型培养物保藏中心，10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209)的酵母遗传成分、来自脊髓灰质炎病毒的内部核糖体进入位点(IRES)元件、以及在跨膜结构域的C末端截断的CD8的细胞外结构域构建而来。

独立地将100微升的感受态酵母(酿酒酵母)细胞和10 $\mu$ l插入物DNA以及100ng上述经切割的pZMP21载体混合，将混合物转移至0.2cm电穿孔小杯。使用0.75 kV (5 kV/cm)、 $\infty$ 欧姆和25  $\mu$ F的设置电源(BioRad Laboratories, Hercules, CA)对酵母/DNA混合物进行电脉冲。向小杯中加入600 $\mu$ l 1.2 M的山梨醇，以100 $\mu$ l和300 $\mu$ l等分将酵母涂板在2个URA-D板上并在30 $^{\circ}$ C下温育。大约72小时后，将来自单块板的Ura<sup>+</sup>酵母转化子重悬浮于1ml H<sub>2</sub>O中，短暂离心以沉淀酵母细胞。将细胞沉淀重悬浮于0.5ml裂解缓冲液(2% Triton X-100、1% SDS、100 mM NaCl、10 mM Tris、pH 8.0、1mM EDTA)中。向装有250 $\mu$ l经酸洗涤的玻璃珠和300 $\mu$ l酚氯仿的Eppendorf管中加入500微升裂解混合

物，涡旋3分钟，以最大速度在Eppendorf离心机中离心5分钟。将300微升水相转移至新管，使用600 $\mu$ l乙醇(EtOH)和30 $\mu$ l 3M醋酸钠来沉淀DNA，然后在最大速度下离心30分钟。将DNA沉淀重悬浮于30 $\mu$ l TE中。

使用5 $\mu$ l酵母DNA制剂和50 $\mu$ l细胞进行电感受态大肠杆菌宿主细胞(MC1061)的转化。在2.0kV、25  $\mu$ F和400欧姆下电脉冲所述细胞。电穿孔后，加入1ml SOC(2% Bacto™ Tryptone (Difco, Detroit, MI)、0.5% 酵母提取物(Difco)、10mM NaCl、2.5mM KCl、10mM MgCl<sub>2</sub>、10mM MgSO<sub>4</sub>、20mM 葡萄糖)，然后以50 $\mu$ l和200 $\mu$ l的等分将细胞涂板在2块LB AMP板(LB液体培养基(Lennox)、1.8% Bacto™ Agar (Difco)、100 mg/L 氨苄青霉素)中。

将各构建体的3个克隆的插入物接受序列分析，选择各构建体的包含正确序列的一个克隆。按照厂商说明书，使用商购获得的试剂盒(QIAGEN Plasmid Mega试剂盒, Qiagen, Valencia, CA)分离更大规模的质粒DNA。将正确的构建体命名为 zcyto20/pZMP21 和 zcyto21/pZMP21。

## 实施例 2

### 哺乳动物构建体在CHO细胞中的表达

用200单位的Pvu I在37°C下降解200 $\mu$ g zcyto20/pZMP21和 zcyto21/pZMP21构建体3小时，然后用IPA进行沉淀，在1.5mL微量离心管中离心沉淀。将上清液轻轻倒离沉淀，用1mL 70%的乙醇洗涤沉淀并在室温下温育5分钟。在14,000 RPM下在微量离心机中离心10分钟，然后将上清液吸离沉淀。然后将沉淀在无菌环境中重悬浮于750 $\mu$ l PF-CHO培养基，让其在60°C下温育30分钟。离心沉淀CHO，然后使用DNA-介质溶液进行重悬浮。将DNA/细胞混合物置于0.4cm间隙小杯中，使用下列参数进行电穿孔：950  $\mu$ F、高电容和300 V。然后取出小杯中的内容物并用PF-CHO培养基稀释至25mL，置于125mL振荡培养瓶中。将培养瓶在37°C、6%CO<sub>2</sub>下置于振荡器上的培养箱中并在120 RPM下振荡。

### 实施例 3

#### zcyto20-CHO 蛋白的纯化和分析

##### A. *Zcyto20-CHO* 蛋白的纯化

从DXB11-CHO 细胞系的汇合物中产生重组zcyto20 (IL-28A) 蛋白。收获培养物，使用0.2 $\mu$ m滤膜对培养基进行无菌过滤。

通过连续地使用 Poros HS 50 柱 (Applied Biosystems, Framingham, MA)、Monolithic WCX柱 (Isco, Inc., Lincoln, NE)、ToyoPearl Butyl 650S柱 (TosoH, Montgomeryville, PA) 和 Superdex 75 柱 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ) 获得zcyto20-CHO蛋白的纯化。在装载至Poros 50 HS柱之前，将来自DXB11-CHO的培养基调节至pH 6.0。用50mM MES (2-吗啉乙磺酸)、100mM NaCl、pH 6洗涤柱子，用10倍柱体积(CV)的线性梯度的至60%的50mM MES, 2 M NaCl, pH 6洗脱结合蛋白。收集洗脱级分，通过SDS-PAGE和考马斯亮蓝染色确定zcyto20蛋白的存在。混合包含zcyto20蛋白的该级分，用双蒸水稀释至大约20mS的导电率，将其加载至Monolithic WCX柱。用93% 50mM MES、100mM NaCl、pH 6和7%的50mM MES、2M NaCl、pH 6洗涤柱子。用25-CV的从7%至50%的线性梯度的50mM MES、2M NaCl、pH 6洗脱结合蛋白。收集洗脱的集分，通过SDS-PAGE和考马斯亮蓝染色确定zcyto20蛋白的存在。混合包含zcyto20蛋白的级分，调节至1M硫酸铵并加载至ToyoPearl Butyl 650S柱。用递减的硫酸铵梯度洗脱Zcyto20，然后混合和浓缩包含纯zcyto20的级分以注射入Superdex 75柱子。混合来自凝胶过滤柱的包含zcyto20蛋白的级分，对其进行浓缩，通过0.2 $\mu$ m滤膜进行过滤，在-80 $^{\circ}$ C下冷冻。通过BCA测定法 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL) 和HPLC-氨基酸分析确定最终纯化的蛋白的浓度。

##### B. *zcyto20-CHO* 蛋白的 SDS-PAGE 和 Western 印迹分析

使用兔抗-zcyto21-CBE-BV IgG 作为和zcyto20-CHO蛋白交叉反应的一抗，通过SDS-PAGE (Nupage 4-12% Bis-Tris, Invitrogen, Carlsbad, CA) 和Western印迹法分析重组zcyto20蛋白。按照仪器手册

中提供的说明书,使用Invitrogen's Xcell II mini-cell (Carlsbad, CA)对凝胶进行电泳,使用Invitrogen's Xcell II blot module将其转移至0.2 $\mu$ m硝酸纤维素膜(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)。在含有25mM Tris碱、200mM甘氨酸和20%甲醇的缓冲液中,在500mA下进行转移50分钟。用10%的1x PBS中的脱脂奶粉封闭膜10分钟,然后用含有2.5%脱脂奶粉的1x PBS中的一抗进行探测。在室温下标记印迹1小时,同时进行振荡。对于二抗标记,用PBS洗涤印迹3次,每次10分钟,然后用山羊抗兔IgG-HRP (Pierce Chemical Co., Rockford, IL)探测1小时。用1x PBS洗涤印迹3次,每次10分钟,使用1:1 SuperSignal® ULTRA 试剂混合物 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL)显影,使用Lumi-Imager (Boehringer Mannheim GmbH, Germany)捕获信号。

### C. 蛋白纯化和分析的概述

在非还原条件下,在4-12% Bis-Tris的凝胶上,来自CHO培养基的纯化的zcyto20蛋白主要以双联体的形式迁移至大约20kDa,少量以三联二聚体的形式迁移至大约38kDa。在还原性条件下其都分解聚集在单条20kDa的条带上。MS肽作图显示关于二硫键的两个异构体的混合物和O连糖基化位点的存在。

## 实施例 4

### zcyto21-CHO 蛋白的纯化和分析

#### A. Zcyto21-CHO 蛋白的纯化

重组zcyto21产生自稳定的DXB11-CHO细胞系。收获培养物,使用0.2 $\mu$ m的滤膜对培养基进行无菌过滤。通过从阳离子和阴离子交换层析开始,然后进行疏水相互作用层析和大小排阻层析来从条件化的培养基纯化蛋白。在装载至Poros 50 HS柱 (Applied Biosystems, Framingham, MA)之前,将DXB11-CHO培养基调节至pH 6.0。用1x PBS、pH 6洗涤柱子,用5x PBS、pH 8.4洗脱结合蛋白。收集洗脱级分,通



过SDS-PAGE和考马斯亮蓝染色确定zcyto21蛋白的存在。然后将该级分稀释至13mS的导电率，将其pH调节至8.4和使之流过Poros 50 HQ柱 (Applied Biosystems, Framingham, MA)。然后用硫酸铵将包含zcyto21蛋白的流通液调节至大约127mS，并将其装载至Toyopearl Phenyl 650S柱 (TosoH, Montgomeryville, PA)上。用递减的硫酸铵梯度洗脱Zcyto21蛋白，混合包含纯zcyto21的级分并进行浓缩以注入Superdex 75柱子 (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)。通过BCA测定法 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL) 和HPLC-氨基酸测定法确定最终纯化的蛋白的浓度。

### *B. zcyto21-CHO 蛋白的 SDS-PAGE 和 Western 印迹分析法*

通过 SDS-PAGE (Nupage 4-12% Bis-Tris, Invitrogen, Carlsbad, CA) 和通过Western印迹法 (使用兔抗zcyto21-CEE-BV IgG 作为一抗) 分析重组zcyto21蛋白。按照仪器手册中提供的说明书, 使用Invitrogen' s Xcell II mini-cell (Carlsbad, CA) 对凝胶进行电泳, 使用Invitrogen' s Xcell II blot module将其转移至0.2 $\mu$ m硝酸纤维素膜 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA)。在含有25mM Tris碱、200mM甘氨酸和20%甲醇的缓冲液中进行转移50分钟。用10%的1x PBS中的脱脂奶粉封闭转移的印迹10分钟, 然后用含有2.5%脱脂奶粉的1x PBS中的一抗进行探测。在室温下标记印迹1小时, 同时进行振荡。对于二抗标记, 用PBS洗涤印迹3次, 每次10分钟, 然后用山羊抗兔IgG-HRP (Pierce Chemical Co., Rockford, IL) 探测1小时。用1x PBS 洗涤印迹3次, 每次10分钟, 使用1:1 SuperSignal<sup>®</sup> ULTRA试剂的混合物 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL) 显影, 使用Lumi-Imager (Boehringer Mannheim GmbH, Germany) 捕获信号。

### *C. 蛋白纯化和分析的概述*

在还原和非还原条件下, 在4-12% Bis-Tris 凝胶上, 来自CHO培养基的纯化的zcyto21蛋白迁移为两条或更多条大约28kDa的条带。MS

肽作图显示关于二硫键的两个异构体的混合物以及一个N连糖基化和数个O连糖基化位点的存在。

### 实施例 5

#### IL-29的形式的鉴定

在37℃下，用大约pH 6.3的磷酸缓冲液中的序列测定级胰蛋白酶 (Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 降解来自IL-29的纯化混合物的峰级分，以限制二硫键重排。通过串连至四矩时间-飞行杂交质谱仪 (Micromass, Milford MA) 的反相HPLC (Agilent, Palo Alto, CA) 分析各降解物。收集谱，将其从荷质比转变成质量，将其和由IL-29的胰蛋白酶降解产生的所有理论上的肽和二硫键连接的肽的组合比较。通过将还原前和还原后的谱和IL-29中二硫键连接的肽的适当的质量的分配比较来确定二硫键。来自级分#20的材料显示二硫键模式C15-C112和C49-C145，C171经观察为S谷胱甘肽基半胱氨酸 (所有都参照SEQ ID NO: 4)。来自级分 #51的材料显示二硫键模式C49-C145和C112-C171，C15经观察为S谷胱甘肽基半胱氨酸 (参照SEQ ID NO: 4)。

### 实施例 6

#### 大肠杆菌表达质粒

##### 表达载体pTAP237的构建

通过同源重组将PCR产生的连接体插入pTAP186的Sma I位点来产生质粒pTAP237。质粒pTAP186衍生自质粒pRS316 (酿酒酵母穿梭载体) 和pMAL-c2 (衍生自pKK223-3并且包含*tac*启动子和*rrnB*终止子的大肠杆菌表达质粒)。质粒pTAP186包含卡那霉素抗性基因，在该质粒中，已破坏Sma I位点，使Not I和Sfi I位点侧翼连接酵母ARS-CEN6和URA3序列，这有助于通过使用Not I降解将其从质粒切除。PCR产生的连接体用合成的RBS II 序列取代pTAP186中的表达连接体序列 (expression coupler sequence)。其由各100皮摩尔的分别示于SEQ ID NOS: 44和45的寡核苷酸zc29,740和zc29,741，和大约各5皮摩尔的分别示于

SEQ ID NOS: 46和47的寡核苷酸zc29,736和zc29,738制备而来。通过PCR (10个循环: 94°C 进行30秒, 50°C下进行30秒, 和72°C下进行30秒, 然后在4°C浸泡) 组合这些寡核苷酸。通过2倍体积的100%的乙醇沉淀浓缩所得的PCR产物。将沉淀重悬浮于10 $\mu$ L水中以用于重组入用SmaI 降解的受体载体pTAP186, 从而产生包含合成的RBS II序列的构建体。将大约1  $\mu$ g的PCR产生的连接体和用SmaI降解的100ng pTAP186混合在一起并转移入感受态酵母细胞(酿酒酵母)。然后将酵母涂板在-URA D板上, 在室温下放置大约72小时。然后将来自单块板上的Ura+转化子重悬浮于1mL H<sub>2</sub>O中, 短暂离心以沉淀酵母细胞。将细胞沉淀重悬浮于0.5mL裂解缓冲液中。回收DNA并将其转化入大肠杆菌MC1061。使用各20皮摩尔的分别示于SEQ ID NOS: 44和45的寡核苷酸zc29,740和zc29,741, 通过上面公开的菌落PCR筛选克隆。将在琼脂糖凝胶上展示正确大小的条带的克隆接受序列分析。将正确的质粒命名为pTAP237。

### 实施例 7

#### IL-29半胱氨酸突变体的密码子最优化

##### A. *IL-29*野生型表达构建体的密码子最优化的产生

天然人IL-29基因序列不能很好地在*大肠杆菌*株系W3110中表达。用于IL-29编码序列的密码子的检查表明, 其包含过量的在*大肠杆菌*中使用频率最低的密码子, CAI值等于0.206。CAI是同义密码子偏爱的统计测量值, 其可用于预测蛋白产生水平(Sharp等人, Nucleic Acids Res. 15(3):1281-95, 1987)。编码高度表达的蛋白的基因倾向于具有高CAI值(> 0.6), 而由具有低CAI值( $\leq$  0.2)的基因编码的蛋白通常不能有效地表达。这表明了IL-29在*大肠杆菌*中较低产生的原因。此外, 稀有密码子在信使的第二半中的成簇存在导致了更高的翻译停止、翻译的早期终止和氨基酸的错误掺入的可能性(Kane JF. Curr. Opin. Biotechnol. 6(5):494-500, 1995)。

已显示其基因包含稀有密码子的蛋白的表达水平, 当某些稀有

tRNA的水平在宿主内增加时,可得到显著地提高(Zdanovsky等人, Applied Environmental Microb. 66: 3166-3173, 2000; You等人, Biotechniques 27: 950-954, 1999)。pRARE质粒携带编码在大肠杆菌中极少使用的几个密码子的tRNA的基因(argU, argW, leuW, proL, ileX和glyT)。所述基因在其天然的启动子的控制之下(Novy, 同上)。和pRARE的共表达增加了IL-29在大肠杆菌中的产量,产量大约为200mg/L。这些数据表明用更恰当的密码子利用重新再合成编码IL-29的基因提供了改进的用于表达大量IL-29的载体。

从16个交叠的寡核苷酸构建经密码子最优化的IL-29编码序列,所述寡核苷酸是: zc44,566 (SEQ ID NO: 48)、zc44,565 (SEQ ID NO: 49)、zc44,564 (SEQ ID NO: 50)、zc44,563 (SEQ ID NO: 51)、zc44,562 (SEQ ID NO: 52)、zc44,561 (SEQ ID NO: 53)、zc44,560 (SEQ ID NO: 54)、zc244,559 (SEQ ID NO: 55)、zc44,558 (SEQ ID NO: 56)、zc44,557 (SEQ ID NO: 57)。进行这些交叠的寡核苷酸的引物延伸,然后进行PCR扩增,产生了具有在大肠杆菌中表达的最优化的密码子的全长IL-29基因。通过酵母同源重组将最终的PCR产物插入表达载体pTAP237。从酵母中提取表达构建体并将其转化入感受态大肠杆菌MC1061。通过菌落PCR鉴定对卡那霉素抗性的克隆。通过测序确认阳性克隆,随后将其转化入生产性宿主株系W3110。具有最优化的IL-29序列的表达载体命名为pSDH184。所得的基因在大肠杆菌中的表达水平非常高,新构建体表达水平增加至大约250mg/L。

#### B. 密码子最优化的zcyto21 C172S半胱氨酸突变表达构建体的产生

用于产生zcyto21 C172S半胱氨酸突变体的策略基于QuikChange Site-Directed Mutagenesis试剂盒(Stratagene)。根据厂商建议,设计引物以导入C172S突变。这些引物称为ZG44,340 (SEQ ID NO: 58)和ZG44,341 (SEQ ID NO: 59)。按照QuikChange Mutagenesis说明书进行PCR以产生zcyto21 C172S半胱氨酸突变体。建立5个相同的50 $\mu$ l

反应。将2.5 $\mu$ l pSDH175 (缺少酵母载体主链序列) DNA用作每个反应的模板。使用下列量的反应物建立PCR混合物: 30 $\mu$ l 10x PCR缓冲液、125ng (27.42 $\mu$ l) ZG44, 340、125ng (9.18 $\mu$ l) ZG44, 341、6 $\mu$ l dNTP、6 $\mu$ l Pfu Turbo聚合酶(Stratagene, La Jolla, CA)和206.4 $\mu$ l水。以47.5 $\mu$ l的混合物等分至各反应中。PCR条件如下: 1个循环: 95 $^{\circ}$ C下进行30秒, 然后16个循环: 95 $^{\circ}$ C进行30秒, 55 $^{\circ}$ C下进行1分钟, 68 $^{\circ}$ C下进行7分钟, 然后1个循环: 68 $^{\circ}$ C下进行7分钟, 和最后在4 $^{\circ}$ C下保持。将所有5个PCR反应物装入一个管中。按照厂商的说明书, 向PCR反应物中加入5 $\mu$ l DpnI限制性内切酶并在37 $^{\circ}$ C下温育2小时。通过加入10% 3M醋酸钠和2倍体积的100%乙醇沉淀DNA。在-20 $^{\circ}$ C下保持沉淀20分钟。在14,000 rpm下离心DNA 5分钟, 通过真空干燥机干燥沉淀。将DNA沉淀重悬浮于20 $\mu$ l水中。将从PCR产生的DNA转化入大肠杆菌株系DH10B。将5 $\mu$ l DNA和40 $\mu$ l ElectroMAX DH10B细胞(Invitrogen)混合。然后使用设置至1.75 kV、100  $\Omega$ 和25 $\mu$ F的Bio-Rad Gene Pulser II<sup>TM</sup>, 在0.1cm小杯(Bio-Rad)中对细胞和DNA混合物进行电穿孔。然后将经电穿孔的细胞在37 $^{\circ}$ C下过度生长1小时。将混合物涂板在LB+25 $\mu$ g/ml卡那霉素板上并在37 $^{\circ}$ C下温育过夜。就zcyto21 C172S插入物的存在筛选10个克隆。使用QIAprep<sup>TM</sup> Spin Miniprep试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)从10个克隆中分离DNA并通过用XbaI和PstI限制性内切酶进行切割来分析插入物的存在。9个克隆包含插入物, 进行测序以确保zcyto21 C172S突变已被导入。通过测序确定克隆, 随后将其标记为pSDH188。

## 实施例 8

### 大肠杆菌IL-29表达构建体

使用PCR分离包含野生型序列的IL-29的DNA片段。在反应中使用包含载体侧翼连接序列的41个碱基对(bp)和对应于IL-29的氨基端的24bp的引物zc41, 212 (SEQ ID NO: 60), 和包含对应于包含zcyto21插入物的载体的3'末端的38bp的引物zc41, 041 (SEQ ID NO: 61)。PCR条件如下: 25个循环: 94 $^{\circ}$ C下进行30秒, 50 $^{\circ}$ C下进行30秒, 和72 $^{\circ}$ C

下进行1分钟；然后在4°C下浸泡。将PCR样品的少量样品(2-4  $\mu\text{L}$ )在使用1X TBE缓冲液的1%琼脂糖凝胶上跑胶以进行分析，观察到预期的大约500bp的片段的条带。用200 $\mu\text{L}$ 无水乙醇沉淀剩下的100 $\mu\text{L}$ 体积的反应物。将沉淀重悬浮于10 $\mu\text{L}$ 水中以用于重组入用SmaI切割的受体载体pTAP238中，从而产生上面公开的编码zcyto21的构建体。将具有正确序列的克隆命名为pTAP377。用Not1/Nco1 (10 $\mu\text{l}$  DNA、5 $\mu\text{l}$ 缓冲液3 New England BioLabs、2 $\mu\text{L}$  Not 1、2 $\mu\text{L}$  Nco1、31 $\mu\text{L}$ 水，在37°C下进行1小时)降解克隆pTAP377，用T4 DNA连接酶缓冲液(7 $\mu\text{L}$ 前面的降解物、2 $\mu\text{L}$ 的5X缓冲液、1 $\mu\text{L}$ 的T4 DNA连接酶)重新连接。该步骤除去酵母序列CEN-ARS，使载体线性化。用Pvu2和Pst1诊断性地降解pTAP337 DNA以确认酵母序列的不存在。将P/taP377 DNA转化入大肠杆菌株系W3110/pRARE，其是具有额外拷贝的稀有大肠杆菌tRNA基因的宿主株系。

## 实施例 9

### 大肠杆菌IL-28A表达构建体

使用PCR分离包含zcyto20的野生型序列(如SEQ ID NO: 1中所示的)的DNA片段。引物zc43, 431 (SEQ ID NO: 62)包含载体侧翼连接序列的41bp和对应于zcyto20的氨基端的24bp，引物zc43, 437 (SEQ ID NO: 63)包含对应于包含zcyto20插入物的载体的3'末端的38bp。PCR条件如下：25个循环：94°C下进行30秒，50°C下进行30秒，和72°C下进行1分钟；然后在4°C下浸泡。将PCR样品的少量样品(2-4  $\mu\text{L}$ )在使用1X TBE缓冲液的1%琼脂糖凝胶上跑胶以进行分析，观察到预期的大约500bp的片段的条带。用200 $\mu\text{L}$ 无水乙醇沉淀剩下的100 $\mu\text{L}$ 体积的反应物。将沉淀重悬浮于10 $\mu\text{L}$ 水中以用于重组入用SmaI切割的受体载体pTAP238中，从而产生上面公开的编码zcyto20的构建体。将具有正确序列的克隆命名为pYEL7。用Not1/Nco1 (10 $\mu\text{l}$  DNA、5 $\mu\text{l}$ 缓冲液3 New England BioLabs、2 $\mu\text{L}$  Not 1、2 $\mu\text{L}$  Nco1、31 $\mu\text{L}$ 水，在37°C下进行1小时)降解其，用T4 DNA连接酶缓冲液(7 $\mu\text{L}$ 前面的降解物、2 $\mu\text{L}$ 的5X缓

冲液、1 $\mu$ L的T4 DNA连接酶)重新连接。该步骤除去酵母序列CEN-ARS,使载体线性化。用Pvu2和Pst1诊断性地降解pYEL7 DNA以确认酵母序列的不存在。将PYEL7 DNA转化入大肠杆菌株系W3110/pRARE。

### 实施例 10

#### zcyto21 C172S半胱氨酸突变体表达构建体

用于产生zcyto21 C172S半胱氨酸突变体(SEQ ID NO: 28)的策略基于QuikChange® Site-Directed Mutagenesis试剂盒(Stratagene, La Jolla, CA)。按照厂商说明书设计引物以导入C172S突变。这些引物被称为ZG44, 327和ZG44, 328 (分别为SEQ ID NOS: 64和65)。按照QuikChange Mutagenesis说明书进行PCR以产生zcyto21 C172S半胱氨酸突变体。建立5个相同的50 $\mu$ l反应体系。每个反应将2.5 $\mu$ l pTAP377 (缺失酵母载体主链序列) DNA用作模板。使用下列量的反应物建立PCR混合物: 30 $\mu$ l 10x PCR缓冲液、125ng (27.42 $\mu$ l) ZG44, 327 (SEQ ID NO: 64)、125ng (9.18 $\mu$ l) ZG44, 328 (SEQ ID NO: 65)、6 $\mu$ l dNTP、6 $\mu$ l Pfu Turbo聚合酶(Stratagene)和206.4 $\mu$ l水。将47.5 $\mu$ l的混合物等分入各反应。PCR条件如下: 1个循环: 95 $^{\circ}$ C下进行30秒, 然后16个循环: 95 $^{\circ}$ C进行30秒, 55 $^{\circ}$ C下进行1分钟, 68 $^{\circ}$ C下进行7分钟, 然后1个循环: 68 $^{\circ}$ C下进行7分钟, 和最后在4 $^{\circ}$ C下保持。将所有5个PCR反应物装入一个管中。按照厂商的说明书, 向PCR反应物中加入5 $\mu$ l DpnI限制性内切酶并在37 $^{\circ}$ C下温育2小时。通过加入10% 3M醋酸钠和2倍体积的100%乙醇(Aaper Alcohol, Shelbyville, KY)沉淀DNA。在-20 $^{\circ}$ C下保持沉淀20分钟。在14,000 rpm下离心DNA 5分钟, 通过真空干燥机干燥沉淀。将DNA沉淀重悬浮于20 $\mu$ l水中。将从PCR产生的DNA转化入大肠杆菌株系DH10B。将5 $\mu$ l DNA和40 $\mu$ l ElectroMAX DH10B细胞(Invitrogen, Carlsbad, CA)混合。然后使用设置至1.75 kV、100  $\Omega$ 和 25 $\mu$ F 的 Bio-Rad Gene Pulser II™, 在 0.1cm 小杯(Bio-Rad, Hercules, CA)中对细胞和DNA混合物进行电穿孔。然后将经电穿孔的细胞在37 $^{\circ}$ C下过度培养1小时。将混合物涂板在LB + 25 $\mu$ g/ml

卡那霉素板上并在37℃下温育过夜。就IL-29插入物的存在筛选10个克隆。使用QIAprep™ Spin Miniprep试剂盒(Qiagen)从10个克隆中分离DNA并通过用XbaI (Roche)和PstI (New England Biolabs)限制性内切酶进行切割来分析插入物的存在。9个克隆包含插入物,进行测序以确保zcyto21 C172S突变已被导入。通过测序确定克隆(isolet #6),随后将其标记为pSDH171。可进行类似的策略产生zcyto21 C15S突变体。

### 实施例 11

#### zcyto20 C49S半胱氨酸突变体表达构建体

通过重叠PCR产生编码zcyto20 C49S半胱氨酸突变体的序列(SEQ ID NO: 20)。使用pYEL7 (SEQ ID NO: 67) 作为模板以及寡核苷酸引物zc43,431 (SEQ ID NO: 62)和zc45,399 (SEQ ID NO: 66),通过PCR扩增产生野生型IL-28A序列(SEQ ID NO: 1)的前187个碱基。使用pYEL7 (SEQ ID NO: 67)作为模板以及寡核苷酸引物zc45,398 (SEQ ID NO: 68)和zc43,437 (SEQ ID NO: 63),通过PCR扩增产生从碱基105至531的第二DNA片段。引物zc45,399 (SEQ ID NO: 66)和zc45,398 (SEQ ID NO: 68)包含经特异性修饰的将半胱氨酸49改变成丝氨酸的序列。混合这两种PCR产物,并使用寡核苷酸引物zc43,431 (SEQ ID NO: 62)和zc43,437 (SEQ ID NO: 63)进行PCR重叠扩增。通过酵母同源重组(Raymond等人 *Biotechniques*. Jan. 26(1):134-8, 140-1, 1999)将最终的PCR产物插入表达载体pTAP238。从酵母提取所述表达构建体并将其转化入感受态大肠杆菌DH10B。通过菌落PCR筛选卡那霉素抗性克隆。通过测序确认阳性克隆,随后将其转化入生产性宿主株系W3110/pRARE。具有编码zcyto20 C49S半胱氨酸突变体的序列的表达构建体命名为pCHAN9。

### 实施例 12

#### zcyto20 C51S半胱氨酸突变体表达构建体

通过重叠PCR产生编码zcyto20 C51S半胱氨酸突变体的序列(SEQ



ID NO: 24)。使用pYEL7 (SEQ ID NO: 67) 作为模板以及寡核苷酸引物zc43, 431 (SEQ ID NO: 62)和zc45, 397 (SEQ ID NO: 63), 通过PCR扩增产生野生型IL-28A序列的前193个碱基。使用pYEL7 (SEQ ID NO: 67)作为模板以及寡核苷酸引物zc45, 396 (SEQ ID NO: 70)和zc43, 437 (SEQ ID NO: 63), 通过PCR扩增产生从碱基111至531的第二DNA片段。引物zc45, 397 (SEQ ID NO: 69)和zc45, 396 (SEQ ID NO: 70)包含经特异性修饰的将半胱氨酸51改变成丝氨酸的序列。混合这两种PCR产物, 并使用寡核苷酸引物zc43, 431 (SEQ ID NO: 62)和zc43, 437 (SEQ ID NO: 63)进行PCR重叠扩增。通过酵母同源重组(Raymond等人 同上)将最终的PCR产物插入我们的内部(in-house)表达载体pTAP238。从酵母提取所述表达构建体并将其转化入感受态大肠杆菌DH10B。通过菌落PCR筛选卡那霉素抗性克隆。通过测序确认阳性克隆, 随后将其转化入生产性宿主株系W3110/pRARE。具有编码zcyto20 C50S半胱氨酸突变体的序列的表达构建体命名为pCHAN10。

### 实施例 13

#### IL-28A、IL-29和Cys至Ser的半胱氨酸突变体在大肠杆菌中的表达

在分开的实验中, 将用实施例6-9中描述的各表达载体转化的大肠杆菌接种入100mL含有0.01% Antifoam 289 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)、30  $\mu$ g/ml卡那霉素、35  $\mu$ g/ml氯霉素的Superbroth II培养基(Becton Dickinson, San Diego, CA)并在37°C下培养过夜。向2L培养瓶中的500mL相同培养基中加入5mL接种物, 在250rpm、37°C下振荡所述培养瓶直至培养物获得值为4的OD600。然后以1mM终浓度加入IPTG, 再继续振荡2.5小时。在4°C下, 4,000 x g下离心细胞10分钟。将细胞沉淀物在-80°C下冷冻直至以后使用。

### 实施例 14

#### IL-28的重折叠和纯化

### A. 内含体的制备

人野生型IL-29在大肠杆菌株系W3110中以如上所述的内含体形式表达。将来自补料分批发酵的细胞沉淀重悬浮于50mM Tris、pH 7.3中。将悬浮物在8000psi下通过APV-Gaulin匀浆器(Invensys APV, Tonawanda, New York)3次。在15,000g下离心回收不溶性物质,进行30分钟。连续地用50mM Tris、1% (v/v) Triton X100、pH 7.3和4M尿素洗涤沉淀。然后在室温下将内含体分散在50mM Tris、6M盐酸胍、5mM DTT中,进行1小时。然后在15,000g下离心材料1小时。来自该步骤的上清液包含还原的可溶性IL-29。

### B. 重折叠

在室温下,缓慢地将溶解的IL-29稀释入50mM Tris、pH 8、0.75M精氨酸、0.05% PEG3350、2mM MgCl<sub>2</sub>、2mM CaCl<sub>2</sub>、0.4mM KCl、10mM NaCl、4mM还原的谷胱甘肽、0.8mM氧化的谷胱甘肽,同时进行搅拌。重折叠缓冲液中的最终的IL-29的浓度是0.1mg/ml。将重折叠的混合物在室温下放置过夜。然后使用浓醋酸将悬浮液的pH调整至5。然后将悬浮液通过0.2 μm滤膜进行过滤。重折叠混合物的RP-HPLC分析显示两个主峰。

### C. 纯化

在pH 5下用50mM NaOAc系列(in-line)稀释(1:2)重折叠混合物,并将其加载至Pharmacia SP Sepharose Fast Flow阳离子交换柱(North Peapack, NJ)上。用3倍柱体积的50mM NaOAc、400mM NaCl、pH 5洗涤柱子。用50mM NaOAc、1.4M NaCl、pH 5洗脱结合的IL-29。向阳离子交换步骤的洗脱混合物中加入固体(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>以使(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的终浓度为0.5 M。然后将该物质加载至ToyoPearl Phenyl 650S HIC柱子(Tosoh Biosep, Montgomery, PA)上。然后用3倍柱体积的50mM NaOAc、1 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、pH 5洗涤柱子。用10倍柱体积的从50mM NaOAc、1M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、pH 5至50mM NaOAc、pH 5的线性梯度洗脱结合的zcyto21。收集洗脱物的级分。在该步骤中观察到2个主峰。进行洗脱级分的

RP-HPLC分析。在最终的缓冲液交换为PBS、pH 7.3后，产生对应于2个二硫键异构体的2种产物。

### 实施例 15

#### IL-29半胱氨酸突变体的重折叠和纯化

如实施例3中所述，IL-29的纯化产生2种二硫键异构体。使用HIC FPLC步骤分离这2种形式。该分离不能在基线上实现。必须使用几个“调峰 (Peak Shaving)”获得基本上纯的异构体 (>95%)。该步骤的产率因整个过程的延长而受到损失。C15-C112形式和C112-C171形式的终产率分别为8%和9%。CHO和杆状病毒 (BV) 系统中产生的野生型IL-29也显示相似的现象。已确定异构体的C15-C112形式在二硫键模式上和I类INF的一致。在ISRE测定法 (参见下面) 中，C15-C112形式也展现比C112-C171形式高30倍的生物学活性。

#### *zcyto21 Cys172Ser* 突变蛋白的重折叠和纯化

*zcyto21 C172S* 多肽 (SEQ ID NO: 29) 的内含体制备、重折叠和纯化基本上和 IL-29 野生型 (SEQ ID NO: 4) 的相同。突变蛋白的重折叠混合物的 RP-HPLC 分析只显示对应于野生型 IL-29 的 C15-C112 形式的一个主峰。随后的 HIC 层析只显示单个峰。因此不必使用严格的“调峰”。整个方法的最终产率接近 50%。在实施例 16 所示的 ISRE 测定中，*zcyto21 Cys172Ser* 多肽 (SEQ ID NO: 29) 显示和野生型 IL-29 的 C15-C112 形式的生物学活性相同的生物学活性。

### 实施例 16

#### 肝脏和淋巴细胞亚群中的 IL-28RA mRNA 的表达

为了进一步检查 IL-28RA 的 mRNA 的分布，使用 SDS 7900HT 系统 (Applied Biosystems, CA) 进行半定量 RT-PCR。使用各样品的 100ng 总 RNA 和基因特异性引物进行一步 RT-PCR 法。使用 Bjab RNA 产生各引物组的标准曲线，将所有样品值针对 HPRT 进行规范化。也显示 IFNAR2 和

CRF2-4的规范值。

表7: B和T细胞表达显著水平的IL-28RA mRNA。在树突细胞和大多数单核细胞中观察到低水平。

表 7

细胞/组织	IL-28RA	IFNAR2	CRF2-4
树突细胞, 未刺激	.04	5.9	9.8
树突细胞 +IFNg	.07	3.6	4.3
树突细胞	.16	7.85	3.9
CD14+, 用 LPS/IFNg 刺激	.13	12	27
CD14+ 单核细胞, 静息	.12	11	15.4
Hu CD14+ Unact.	4.2	TBD	TBD
Hu CD14+ 1 ug/ml LPS act.	2.3	TBD	TBD
H. 发炎的扁桃体	3	12.4	9.5
H. B-细胞+PMA/Iono 4 & 24 小时	3.6	1.3	1.4
Hu CD19+, 静息	6.2	TBD	TBD
Hu CD19+ 4 小时. PMA/Iono	10.6	TBD	TBD
Hu CD19+ 24 小时 Act. PMA/Iono	3.7	TBD	TBD
IgD+ B-细胞	6.47	13.15	6.42
IgM+ B-细胞	9.06	15.4	2.18
IgD- B-细胞	5.66	2.86	6.76
NK 细胞 + PMA/Iono	0	6.7	2.9
Hu CD3+, 未激活的	2.1	TBD	TBD
CD4+, 静息	.9	8.5	29.1
CD4+, 未刺激 18 小时	1.6	8.4	13.2
CD4+ +Poly I/C	2.2	4.5	5.1
CD4+ + PMA/Iono	.3	1.8	.9
CD3 neg, 静息	1.6	7.3	46
CD3 neg, 未刺激 18 小时	2.4	13.2	16.8
CD3 neg+Poly I/C 18 小时	5.7	7	30.2
CD3 neg+LPS 18 小时	3.1	11.9	28.2
CD8+, 未刺激 18 小时	1.8	4.9	13.1
CD8+, 用 PMA/Ion 刺激 18 小时	.3	.6	1.1

如表8中所示，正常肝组织和来源于肝的细胞系展示了丰富的IL-28RA和CRF2-4 mRNA水平。

表 8

细胞/组织	IL-28RA	IFNAR2	CRF2-4
HepG2	1.6	3.56	2.1
HepG2 UGAR 5/10/02	1.1	1.2	2.7
HepG2, CGAT HKES081501C	4.3	2.1	6
HuH7 5/10/02	1.63	16	2
HuH7 肝细胞瘤 - CGAT	4.2	7.2	3.1
肝脏, 正常的- CGAT #HXYZ020801K	11.7	3.2	8.4
肝脏, NAT- 正常的相邻组织	4.5	4.9	7.7
肝脏, NAT -正常的相邻组织	2.2	6.3	10.4
Hep SMVC hep 静脉	0	1.4	6.5
Hep SMCA hep. 动脉	0	2.1	7.5
Hep. Fibro	0	2.9	6.2
Hep. Ca.	3.8	2.9	5.8
腺癌肝脏	8.3	4.2	10.5
SK-Hep-1 腺癌. 肝脏	.1	1.3	2.5
AsPC-1 Hu. 胰腺癌	.7	.8	1.3
Hu. Hep. 星形细胞	.025	4.4	9.7

如表9中所示，原代气道上皮细胞包含丰富的IL-28RA和CRF2-4水平。

表9

细胞/组织	IL-28RA	IFNAR2	CRF2-4
U87MG - 神经胶质瘤	0	.66	.99
NHBE, 未刺激	1.9	1.7	8.8
NHBE + TNF- $\alpha$	2.2	5.7	4.6
NHBE + poly I/C	1.8	nd	nd
小气道上皮细胞	3.9	3.3	27.8
NHLF-正常人肺成纤维细胞	0	nd	nd

如表10中所示，IL-28RA存在于正常和患病的肝样品中，在来自感染了丙型肝炎和乙型肝炎的样品的组织中具有增加的表达。

表10

细胞/组织	IL-28RA	CRF2-4	IFNAR2
具有凝固性坏死的肝脏	8.87	15.12	1.72
具有自身免疫性肝炎的肝脏	6.46	8.90	3.07
新生儿肝炎	6.29	12.46	6.16
末期肝脏疾病	4.79	17.05	10.58
暴发性肝衰竭	1.90	14.20	7.69
暴发性肝衰竭	2.52	11.25	8.84
原发性胆汁肝硬化	4.64	12.03	3.62
酒精性肝硬化 (Laennec's)	4.17	8.30	4.14
不明原因之肝硬化 (Cirrhosis, Cryptogenic)	4.84	7.13	5.06
肝炎 C+, 具有肝硬化	3.64	7.99	6.62
肝炎 C+	6.32	11.29	7.43
继发于 HepA 的暴发型肝炎	8.94	21.63	8.48
肝炎 C+	7.69	15.88	8.05
肝炎 B+	1.61	12.79	6.93
正常肝脏	8.76	5.42	3.78
正常肝脏	1.46	4.13	4.83
肝 NAT	3.61	5.43	6.42
肝 NAT	1.97	10.37	6.31
Hu 胎儿肝脏	1.07	4.87	3.98
肝细胞癌	3.58	3.80	3.22
肝脏腺癌	8.30	10.48	4.17
hep. SMVC, hep. 静脉	0.00	6.46	1.45
Hep SMCA hep. 动脉	0.00	7.55	2.10
Hep. 成纤维细胞	0.00	6.20	2.94
HuH7 肝细胞瘤	4.20	3.05	7.24
HepG2 肝细胞癌	3.40	5.98	2.11
SK-Hep-1 腺癌. 肝脏	0.03	2.53	1.30
HepG2, 未刺激	2.06	2.98	2.28
HepG2+zcyto21	2.28	3.01	2.53
HepG2+IFN $\alpha$	2.61	3.05	3.00
正常女性肝脏- 退化的	1.38	6.45	4.57
正常肝脏 - 退化的	1.93	4.99	6.25
正常肝脏 - 退化的	2.41	2.32	2.75
患病肝脏- 退化的	2.33	3.00	6.04
来自 Clonetics 的原代肝细胞	9.13	7.97	13.30

如表11-15所示，可在正常B细胞、B淋巴瘤细胞系、T细胞、T淋巴瘤细胞系(Jurkat)、正常和经转化的淋巴细胞(B细胞和T细胞)以及正常人单核细胞中检测到IL-28RA。

表 11

	HPRT 平均值	IL-28RA 平均值	IL-28RA 规范值	IFNAR2	IFNR2 规范值	CRF2-4	CRF2-4 规范值
CD14+ 24hr 非条件刺激#A38	13.1	68.9	5.2	92.3	7.0	199.8	15.2
CD14+ 24 hr 刺激 #A38	6.9	7.6	1.1	219.5	31.8	276.6	40.1
CD14+ 24 hr 非条件刺激#A112	17.5	40.6	2.3	163.8	9.4	239.7	13.7
CD14+ 24 hr 刺激 #A112	11.8	6.4	0.5	264.6	22.4	266.9	22.6
CD14+ rest #X	32.0	164.2	5.1	1279.7	39.9	699.9	21.8
CD14+ +LPS #X	21.4	40.8	1.9	338.2	15.8	518.0	24.2
CD14+ 24 hr 非条件刺激#A39	26.3	86.8	3.3	297.4	11.3	480.6	18.3
CD14+ 24 hr 刺激 #A39	16.6	12.5	0.8	210.0	12.7	406.4	24.5
HL60 静息	161.2	0.2	0.0	214.2	1.3	264.0	1.6
HL60+PMA	23.6	2.8	0.1	372.5	15.8	397.5	16.8
U937 静息	246.7	0.0	0.0	449.4	1.8	362.5	1.5
U937+PMA	222.7	0.0	0.0	379.2	1.7	475.9	2.1
Jurkat 静息	241.7	103.0	0.4	327.7	1.4	36.1	0.1
Jurkat 激活的	130.7	143.2	1.1				
Colo205	88.8	43.5	0.5				
HT-29	26.5	30.5	1.2				

表 12

	HPRT SD	IL-28RA SD
Mono 24 小时非条件刺激#A38	0.6	2.4
Mono 24 小时刺激 #A38	0.7	0.2
Mono 24 小时非条件刺激#A112	2.0	0.7
Mono 24 小时刺激#A112	0.3	0.1
Mono rest #X	5.7	2.2
Mono+LPS #X	0.5	1.0
Mono 24 小时非条件刺激#A39	0.7	0.8
Mono 24 小时刺激 #A39	0.1	0.7
HL60 静息	19.7	0.1
HL60+PMA	0.7	0.4
U937 静息	7.4	0.0
U937+PMA	7.1	0.0
Jurkat 静息	3.7	1.1
Jurkat 被激活的	2.4	1.8
Colo205	1.9	0.7
HT-29	2.3	1.7

表 13

	平均 Hprt	平均 IFNAR2	平均 IL-28RA	平均 CRF
CD3+/CD4+ 0	10.1	85.9	9.0	294.6
CD4/CD3+非条件刺激 18 小时	12.9	108.7	20.3	170.4
CD4+/CD3+ +Poly I/C 18 小时	24.1	108.5	52.1	121.8
CD4+/CD3+ + PMA/Iono 18 小时	47.8	83.7	16.5	40.8
CD3 neg 0	15.4	111.7	24.8	706.1
CD3 neg 非条件刺激 18 小时	15.7	206.6	37.5	263.0
CD3 neg +Poly I/C 18 小时	9.6	67.0	54.7	289.5
CD3 neg +LPS 18 hrs	14.5	173.2	44.6	409.3
CD8+ Unstim. 18 hrs	6.1	29.7	11.1	79.9
CD8+ + PMA/Iono 18 小时	78.4	47.6	26.1	85.5
12.8.1- NHBE 非条件刺激	47.4	81.1	76.5	415.6
12.8.2 - NHBE+TNF- $\alpha$	42.3	238.8	127.7	193.9
SAEC	15.3	49.9	63.6	426.0



表 14

	IL-28RA 规范值	CRF 规范值	IFNAR2 规范值	IL-28RA SD	CRF SD	IFNAR2 SD
CD3+/CD4+ 0	0.9	29.1	8.5	0.1	1.6	0.4
CD4/CD3+非条件刺激 18 小时	1.6	13.2	8.4	0.2	1.6	1.4
CD4+/CD3+ +Poly I/C 18 小时	2.2	5.1	4.5	0.1	0.3	0.5
CD4+/CD3+ + PMA/Iono 18 小时	0.3	0.9	1.8	0.0	0.1	0.3
CD3 neg 0	1.6	46.0	7.3	0.2	4.7	1.3
CD3 neg 非条件刺激 18 小时	2.4	16.8	13.2	0.4	2.7	2.3
CD3 neg +Poly I/C 18 小时	5.7	30.2	7.0	0.3	1.7	0.8
CD3 neg +LPS 18 小时	3.1	28.2	11.9	0.4	5.4	2.9
CD8+非条件刺激 18 小时	1.8	13.1	4.9	0.1	1.1	0.3
CD8+ + PMA/Iono 18 小时	0.3	1.1	0.6	0.0	0.1	0.0
12.8.1- NHBE 非条件刺激	1.6	8.8	1.7	0.1	0.4	0.1
12.8.2 - NHBE+TNF- $\alpha$	3.0	4.6	5.7	0.1	0.1	0.1
SAEC	4.1	27.8	3.3	0.2	1.1	0.3

表 15

	SD Hprt	SD IFNAR2	SD IL-28RA	SD CRF
CD3+/CD4+ 0	0.3	3.5	0.6	12.8
CD4/CD3+非条件刺激 18 小时	1.4	13.7	1.1	8.5
CD4+/CD3+ +Poly I/C 18 小时	1.3	9.8	1.6	3.4
CD4+/CD3+ + PMA/Iono 18 小时	4.0	10.3	0.7	3.7
CD3 neg 0	1.4	16.6	1.6	28.6
CD3 neg 非条件刺激 18 小时	2.4	16.2	2.7	12.6
CD3 neg +Poly I/C 18 小时	0.5	7.0	1.0	8.3
CD3 neg +LPS 18 小时	1.0	39.8	5.6	73.6
CD8+非条件刺激. 18 小时	0.2	1.6	0.5	6.1
CD8+ + PMA/Iono 18 小时	1.3	1.7	0.2	8.1
12.8.1 - NHBE 非条件刺激	2.4	5.6	2.7	2.8
12.8.2 - NHBE+TNF- $\alpha$	0.5	3.4	3.5	3.4
SAEC	0.5	4.8	1.8	9.9

## 实施例 17

### 小鼠IL-28对小鼠B细胞不具有抗增殖效应

通过使用MACS磁珠除去CD43+细胞来从2个Ba1b/C脾脏(7个月大小)分离小鼠B细胞。将纯化的B细胞和LPS、抗-IgM或抗-CD40单克隆抗体一起进行体外培养。将小鼠IL-28或小鼠IFN $\alpha$ 加入培养物中,在第48小时加入<sup>3</sup>H-胸苷,在培养72小时后测量<sup>3</sup>H-胸苷的整合。

在10ng/ml时,IFN $\alpha$ 抑制用LPS或抗IgM刺激的小鼠B细胞整合<sup>3</sup>H-胸苷。然而,小鼠IL-28在任何受试浓度上包括1000ng/ml都不抑制<sup>3</sup>H-胸苷的整合。相反地,IFN $\alpha$ 和小鼠IL-28都增加用抗CD40 MAb刺激的小鼠B细胞整合<sup>3</sup>H胸苷。

这些数据表明,和IFN $\alpha$ 不同,小鼠IL-28即使在高浓度下也没有显示抗增殖的活性。此外,zcyto24在抗CD40 MAb存在的情况下促进增殖。该结果说明小鼠IL-28和IFN $\alpha$ 的不同在于小鼠IL-28对小鼠B细胞不表现抗增殖活性,即使在高浓度下亦如此。此外,小鼠IL-28在抗CD40单克隆抗体存在的情况下促进增殖。

### 实施例 18

#### 骨髓扩增测定

在37℃下,将新鲜人骨髓单核细胞(Poietic Technologies, Gaithersburg, Md.)附着至 $\alpha$ MEM、10% FBS、50微摩尔 $\beta$ -巯基乙醇、2ng/ml FLT3L中的塑料,进行2小时。然后在1000ng/ml IL-29-CEE、100ng/ml IL-29-CEE、10ng/ml IL-29-CEE、100ng/ml IFN- $\alpha$ 2a、10ng/ml IFN- $\alpha$ 2a或1ng/ml IFN- $\alpha$ 2a存在或不存的情况下,将未吸附的细胞以25,000至45,000细胞/小孔(96孔组织培养板)涂板在 $\alpha$ MEM、10% FBS、50微摩尔 $\beta$ -巯基乙醇、2ng/ml FLT3L中。将这些细胞和各种细胞因子一起温育以检测来自骨髓的造血细胞的扩增或分化(20ng/ml IL-2、2ng/ml IL-3、20ng/ml IL-4、20ng/ml IL-5、20ng/ml IL-7、20ng/ml IL-10、20ng/ml IL-12、20ng/ml IL-15、10ng/ml IL-21或不加入细胞因子)。在8至12天后,以20微升/孔加入Alamar Blue (Accumed, Chicago, Ill.)。将板在37℃、5% CO<sub>2</sub>下再温育24小时。使用SoftMax™

Pro程序，在波长544(激发)和590(发射)下在Fmax™板读出器(Molecular Devices Sunnyvale, Calif.)上读板。Alamar Blue提供了基于细胞的代谢活性的荧光读出值，从而是相对于负对照的细胞增殖的直接测量。

IFN- $\alpha$ 2a在所有受试条件下都对骨髓扩增产生了显著的抑制。相反地，IL-29在IL-3、IL-4、IL-5、IL-7、IL-10、IL-12、IL-21存在或不加入细胞因子的情况下对骨髓细胞的扩增不具显著效果。在IL-2或IL-15存在的情况下观察到骨髓细胞扩增的少量抑制。

### 实施例 19

#### 使用可溶性受体(zcytoR19/CRF2-4)进行的IL-28和IL-29信号转导的抑制

##### A. 信号转导报告分子测定法

可使用信号转导报告分子测定法显示zcytor19-Fc4同型二聚体和zcytor19-Fc/CRF2-4-Fc异二聚体可溶性受体对zcyto20、zcyto21和zcyto24信号转导的抑制剂特性。用包含驱动荧光素酶报告基因转录的干扰素刺激的应答元件(ISRE)的报告质粒转染过量表达zcytor19受体的人胚胎肾(HEK)细胞。在用配体(包括zcyto20(SEQ ID NO: 2)、zcyto21(SEQ ID NO: 15)、zcyto24(SEQ ID NO: 8))刺激转染的细胞后，荧光素酶的活性反映了配体和可溶性受体的相互作用。

##### B. 细胞转染

如下转染过量表达zcytor19的293 HEK细胞：在转染前大约18小时以700,000个293细胞/孔(6孔板)涂板在2毫升DMEM+10%胎牛血清中。每孔，向总共100微升的DMEM中的6微升Fugene 6试剂(Roche Biochemicals)中加入1微克pISRE-荧光素酶DNA(Stratagene)和1微克pIRES2-EGFP DNA(Clontech)。30分钟后，向预涂板的293细胞中加入该转染混合物。24小时后，使用胰蛋白酶-EDTA从板中取出经转染的

细胞并以大约25,000个细胞/孔重新涂板于96孔微量滴定板中。在配体刺激之前大约18小时，将培养基更换为DMEM + 0.5%FBS。

### C. 信号转导报告分子测定法

如下进行信号转导报告分子测定法：在37℃下在DMEM+0.5%FBS中温育18小时后，用10ng/ml zcyto20、zcyto21或zcyto24和10微克/ml的下列可溶性受体刺激经转染的细胞；所述可溶性受体是人zcytor19-Fc同型二聚体、人zcytor19-Fc/人CRF2-4-Fc异二聚体、人CRF2-4-Fc同型二聚体、鼠类zcytor19-Ig同型二聚体。在37℃下温育4小时后，裂解细胞，在加入荧光素酶底物后在光度计上测量相对光单位(RLU)。所得的结果表示为在可溶性受体存在的情况下配体诱导的信号转导相对于在只有PBS存在的情况下的信号转导的百分比抑制。表16显示，人zcytor19-Fc/人CRF2-4异二聚体可溶性受体能够抑制zcyto20、zcyto21和zcyto24诱导的信号转导，抑制程度达到对照的16和45%之间。人zcytor19-Fc同型二聚体可溶性受体也能够抑制zcyto21诱导的信号转导达45%。对于huCRF2-4-Fc或muzcytor19-Ig同型二聚体可溶性受体，没有观察到显著的效果。

表16: 由可溶性受体产生的对配体诱导的干扰素刺激的应答元件(ISRE)的信号转导的百分比抑制

配体	Huzcytor19-Fc /huCRF2-4-Fc	Huzcytor19-Fc	HuCRF2-4-Fc	Muzcytor19-Ig
Zcyto20	16%	92%	80%	91%
Zcyto21	16%	45%	79%	103%
Zcyto24	47%	90%	82%	89%

## 实施例 20

### 通过IL-28和IL-29进行的干扰素刺激的基因的诱导

#### A. 人外周血单核细胞

在IL-29 (20ng/ml)、IFN $\alpha$ 2a (2ng/ml) (PBL Biomedical Labs,

Piscataway, NJ) 或单独的培养基存在的情况下培养新分离的人外周血单核细胞。将细胞温育6、24、48或72小时, 然后分离总RNA并用不含RNA酶的DNA酶进行处理。将100ng总RNA用作One-Step Semi-Quantitative RT-PCR®的模板, 该RT-PCR使用Taqman One-Step RT-PCR Master Mix®试剂和由厂商建议的基因特异性引物。(Applied Biosystems, Branchburg, NJ)。将结果对HPRT进行规范, 表示为各时间点的相对于单独的培养基对照的诱导倍数。表17显示IL-29在所有受试时间点上在人外周血单核细胞中诱导干扰素刺激的基因表达。

表 17

	MxA 诱导倍数	Pkr 诱导倍数	OAS 诱导倍数
6 小时 IL29	3.1	2.1	2.5
6 小时 IFN $\alpha$ 2a	17.2	9.6	16.2
24 小时 IL29	19.2	5.0	8.8
24 小时 IFN $\alpha$ 2a	57.2	9.4	22.3
48 小时 IL29	7.9	3.5	3.3
48hr IFN $\alpha$ 2a	18.1	5.0	17.3
72 小时 IL29	9.4	3.7	9.6
72 小时 IFN $\alpha$ 2a	29.9	6.4	47.3

### B. 被激活的人T细胞

按照厂商说明书, 使用Pan T-cell Isolation®试剂盒(Miltenyi, Auburn, CA)通过负选择从新收获的外周血单核细胞中分离人T细胞。然后用板结合的抗CD3、可溶性抗CD28 (0.5ug/ml), (Pharmingen, San Diego, CA) 和白细胞介素 2 (IL-2; 100U/ml) (R&D Systems, Minneapolis, MN) 激活和扩增T细胞, 洗涤细胞, 然后使用IL-2再扩增5天。在激活和扩增后, 用IL-28A (20ng/ml)、IL-29 (20ng/ml) 或只用培养基刺激细胞3、6或18小时。分离总RNA并用不含RNA酶的DNA酶进行处理。如上面的实施例中所述进行 One-Step Semi-Quantitative

RT-PCR®。将结果对HPRT进行规范，表示为各时间点上相对于单独的培养基对照的诱导倍数。表18显示IL-28和IL-29在所有受试时间点上在被激活的人T细胞中诱导干扰素刺激的基因表达。

表 18

	MxA 诱导倍数	Pkr 诱导倍数	OAS 诱导倍数
Donor #1 3 小时 IL28	5.2	2.8	4.8
Donor #1 3 小时 IL29	5.0	3.5	6.0
Donor #1 6 小时 IL28	5.5	2.2	3.0
Donor #1 6 小时 IL29	6.4	2.2	3.7
Donor #1 18 小时 IL28	4.6	4.8	4.0
Donor #1 18 小时 IL29	5.0	3.8	4.1
Donor #2 3 小时 IL28	5.7	2.2	3.5
Donor #2 3 小时 IL29	6.2	2.8	4.7
Donor #2 6 小时 IL28	7.3	1.9	4.4
Donor #2 6 小时 IL29	8.7	2.6	4.9
Donor #2 18 小时 IL28	4.7	2.3	3.6
Donor #2 18 小时 IL29	4.9	2.1	3.8

### C. 原代人肝细胞

用IL-28A (50ng/ml)、IL-29 (50ng/ml)、IFN $\alpha$  2a (50ng/ml)或单独的培养基刺激来自两个分别的供体 (Cambrex, Baltimore, MD and CellzDirect, Tucson, AZ)的新分离的人肝细胞24小时。刺激后，分离总RNA并用不含RNA酶的DNA酶进行处理。如前面的实施例中所述进行一步半定量RT-PCR。将结果对HPRT进行规范，并表示为各时间点上相对于单独的培养基对照的诱导倍数。表19显示IL-28和IL-29在24小时的刺激后在原代人肝细胞中诱导干扰素刺激的基因表达

表 19

	MxA 诱导倍数	Pkr 诱导倍数	OAS 诱导倍数
Donor #1 IL28	31.4	6.4	30.4
Donor #1 IL29	31.8	5.2	27.8
Donor #1 IFN- $\alpha$ 2a	63.4	8.2	66.7
Donor #2 IL28	41.7	4.2	24.3
Donor #2 IL29	44.8	5.2	25.2
Donor #2 IFN- $\alpha$ 2a	53.2	4.8	38.3

#### D. HepG2和HuH7: 人肝脏肝癌细胞系

用IL-28A(10ng/ml)、IL-29(10ng/ml)、IFN $\alpha$ 2a(10ng/ml)、IFN $\beta$ (1ng/ml) (PBL Biomedical, Piscataway, NJ)或单独的培养基刺激HepG2和HuH7细胞(ATCC NOS. 8065, Manassas, VA)24或48小时。在分开的培养中,如上所述用20ng/ml的MetIL-29C172S-PEG或MetIL-29-PEG刺激HepG2细胞。分离总RNA并用不含RNA酶的DNA酶进行处理。将100ng总RNA用作前述的一步半定量RT-PCR的模板。将结果对HPRT进行规范,表示为各时间点上相对单独的培养基对照的诱导倍数。表20显示IL-28和IL-29在24和28小时后在HepG2和HuH7肝脏肝癌细胞系中诱导ISG表达。

Table 20

	MxA 诱导倍数	Pkr 诱导倍数	OAS 诱导倍数
HepG2 24 小时 IL28	12.4	0.7	3.3
HepG2 24 小时 IL29	36.6	2.2	6.4
HepG2 24 小时 IFN $\alpha$ 2a	12.2	1.9	3.2
HepG2 24 小时 IFN $\beta$	93.6	3.9	19.0
HepG2 48hr IL28	2.7	0.9	1.1
HepG2 48hr IL29	27.2	2.1	5.3
HepG2 48 小时 IFN $\alpha$ 2a	2.5	0.9	1.2
HepG2 48hr IFN $\beta$	15.9	1.8	3.3
HuH7 24 小时 IL28	132.5	5.4	52.6
HuH7 24 小时 IL29	220.2	7.0	116.6
HuH7 24 小时 IFN $\alpha$ 2a	157.0	5.7	67.0
HuH7 24 小时 IFN $\beta$	279.8	5.6	151.8
HuH7 48hr IL28	25.6	3.4	10.3
HuH7 48hr IL29	143.5	7.4	60.3
HuH7 48 小时 IFN $\alpha$ 2a	91.3	5.8	32.3
HuH7 48hr IFN $\beta$	65.0	4.2	35.7

表 21

	MxA 诱导倍数	OAS 诱导倍数	Pkr 诱导倍数
MetIL-29-PEG	36.7	6.9	2.2
MetIL-29C172S-PEG	46.1	8.9	2.8

显示的数据是培养24小时后 IL-29的20ng/ml metIL-29-PEG和 metIL-29C172S-PEG 形式的数据。

将显示的数据对HPRT进行规范并表示为相对于未刺激的细胞的诱导倍数。

### 实施例 21

#### IL-28、IL-29、metIL-29-PEG和metIL-29C172S-PEG 在小鼠肝细胞系 AML-12中刺激ISG的诱导

干扰素刺激的基因 (ISG) 是由I型干扰素 (IFN) 和IL-28以及IL-29家族分子诱导的基因, 这表明IFN和IL-28以及IL-29诱导导致抗病毒活性的相似途径。人I型IFN (IFN $\alpha$ 1-4和IFN $\beta$ ) 对小鼠细胞具有极低或没有活性, 这被认为是由于缺乏种交叉反应性导致的。为验证人IL-28和IL-29对小鼠细胞是否具有作用, 通过对来源于小鼠肝脏的细胞系AML-12进行实时PCR来评估由人IL-28和IL-29引起的ISG诱导。

将AML-12细胞以 $2 \times 10^6$ 细胞/孔的浓度涂板在完全DMEM培养基中的6孔板中。在涂板细胞24小时后, 以20ng/ml的浓度向培养物中加入人IL-28和IL-29。作为对照, 用小鼠IFN $\alpha$ (正对照) 刺激细胞或不刺激细胞(负对照)。在加入来源于CHO的人IL-28A (SEQ ID NO: 2) 或IL-29 (SEQ ID NO: 15) 后8、24、48和72小时, 收获细胞。使用RNAEasy-kit<sup>®</sup> (Qiagen, Valencia, CA) 从细胞沉淀分离RNA。用DNA酶 (Millipore, Billerica, MA) 处理RNA以清除RNA中的任何污染性DNA。使用Perkin-Elmer RT mix产生cDNA。使用对于OAS、Pkr和Mx1是特异性的引物和探针通过实时PCR评估ISG基因诱导。为获得定量数据, 使用ISG PCR重复HPRT实时PCR。使用已知量的来自IFN刺激的小鼠PBL的RNA获得标准曲线。所有数据表示为相对于内部HPRT表达的表达。

人IL-28A和IL-29刺激小鼠肝细胞系AML-12中的ISG诱导, 从而证明, 和I型IFN不同, IL-28/29家族蛋白显示种交叉反应性。



表 22

刺激	OAS	PkR	Mx1
无	0.001	0.001	0.001
人 IL-28	0.04	0.02	0.06
人 IL-29	0.04	0.02	0.07
小鼠 IL-28	0.04	0.02	0.08
小鼠 IFN $\alpha$	0.02	0.02	0.01

显示的所有数据表示为相对于 HPRT 基因表达的倍数，  

$$\frac{\text{OAS mRNA 的 ng 数}}{\text{HPRT mRNA 的 ng 数}} = \text{OAS mRNA 量相对于内部管家基因 HPRT 的规范化的值}$$

作为示例，显示了48小时时间点上的数据。

表 23

AML12' s

	Mx1 诱导倍数	OAS 诱导倍数	Pkr 诱导倍数
Met IL-29-PEG	728	614	8
Met IL-29C172S-PEG	761	657	8

用20ng/ml met IL-29-PEG或met IL-29C172S-PEG刺激细胞24小时。

将显示的数据对HPRT进行规范，表示为相对于未受刺激的细胞的诱导倍数。

### 实施例 22

#### ISG在表达人IL-29的转基因小鼠的脾脏中被有效地诱导

产生在Eu-1ck 启动子的控制之下表达人IL-29的转基因 (Tg) 小鼠。为研究人IL-29在小鼠中是否具有体内活性，通过在Eu-1ck IL-29转基因小鼠的脾中进行实时PCR来分析ISG的表达。

使用在Eu-1ck启动子控制之下表达人IL-29基因的构建体产生转基因小鼠 (C3H/C57BL/6)。该启动子在T细胞和B细胞中是有活性的。在10周大小时，杀死转基因小鼠和其非转基因同窝出生仔 (n=2/组)。分

离小鼠脾脏。使用RNAEasy-kit® (Qiagen)从细胞沉淀中分离RNA。用DNA酶处理RNA以清除RNA中的任何污染性DNA。使用Perkin-Elmer RT® mix产生cDNA。使用对于小鼠OAS、Pkr和Mx1是特异性的引物和探针(5' FAM, 3' NFQ)通过实时PCR来评估ISG基因的诱导。为获得定量数据,用ISG PCR重复HPRT实时PCR。此外,使用已知量的IFN刺激的小鼠PBL获得标准曲线。所有数据表示为相对于内部HPRT表达的表达。

和其非Tg同窝对照相比,分离自IL-29 Tg小鼠的脾显示ISG OAS、Pkr和Mx1的高诱导,表明人IL-29在小鼠中具有体内生物学活性。

表 24

小鼠	OAS	PkR	Mx1
非-Tg	4.5	4.5	3.5
IL-29 Tg	12	8	21

显示的所有数据是相对于HPRT基因表达的表达倍数。显示两只小鼠中的平均表达。

### 实施例 23

#### 人IL-28和IL-29蛋白在小鼠的肝脏、脾脏和血液中诱导ISG基因表达

为确定人IL-28和IL-29在体内是否诱导干扰素刺激的基因,将来源于CHO的人IL-28A和IL-29蛋白注射入小鼠。此外,也使用MetIL-29C172S-PEG和MetIL-29-PEG在上述的体内测定法中检测来源于大肠杆菌的IL-29。在不同时间点上和不同的剂量上,测量小鼠的血液、脾脏和肝脏中的ISG基因的诱导。

用多种剂量(10 μg-250 μg)的来源于CHO的人IL-28A和IL-29或MetIL-29C172S-PEG和MetIL-29C16-C113-PEG腹膜内或静脉内注射C57BL/6小鼠。在不同的时间点(1小时-48小时)杀死小鼠。从小鼠中分离脾脏和肝脏,并分离RNA。从血液细胞分离RNA。沉淀细胞并使用RNAEasy®-试剂盒(Qiagen)分离RNA。用DNA酶(Amicon)处理RNA以除去RNA中的任何污染性DNA。使用Perkin-Elmer RT mix (Perkin-Elmer)产生cDNA。使用对于小鼠OAS、Pkr和Mx1是特异性的引物和探针通过实

时PCR来测量ISG基因的诱导。为获得定量数据，用ISG PCR重复HPRT实时PCR。使用已知量的IFN刺激的小鼠PBL计算标准曲线。所有数据表示为相对于内部HPRT表达的表达。

人IL-29以剂量依赖性的方式在小鼠的肝脏、脾脏和血液中诱导ISG基因表达(OAS, Pkr, Mx1)。注射后1-6小时之间ISG的表达达到高峰并且显示长达48小时的高于对照小鼠的持续表达。在该实验中，人IL-28A不诱导ISG基因表达。

表25

注射	OAS- 1 小时	OAS-6 小时	OAS-24 小时	OAS-48 小时
无-肝脏	1.6	1.6	1.6	1.6
IL-29 肝脏	2.5	4	2.5	2.8
无-脾脏	1.8	1.8	1.8	1.8
IL-29-脾脏	4	6	3.2	3.2
无-血液	5	5	5	5
IL-29 血液	12	18	11	10

所显示的结果是相对于HPRT基因的表达的表达倍数。显示了在单次静脉内注射250  $\mu$ g时所示的肝脏中IL-29诱导的OAS的样品数据。所示数据是来自5个不同动物/组的平均表达。

表 26

注射	OAS (24 小时)
无	1.8
IL-29 10 $\mu$ g	3.7
IL-29 50 $\mu$ g	4.2
IL-29 250 $\mu$ g	6

表 27

	MetIL-29-PEG				MetIL-29C172S-PEG				未实验的	
	3 小时	6 小时	12 小时	24 小时	3 小时	6 小时	12 小时	24 小时	24 小时	
PKR	18.24	13.93	4.99	3.77	5.29	5.65	3.79	3.55	3.70	
OAS	91.29	65.93	54.04	20.81	13.42	13.02	10.54	8.72	6.60	
Mx1	537.51	124.99	33.58	35.82	27.89	29.34	16.61	0.00	10.98	

用100  $\mu$ g蛋白静脉内注射小鼠。显示的数据是相对于来自小鼠的肝脏的HPRT表达的表达式。从小鼠的血液和脾脏获得相似的数据。

### 实施例 24

#### IL-28和IL-29在小鼠中诱导ISG蛋白

为分析人IL-28和IL-29对ISG蛋白(OAS)的诱导的效应,就OAS的活性检测来自经IL-28和IL-29处理的小鼠的血清和血浆。

用PBS或不同浓度(10  $\mu$ g-250  $\mu$ g)的人IL-28或IL-29静脉内注射C57BL/6小鼠。在不同的时间点从小鼠分离血清和血浆,使用来自Eiken Chemicals (Tokyo, Japan)的OAS放射免疫测定(RIA)试剂盒测量OAS的活性。

IL-28和IL-29在小鼠的血清和血浆中诱导OAS活性,表明这些蛋白在体内具有生物学活性。

表 28

注射	OAS-1 小时	OAS-6 小时	OAS-24 小时	OAS-48 小时
无	80	80	80	80
IL-29	80	80	180	200

对于单一浓度(250  $\mu$ g)的人IL-29,以pmol/dL血浆显示OAS活性。

### 实施例 25

#### 信号转导报告分子测定法

可使用信号转导报告分子测定法确定人和小鼠IL-28和IL-29与IL-28受体的功能性相互作用。在包含II类细胞因子受体（包括人DIRS1、IFN $\alpha$ R1、IFN $\alpha$ R2和IL-28受体）的cDNA的pZP7表达载体存在或不存在的条件下，用包含驱动荧光素酶报告基因转录的干扰素刺激的应答元件（ISRE）的报告质粒转染人胚胎肾（HEK）细胞。在用II类配体（包括IL-28A（SEQ ID NO: 2）、IL-29（SEQ ID NO: 4）、IL-28B（SEQ ID NO: 6）、zcyto10、huIL10和huIFN $\alpha$ -2a）刺激转染的细胞后，荧光素酶的活性反映了配体和细胞表面上的经转染的和天然的细胞因子受体之间的相互作用。下面描述结果和方法。

### 细胞转染

如下转染293 HEK细胞：在转染前大约18小时以700,000个293细胞/孔（6孔板）涂板在2微升DMEM + 10%胎牛血清中。每孔，向总共100微升的DMEM中的9微升Fugene 6试剂（Roche Biochemicals）中加入1微克pISRE-荧光素酶DNA（Stratagene）、1微克细胞因子受体DNA和1微克pIRES2-EGFP DNA（Clontech,）。当没有包含细胞因子受体DNA时，使用2微克pIRES2-EGFP DNA。30分钟后，向预涂板的293细胞加入该转染混合物。24小时后，使用胰蛋白酶-EDTA从板中取出经转染的细胞并以大约25,000个细胞/孔重新涂板于96孔微量滴定板中。在配体刺激之前大约18小时，将培养基更换为DMEM + 0.5%FBS。

### 信号转导报告分子测定法

如下进行信号转导报告分子测定法：在37℃下在DMEM+0.5%FBS中温育18小时后，用下列II类配体的稀释物（在DMEM+0.5%FBS中）刺激经转染的细胞；所述配体是IL-28A、IL-29、IL-28B、zcyto10、huIL10和huIFN $\alpha$ -2a。在37℃下温育4小时后，裂解细胞，在加入荧光素酶底物后在光度计上测量相对光单位（RLU）。所得的结果表示为，相对于单独的培养基对照，实验样品的RLU的诱导倍数（实验样品的RLU/单独的培养基的RLU=诱导倍数）。表29显示，IL-28A、IL-29和IL-28B在用

ISRE-荧光素酶转染的293细胞中诱导ISRE信号转导,相对于单独的培养基,在荧光素酶的活性上产生15至17倍的诱导。使用内源CRF2-4 (SEQ ID NO: 71),向转染混合物中加入IL-28受体 $\alpha$ 亚基DNA (SEQ ID NO: 11),导致6至8倍的由IL-28A、IL-29和IL-28B诱导的ISRE信号转导的进一步诱导,产生104至125倍总诱导。其他转染的II类细胞因子受体DNA中没有一种导致增加的ISRE信号转导。这些结果表明IL-28A、IL-29和IL-28B功能性地和IL-28细胞因子受体相互作用。表29也显示huIFNa-2a可在经ISRE-荧光素酶转染的293细胞中诱导ISRE信号转导,和单独的培养基相比,产生205倍的荧光素酶活性的诱导。然而,向转染物中加入IL-28受体DNA导致ISRE-信号转导减少11倍(和单独的ISRE-荧光素酶DNA相比),表明IL-28受体的过量表达,和IL-28受体的过量表达对IL-28A、IL-29和IL-28B信号转导的正效应相反,对干扰素信号转导产生负效应。

表 29

II类细胞因子刺激后经转染的293细胞的干扰素刺激的应答元件 (ISRE) 的信号转导 (诱导倍数)

配体	ISRE-Luc.	ISRE-Luc. /IL-28R
IL-28A (125ng/ml)	15	125
IL-29 (125ng/ml)	17	108
IL-28B (125ng/ml)	17	104
HuIFNa-2a (100ng/ml)	205	18
Zcyto10 (125ng/ml)	1.3	1
HuIL10 (100ng/ml)	1	0.5

### 实施例 26

#### 关于IL-29半胱氨酸突变体的信号转导测定法

##### 细胞转染

为产生稳定地过量表达人IL-28受体的293 HEK细胞,如下转染293细胞: 在转染前大约6小时以300,000个293细胞/孔(6孔板)涂板在2毫

升DMEM+10%胎牛血清中。每孔,向总共100微升的DMEM中的6微升Fugene 6试剂(Roche Biochemicals)中加入2微克包含人IL-28受体 $\alpha$ 亚基(SEQ ID NO: 11)的cDNA的pZP7表达载体。30分钟后,向预涂板的293细胞加入该转染混合物。48小时后,将经转染的细胞置于2微克/毫升嘌呤霉素下进行选择。以细胞群体的方式保持嘌呤霉素抗性细胞。

如下转染过量表达人IL-28受体的293 HEK细胞: 在转染前大约18小时以700,000个293细胞/孔(6孔板)涂板在2毫升DMEM + 10%胎牛血清中。每孔,向总共100微升的DMEM中的3微升Fugene 6试剂(Roche Biochemicals)中加入1微克包含驱动荧光素酶报告基因转录的干扰素刺激的应答元件(ISRE)的KZ157。30分钟后,向预涂板的293HEK细胞加入该转染混合物。48小时后,通过使用胰蛋白酶-EDTA,从板中取出经转染的细胞并以500微克/ml G418(Geneticin, Life Technologies)涂板。以细胞群体的方式保持嘌呤霉素和G418抗性细胞。

#### 信号转导报告分子测定法

如下进行信号转导报告分子测定法: 用胰蛋白酶-EDTA处理过量表达人IL-28受体和包含KZ157的293HEK细胞,将其以大约25,000细胞/孔涂板在96孔微量培养板中。配体刺激前大约18个小时,将培养基更换为DMEM+0.5%FBS。

在37°C下在DMEM+0.5%FBS中温育18小时后,用不同形式的来源于大肠杆菌的包含不同半胱氨酸结合模式的zcyto21的稀释物(在DMEM+0.5%FBS中)刺激经转染的细胞。在37°C下温育4小时后,裂解细胞,在加入荧光素酶底物后在光度计上测量相对光单位(RLU)。所得的结果表示为相对于单独的培养基对照的实验样品的RLU的诱导倍数(实验样品的RLU/单独的培养基的RLU=诱导倍数)。

表30显示,来源于野生型大肠杆菌的IL-29的C1-C3形式(C16-C113)能比野生型C3-C5形式(C113-C172)或野生型C1-C3形式和C3-C5形式的混合物(C16-C113, C113-C172)更好地诱导ISRE信号转导,所有形式都参照SEQ ID NO: 15。

表31显示来源于野生型大肠杆菌的IL-29的C1-C3 (C16-C113) 和来源于半胱氨酸突变 (C172S) 体大肠杆菌的IL-29 (SEQ ID NO: 29) 的C1-C3 (C16-C113; SEQ ID NO: 15) 能够同样地在过量表达人IL-28受体的293HEK细胞中诱导ISRE信号转导。

表 30

由不同形式的来源于大肠杆菌的IL-29诱导的ISRE信号转导 (诱导倍数)

细胞因子浓度 (ng/ml)	C1-C3 形式 (C16-C113)	C3-C5 形式 (C113-C172)	C1-C3和C3-C5 的混合物
100	36	29	34
10	38	25	35
1	32	12	24
0.1	10	2	5
0.01	3	1	1
0.001	1	1	1

表 31

由不同形式的来源于大肠杆菌的IL-29诱导的ISRE信号转导 (诱导倍数)

细胞因子浓度 (ng/ml)	野生型 C1-C3	半胱氨酸突变体 C172S C1-C3
1000	9.9	8.9
100	9.3	8.7
10	9.3	8.1
1	7.8	7
0.1	4.6	3.3
0.01	1.9	1.5
0.001	1.3	0.9



## 实施例 27

### 人 IL-29 对 B 细胞的效应和 IL-29 毒性皂草素融合物

检测人 IL-29 对下列人 B 细胞系的效应：人布凯特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma) 细胞系 Raji (ATCC No. CCL-86)、Ramos (ATCC No. CRL-1596)；人 EBV B 细胞淋巴瘤细胞系 RPMI 1788 (ATCC No. CRL-156)；人骨髓瘤/浆细胞瘤细胞系 IM-9 (ATCC No. CRL159)；和经人 EBV 转化的 B 细胞系 DAKIKI (ATCC No. TIB-206)，和 HS Sultan 细胞 (ATCC No. CRL-1484)。在用 IL-29 处理大约 2-5 天后，细胞中表面标记物表达上的变化显示这些细胞可对 IL-29 作出反应。用 IL-29 处理的人 B 细胞系，当重新涂板在细胞培养皿中时远比未处理的细胞生长慢。这些细胞也具有增加的 FAS 配体的表达，如通过流式细胞仪所估计的一样 (实施例 27D 和实施例 27E)，和适当增加的对激活性 FAS 抗体的敏感度 (实施例 27A)。这些结果表明 IL-29 可通过诱导 B 细胞赘生物的一些类型分化成较少增殖和/或更具 FAS 配体敏感状态来控制其。此外，IL-28 受体在几种 B 和 T 细胞系的表面表达 (实施例 16)。因此，可将 IL-29 和人 IL-29-皂草素免疫毒素缀合物 (实施例 27B，下面)、或其他 IL-29-毒素融合物治疗性地用于 B 细胞白血病和淋巴瘤。

#### A. 人 IL-29 对 B 细胞系的效应

以大约 50,000 细胞/ml +/- 50 µg/ml 纯化的人 IL-29 接种 IM-9 细胞。在 3 天的生长后，收获细胞，洗涤细胞，计数，然后以大约 2500 细胞/ml 将其重涂板于 96 孔板中具有 0、0.033、0.1 或 0.33 µg/ml 抗 FAS 抗体 (R&D Systems, Minneapolis) 的小孔中。2 天后，进行 Alamar blue 荧光测定法 (参见美国专利号 6,307,024) 以估计细胞的增殖。

在抗 FAS 抗体不存在的情况下，相对于未经处理的细胞，经 IL-29 处理的 IM-9 细胞的生长受到抑制。在 0.33 µg/ml 抗 FAS 抗体存在的情况下，经 IL-29 处理的细胞受到更进一步的抑制。

#### B. 人 IL-29-皂草素免疫毒素对 B 细胞系的效应

实施例28中描述了人IL-29-皂草素免疫毒素缀合物(IL-29-sap)的构建和纯化。人IL-29-sap在抑制细胞生长上远比单独的皂草素更有效。当在3或4天的处理后,将经处理的细胞重涂板时,经人IL-29-sap处理的细胞生长非常差。

以大约2500细胞/孔将IM-9、Ramos和K562(ATCC No. CCL-243)细胞接种在96孔板中,该板具有0至250ng/ml的人 $\alpha$ 11L-sap缀合物或0-250ng/ml仅作为对照的皂草素(Stirpe等人, *Biotechnology* 10: 405-412, 1992)。将板温育4天,然后进行Alamar Blue增殖测定法(美国专利号6,307,024)。在人IL-29-sap缀合物的最高浓度下,细胞的生长被抑制。就IL-28受体的表达而言,细胞系低表达/阴性者不受IL-29-sap的影响,从而显示缀合物的效应的特异性。

在0和50ng/ml的人 $\alpha$ 11L-sap缀合物下,以50,000细胞/ml将IM-9细胞接种入6孔板中。3天后收获细胞,对细胞计数,然后以2倍的系列稀释度将细胞以每孔100至0.8个细胞重涂板,每个细胞稀释度12个孔,不加入人IL-29-皂草素免疫毒素。6天后,根据Alamar blue增殖测定法的结果对每一细胞稀释度下具有生长的小孔的数目进行评分。

当通过Alamar blue测定法估计细胞数目时,存活的经处理的IM-9细胞的生长显著受损,即使通过重涂板除去IL-29-sap免疫毒素后亦如此。

人IL-28受体的受限的组织分布,和IL-29-sap对表达受体的细胞系的作用的特异性表明该缀合物可在体内被耐受。

### C. 人IL-29-皂草素免疫毒素对B细胞系存活力的影响

以大约40,000细胞/ml将HS Sultan细胞(ATCC No. CRL-1484)接种在12孔板中,在不加入细胞因子或加入40ng/ml纯化的人IL-29或25ng/ml人IL-29-sap缀合物(实施例28,下面)或20ng/ml IFN- $\alpha$ (RDI)或IL-29和IFN- $\alpha$ 的情况下培养5天。IL-29和IFN- $\alpha$ 抑制细胞的生长,表明人IL-29和IFN- $\alpha$ 的生长抑制作用可以是累加的。

上面的结果支持IL-29或人IL-29-sap在恶性肿瘤或表达IL-28受体特别是B细胞来源的受体的其他疾病的治疗中的可能用途。因其在HS Sultan细胞的抑制中的累加效应,特别地建议使用IL-29和IFN- $\alpha$ 的组合。淋巴样恶性肿瘤和疾病的一些其他类型也可表达IL-28受体,由于被激活的T细胞也表达该受体mRNA,因此这些疾病中的一些也可对IL-29-毒性融合物疗法的IL-29起反应。

#### *D. 人 IL-29 的刺激增加人 B 细胞系中 FAS (CD95) 的表达*

人B细胞系HS Sultan(ATCC No. CRL-1484)、IM-9(ATCC No. CRL159)、RPMI 8226(ATCC No. CCL-155)、RAMOS(ATCC No. CRL-1596)、DAKIKI(ATCC No. TIB-206)和RPMI 1788(ATCC No. CRL-156)都用或不用纯化的10至50ng/ml人IL-29处理2至8天。按照厂商的实验方案,然后用抗CD95 PE缀合的抗体(PharMingen, San Diego, CA)对细胞进行染色,在FACScalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA)上进行分析。在所有细胞系中,在用人IL-29处理后,抗CD95 (FAS或APO-1)染色增强。

#### *E. 人 IL-29 的刺激增加原代小鼠脾 B 细胞中 FAS (CD95) 的表达*

通过从8至12周大小的C57/BL6小鼠中切取脾脏来获得原代小鼠脾细胞。通过用水处理制备物5秒来裂解红细胞,然后将其通过70微米的筛子。洗涤剩下的脾细胞并涂板在RPMI (JRH Bioscience)和10%HIA-FBS(Hyclone, Logan, UT)中。如上所述,将IL-2 (R & D Systems)和或不和人IL-29一起使用。然后将其在37°C下、5%CO<sub>2</sub>中温育5天。按照厂商的方案,收获脾细胞并用抗CD95 PE缀合的抗体(PharMingen)和抗CD19 FITC缀合的抗体(PharMingen)进行染色。在FACScalibur (Becton Dickinson)上通过流式细胞仪对细胞进行分析。

### 实施例 28

#### IL-29 毒性融合物的构建和纯化

将 10mg 人 IL-29 缀合至植物毒素皂草素 (Stirpe 等人, *Biotechnology* 10, : 405-412, 1992)。所得的 1.3mg 蛋白缀合物由每个人 IL-29 分子 1.1 个皂草素分子构成, 20nM 磷酸钠、300nM 氯化钠、pH 7.2 中以 1.14mg/ml 的浓度配制。

## 实施例 29

### 体内 IL-29 毒性融合物

#### A. 检测小鼠中的 IL-29-皂草素缀合物

以两种不同的剂量: 0.5和0.05mg/kg给C57BL6小鼠(雌性, 12周大小, 购自Taconic)施用IL-29-皂草素缀合物(实施例27)。静泳内注射由0.1% BSA (ICN, Costa Mesa, CA)组成的媒介物。一周的时间内进行3次注射(第0、2和7天)。在第0(注射前)和第2天以及第8天(注射后)从小鼠采集血液样品。将血液收集入肝素化的管(Bectin Dickenson, Franklin Lakes, NJ)内, 使用自动血液学分析仪(Abbot Cell-Dyn model No. CD-3500CS, Abbot Park, IL)确定细胞数量。在第8天血液收集后, 对小鼠施用无痛致死术和进行尸体剖检。收集脾脏、胸腺、肝脏、肾脏和骨髓以用于组织病理学。称取脾脏和胸腺的重量, 将额外的血液样品收集在血清分离器管中。在标准的化学方案中检测血清。也收集样品以用于此处描述的流式细胞仪分析。

#### B. 体内检测 IL-29 毒性皂草素融合物对来源于 B 细胞的肿瘤的效应

使用此处描述的小鼠肿瘤异种移植模型在体内检测人 IL-29 和人 IL-29 毒性皂草素融合物(实施例28)对人肿瘤细胞的效应。最初使用基于体外实验, 例如实施例27中描述的实验选择的细胞系检测异种移植模型。这些细胞系包括, 但不限于: 人 Burkitt 淋巴瘤细胞系 Raji (ATCC No. CCL-86)、和 Ramos (ATCC No. CRL-1596); 人细胞系 RPMI 1788 (ATCC No. CRL-156); 人骨髓瘤/浆细胞瘤细胞系 IM-9 (ATCC No. CRL159); 人细胞系 DAKIKI (ATCC No. TIB-206), 和 HS Sultan 细胞

(ATCC No. CRL-1484)。也可在该类型的模型中使用直接来自人肿瘤的细胞。通过该方法，就对使用IL-29或IL-29毒性皂草素融合物的疗法敏感的患者筛查可用于选择 $\alpha 11$ 在抗癌治疗中的用途的最佳指征。

在选择合适的上述异种移植物体内模型后，在体内估计IL-29诱导的天然杀伤细胞的活性和/或IL-29对来源于B细胞的肿瘤的效应。就其产生细胞毒性效应细胞（例如，NK细胞）的能力使用此处描述的小鼠肿瘤异种移植物模型来检测人IL-29，所述效应细胞具有抗来源于B细胞的肿瘤的活性。此外，可估计人IL-29对肿瘤的直接效应。如上所述选择要进行的异种移植模型。发展使用IL-29刺激的人细胞的方案并检测消除肿瘤细胞和提高用细胞系或原代肿瘤接种的小鼠的存活率的功效。

### 实施例 30

#### IL-29 在体内对来源于 B 细胞的肿瘤的效应

##### A. 使用微型渗透泵 ( *mini-osmotic pumps* ) 进行的 IL-29 的输注

通过使用微型渗透泵恒量输注IL-29的施用导致和泵中装有的IL-29的浓度成比例的稳定状态的血清浓度。在无菌条件下将0.22ml 2mg/ml或0.2mg/ml浓度的磷酸缓冲盐溶液(pH 6.0)中的人IL-29装入Alzet微型渗透泵(2004型; Alza corporation Palo Alto, CA)。通过背部皮肤的1cm的切口将泵皮下移植入小鼠,用无菌伤口缝合线缝合皮肤。这些泵经设计用于在28天内以每小时0.25 $\mu$ l的速度递送其内容物。该施用方法导致用肿瘤细胞注射的小鼠中的存活率的显著增加(下面)。

##### B. IL-29对来源于B细胞的肿瘤的体内效应

使用此处描述的小鼠肿瘤异种移植物模型检测人IL-29的体内效应。待检测的异种移植物模型是人成淋巴细胞样细胞系IM-9(ATCC No.

CRL159)。将C.B-17 SCID小鼠(雌性C.B-17/IcrHsd-scid; Harlan, Indianapolis, Indiana)分成4组。在第0天,从培养物收获IM-9细胞(ATCC No. CRL159),并通过尾部静脉将其静脉内注射入所有小鼠(每只鼠大约1,000,000个细胞)。在第1天,将装有受试检品或对照品的微型渗透泵皮下移植入小鼠。用浓度不断增加的IL-29处理1-3组中(每组n=9)中的小鼠:组1包含2.0mg/mL人IL-29并且每天递送12 $\mu$ g;组2包含0.20mg/mL人IL-29并且每天递送1.2 $\mu$ g;组3包含0.02mg/mL人IL-29并且每天递送0.12 $\mu$ g。组4(n = 9)中的小鼠是对照,用媒介物(PBS pH 6.0)进行处理。

和经媒介物处理的小鼠相比,用12 $\mu$ g/天或1.2 $\mu$ g/天IL-29输注的小鼠具有增加的存活率(对于12 $\mu$ g/天或1.2 $\mu$ g/天对媒介物,分别为p<.0001或p<.005,使用存活率函数的log排序检验)。这些结果显示IL-29在体内显著地减少B细胞肿瘤细胞的效应,明显地导致增加的存活率。

### 实施例 31

#### IL-29 在 B16-F10 黑色素瘤和 EG.7 胸腺瘤模型中的体内抗肿瘤效应

##### A. 鼠类 IL-29 在体内对 B16-F10 黑色素瘤转移灶生长的效应

将小鼠(雌性, C57B16, 9周大小; Charles River Labs, Kingston, NY)分成3组。在第0天,从培养物收获B16-F10黑色素瘤细胞(ATCC No. CRL-6475),通过尾部静脉将其静脉内注射入所有小鼠(每只小鼠大约100,000个细胞)。然后通过腹膜内注射0.1ml指定溶液用检品或关联媒介物来处理小鼠。用媒介物(PBS pH 6.0)处理第1组(n = 24)中的小鼠,在第0、2、4、6和8天注射该媒介物。用zcyto24或zcyto25处理第2组(n = 24)中的小鼠,在第0、2、4、6和8天注射75 $\mu$ g的该zcyto24或zcyto25。用zcyto24或zcyto25处理第3组(n = 12)中的小鼠,从第0天至第9天每天以75 $\mu$ g的剂量注射该zcyto24或zcyto25。在第18天杀死所有小鼠,收集肺以进行肿瘤的定量。计数各肺叶的所

有表面上的直径大于0.5mm的肿瘤生长的病灶。在用zcyto24或zcyto25处理的两组小鼠中，和用媒介物处理的小鼠相比，肺上出现的肿瘤病灶的平均数目都显著减少。更频繁（即每天）处理的小鼠具有比隔日处理的小鼠更少的肿瘤病灶。

这些结果表明，使用zcyto24或zcyto25的处理减缓了B16黑色素瘤肿瘤的生长或增强了免疫系统破坏肿瘤细胞的能力。对肿瘤细胞的处理效应可能通过具有IL-29的受体的免疫系统的细胞介导。

### B. 鼠类 IL-29 对 EG. 7 胸腺瘤生长的体内效应

将小鼠（雌性，C57B16，9周大小；Charles River Labs, Kingston, NY）分成3组。在第0天，从培养物中收获EG.7细胞(ATCC No. CRL-2113)，将1,000,000个细胞腹膜内注射入所有小鼠。通过腹膜内注射0.1mL的指定溶液用检品或关联性媒介物处理小鼠。用媒介物(PBS pH 6.0)处理第1组(n = 6)中的小鼠，在第0、2、4和6天注射该媒介物。用zcyto24或zcyto25处理第2组(n = 6)中的小鼠，在第0、2、4和6天以10 $\mu$ g的剂量注射所述物质。用cyto24或zcyto25处理第3组(n = 6)中的小鼠，在第0、2、4和6天以75 $\mu$ g的剂量注射所述物质。在用zcyto24或zcyto25处理的两组小鼠中，和用媒介物处理的小鼠相比，存活时间显著增加。这些结果表明用zcyto24或zcyto25的处理减缓了EG.7肿瘤的生长或增强了免疫系统破坏肿瘤细胞的能力。

## 实施例 32

### 流式细胞仪分析 IL-28 受体的表达

确定IL-28受体在来源于非何杰金氏淋巴瘤(NHL)样品的瘤形成性B细胞上的表达。使用多种MAb鉴定瘤形成性B细胞和鉴定共定位的IL-28受体。将通过抗IL-28受体MAb或通过生物素-IL-29的免疫荧光染色记录为平均峰值荧光。基于相对于和对照Mab匹配的同种型的平均峰值荧光的偏移确定定性评分。

使用抗IL-28受体MAb或生物素-IL-29通过免疫荧光染色检测瘤

形成性B细胞上的IL-28受体。染色信号的强度和IL-28受体的水平关联。这些数据表明IL-28受体代表了非何杰金氏淋巴瘤的治疗靶。

### 实施例 33

#### IL-29对B细胞淋巴瘤的体内效应

通过在生长培养基中传代在体外维持人B淋巴瘤细胞系。充分地  
在PBS中洗涤细胞以除去培养组分。

通过尾部静脉以100微升的体积用（通常地）一百万人淋巴瘤细胞注射SCID小鼠。在先导研究中凭经验确定注射细胞的最佳数目以使肿瘤符合想要的动力学。第2天通过皮下移植ALZET®渗透微型泵（ALZET, Cupertino, CA）或通过每天腹膜内注射IL-29或媒介物开始进行IL-29处理。就存活率和严重病态监测小鼠。杀死其原始体重减轻超过20%的小鼠和表现出充分不健全例如后肢肢体麻痹的小鼠。依赖于使用的淋巴瘤细胞，未处理的小鼠通常在3至6周内死亡。对于分泌IgG或IgM的B细胞淋巴瘤，也可通过每周的血液取样和通过ELISA测量血清中人免疫球蛋白水平来监控疾病的进展。

#### *IL-29的剂量响应 / IM-9模型*

用 $1 \times 10^6$  IM-9细胞注射小鼠，第2天移植28天的渗透微型泵。用下列被递送的IL-29的浓度装载泵：0、0.12、1.2或12微克/天，每剂量组8只小鼠。IL-29在保护小鼠免受肿瘤细胞系侵害上表现出明显的剂量依赖性效应。IL-29的效应是剂量依赖性的。实验末期存活的小鼠没有疾病的症状，在其血清中没有可检测的人IgG。

这些数据表明IL-29在SCID小鼠淋巴瘤模型中的功效和体内抑制淋巴瘤细胞系生长的能力相关。

### 实施例 34

#### IL-29在小鼠同系基因型卵巢癌模型中的效应

使用Zhang等人，Am. J. of Pathol. 161: 2295-2309, 2002中描



述的小鼠同系基因型模型就卵巢癌中的功效对IL-29的效应进行检测。简而言之，使用逆转录病毒转染和荧光激活的细胞分选，产生稳定地过量表达鼠类VEGF164同种型和增强的绿色荧光蛋白（GFP）的C57BL6鼠类ID8卵巢癌细胞系。将包含VEGF164和GFP cDNA的逆转录病毒构建体转染入BOSC23细胞。通过FACS细胞分选术分析细胞，鉴定GFP高阳性细胞。

将ID8 VEGF164/GFP转染的细胞培养至亚汇合状态并在磷酸缓冲盐（PBS）和冷MATRIGEL（BD Biosciences, Bedford, MA）中制备单细胞悬浮物。以 $5 \times 10^6$ 个细胞或未转染的对照细胞在侧腹皮下注射6至8周大小的雌性C57BL6小鼠。可选择地，以 $7 \times 10^6$ 个细胞或对照细胞腹腔内注射小鼠。在接种后8周，动物存活或被处死，并就肿瘤的生长对其进行评估。在肿瘤移植后3-14天，或当建立肿瘤移植物移入和生长速率时，开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平，进行5-14天，如果没有看到中和抗体形成的迹象，可继续施用。

### 实施例 35

#### IL-29在小鼠RENCA模型中的效应

基本上如Wigginton等人，J. Nat. Cancer Instit. 88: 38-43, 1996中描述的，使用已用RENCA 细胞（自然发生的小鼠肾细胞癌）注射的BALB/c小鼠评估IL-29在肾细胞癌模型中的效应。

简而言之，用RENCA 细胞注射8至10周大小的BALB/c小鼠，将 $1 \times 10^5$ 个细胞注射入小鼠的肾囊。在肿瘤细胞移植12天后，对小鼠进行肾切除术以除去原发性肿瘤。在施用IL-29之前，使小鼠从手术中恢复。在肿瘤移植后3-14天，或当建立肿瘤移植物移入和生长速率时，开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平，进行5-14天，如果没有看到中和抗体形成的迹象，可继续施用。可选择地，可通过皮下（ $5 \times 10^5$ 个细胞）或静脉内（ $1 \times 10^5$ 个细胞）注射导入RENCA细胞。

就和未处理小鼠比较的肿瘤应答对细胞进行评估。使用卡普兰-迈耶 (Kaplan-Meier) 法比较存活率以及评估肿瘤体积。

### 实施例 36

#### IL-29在小鼠结肠直肠肿瘤模型中的效应

如Yao等人, Cancer Res. 63: 586-592, 2003中描述的检测IL-29在结肠直肠小鼠模型中的效应。在该模型中, 将MC-26小鼠结肠肿瘤细胞移植入BALB/c小鼠的脾包膜下 (subcapsul)。14天后, 给经处理的小鼠施用IL-29。在肿瘤移植后3-14天, 或当建立肿瘤移植体移入和生长速率时, 开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平, 进行5-14天, 如果没有看到中和抗体形成的迹象, 可继续施用。

使用此处描述的标准技术评估IL-29延长存活时间或提高肿瘤应答的功效。

### 实施例 37

#### IL-29在小鼠胰腺癌模型中的效应

使用由Mukherjee等人, J. Immunol. 165: 3451-3460, 2000发展的方案评估IL-29在小鼠胰腺癌模型中的功效。简而言之, 将MUC1转基因 (MUC1. Tg) 小鼠和表达癌基因的自发地发生胰腺肿瘤的小鼠 (ET小鼠) 交配, 产生称为MET. MUC1. Tg的小鼠。ET小鼠表达在大鼠弹性蛋白酶启动子控制之下的SV40大T Ag的前127个氨基酸。50%的动物在大约21周大小时发展了威胁生命的胰腺肿瘤。通过流式细胞仪就MUC1的存在常规地检测细胞。所有小鼠都是C57BL/6背景。从第3周至24周每隔3周杀死和表征动物。就疾病-健康的体征, 包括昏睡、腹部膨胀、不能饮食或饮水、明显的体重减轻、灰白粪和驼背姿态仔细观察小鼠。

解剖整个胰腺, 除去脂肪和淋巴节, 称重, 并在吸水纸上展开以进行照相。计数小瘤, 将胰腺在乙酰胺甲氧基苯 (methacarn) 中固定, 通过常规方法加工以用于显微镜观察, 即以5 $\mu$ m厚度逐层切片 (每个小

鼠胰腺大约10个切片), 用苏木精和伊红染色, 通过光学显微镜检查。在肿瘤进展期间的各个时间点上从MET小鼠获得肿瘤, 将其在乙酰胺甲氧基苯(60%甲醇、30%氯仿、10%冰醋酸)中固定, 包埋在石蜡中, 切片以用于免疫组织化学分析。所用的MUC1抗体是CT1, 即识别MUC1、HMFG-2、BC2和SM-3的小鼠和人胞质尾区的兔多克隆Ab, 其在MUC1的TR结构域中具有表位。

在不另外加入细胞因子的情况下, 在体外肽刺激6天后, 使用标准的<sup>51</sup>Cr释放法确定CTL活性。通过经过尼龙过滤网, 然后裂解RBC来收获来自个体MET小鼠的脾细胞。

通过两色免疫荧光法就淋巴细胞亚群: CD3、CD4、CD8、Fas、FasL、CD11c以及I类和II类MHC的变化分析来自MET小鼠的脾脏的单个细胞。按照厂商说明书(染色前, 在37°C下温育4 $\mu$ l/1.2 x 10<sup>7</sup>个细胞/6ml 3小时), 在用MUC1肽(10 $\mu$ g/ml, 进行6天)刺激和用布雷菲德菌素A(brefeldin-A)(也称作Golgi-Stop; PharMingen)处理细胞后, 确定细胞内细胞因子水平。使用PharMingen透化试剂盒透化细胞并如由PharMingen所描述的就细胞内IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4和IL-5对细胞进行染色。所有荧光标记的Ab购自PharMingen。使用CellQuest程序(Becton Dickinson, Mountain View, CA)在Becton Dickinson FACscan上进行流式细胞仪分析。

在肿瘤移植后3-14天, 或当建立肿瘤移植物移入和生长速率时, 开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平, 进行5-14天, 如果没有看到中和抗体形成的迹象, 可继续施用。

### 实施例 38

#### IL-29 在鼠类乳腺癌模型中的效应

使用Colombo等人, Cancer Research 62: 941-946, 2002中描述的同系基因型模型确定IL-29在鼠类乳腺癌模型中对乳腺癌的功效。简

而言之，TS/A细胞是BALB/C小鼠的自发性乳腺癌。将所述细胞培养大约1周以选择克隆。培养选择的TS/A细胞，通过将 $2 \times 10^2$  TS/A细胞皮下注射入小鼠的侧腹部来攻击CD-1 *nu/nu* BR小鼠(Charles River Laboratories)。

在肿瘤移植后3-14天，或当建立肿瘤移植物移入和生长速率时，开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平，进行5-14天，如果没有看到中和抗体形成的迹象，可继续施用。在杀死动物后切下肿瘤，并就体积和使用组织化学和免疫组织化学对其进行分析。

### 实施例 39

#### IL-29在鼠类前列腺癌模型中的效应

使用和Kwon等人，PNAS 96: 15074-15079, 1999中描述的模型相似的模型，在鼠类前列腺癌模型中估计IL-29对肿瘤应答的效应。在该模型中，存在来源于小鼠前列腺转基因腺癌(TRAMP)的前列腺癌细胞系TRAMP-C2(其被移植入C57BL/6小鼠)的转移性生长。转移性复发(Metastatic relapse)是常见的，主要发生在紧密靠近原发性肿瘤的经流淋巴节中。

简而言之，所用的C2细胞系是来源于TRAMP小鼠的早期传代系，所述小鼠自发地发展可归因于受前列腺限制的SV40抗原表达的自身肿瘤。培养所述细胞并将其以 $2.5-5 \times 10^6$ 细胞/0.1ml培养基经皮下注射入C57BL/6小鼠。在肿瘤移植后3-14天，或当建立肿瘤移植物移入和生长速率时，开始用重组zcyto24或zcyto25处理小鼠。每天施用0.5 - 5mg/kg的处理水平，进行5-14天，如果没有看到中和抗体形成的迹象，可继续施用。在杀死动物后切下肿瘤，并就体积和使用组织化学和免疫组织化学对其进行分析。

### 实施例 40

#### IL-28和IL-29在鼠类实验性变应性脑脊髓炎(EAE)模型中的效应

实验性变应性脑脊髓炎 (EAE) 是人多发性硬化症 (MS) 的小鼠模型 (Gold 等人, *Mol. Med. Today*, 6: 88-91, 2000; Anderton 等人, *Immunol. Rev.*, 169: 123-137, 1999)。存在多种在小鼠中诱导疾病的方法。一个这样的方法是用髓鞘质蛋白髓鞘质少突胶质细胞糖蛋白 (MOG) 的肽免疫小鼠。该蛋白存在于髓鞘的外侧并充当髓鞘质的保护层。在第0天用在RIBI佐剂中乳化的MOG肽 (MOG35-55) 皮下免疫小鼠。然后在第2天用百日咳毒素 (PT) 静脉内注射小鼠。小鼠开始显示始于软弱的尾部、摇摆不稳的运动的麻痹症状, 然后后肢和前肢瘫痪, 根据测量疾病的时期、程度和严重性的几种不同的参数对其进行评分。疾病发生的延迟表明药物在小鼠中改变疾病过程。发病率的减少表明药物对生病的小鼠的数目起作用。临床评分的减少表明药物对疾病的严重度有作用。给成组的小鼠提供PBS或小鼠IL28 (SEQ ID NO: 8) 或人IL29C172S (SEQ ID NO: 29)-PEG。经IL-28/29处理的小鼠中的症状的发生、发病率的评分和疾病严重度的评分表明IL-28/29对该模型中的这些参数的作用。在第0天用100ug RIBI佐剂中的MOG35-55皮下免疫小鼠 (n=13/组)。所有小鼠在第2天静脉内接受200ng百日咳毒素。在第1-18天隔日 (EOD) 用PBS、25ug人IL29C172S或用PBS、BSA或小鼠IL28腹膜内处理成组的小鼠。如上面所详细说明的, 从第0天至第30天每天就临床症状和体重减轻对小鼠评分。经IL29 C172S (SEQ ID NO: 29)-PEG或小鼠IL28 (SEQ ID NO: 8) 处理的小鼠, 和PBS处理的动物相比, 显示了疾病发病的延迟。

表 32

处理组 D0-18 (EOD)	发病的平均天数 (MDO)	P值 (对PBS组) Mantel-Cox检测
PBS	21.1 + 4.7	-
25ug 人IL29 C172S-PEG	28.8 + 4.5	0.0006

表 33

处理组 1-21天 EOD	发病的平均天数 (MD0)	P值 (对PBS组) Mantel-Cox检测
PBS	8.6 + 1.6	-
130ug BSA	8.6 + 1.3	NS
130ug mIL28	12.2 + 3.3	P=0.0009 (PBS) P=0.001 (BSA)

表 34

处理组 1-11天 EOD	发病的平均天数 (MD0)	P值 (对PBS组) Mantel-Cox检测
PBS	9.5 + 2.5	-
50ug mIL28	12.4 + 3.8	P=0.0354
200ug mIL28	13.5 + 3.2	P=0.0007

### IL-29在多发性硬化症的小鼠模型中延迟疾病的发生

#### A. 概述

为检验IL-29是否对多发性硬化症具有任何效应，检测IL-29抑制实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE) (MS的小鼠模型) 的能力。使用在C57BL/6小鼠中良好表征的髓鞘质少突胶质细胞糖蛋白(MOG)的35-55肽免疫模型。进行实验以确定IL-29可在EAE中延迟和/或抑制疾病评分。IL-29在EAE模型中延迟疾病的发生，表明IL-29的使用在MS中是有益的。

#### B. 研究设计

实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)是MS的小鼠模型。在一个这样的模型中，用在RIBI佐剂中乳化的100 μg MOG肽(MOG35-55)免疫C57BL/6小鼠。向RIBI的瓶中加入2毫升0.5mg/ml的PBS中的MOG35-55制剂，剧烈地涡旋以乳化溶液。修剃小鼠的背部，将100 μg MOG/RIBI皮下注射入小鼠的背部。在免疫前2天和免疫后每天称取小鼠的重量。然后在第2天用200 μl百日咳毒素(PT)静脉内注射小鼠，终浓度为200ng/小鼠。每天就临床评分监测小鼠。从第0-18天隔日用200 μl

PBS、或200  $\mu$ l 体积的25ug IL-29 C172S (SEQ ID NO: 29)-PEG腹膜内注射成组的小鼠。评估小鼠的体重、临床评分和发病率并作图以进行分析。

### C. 结果和结论

从第0-18天IL-29的隔日施用在该模型中延迟了疾病的发生。该延迟和经PBS处理的小鼠相比是显著的( $p=0.0006$ , Mantel-Cox检测)。

## IL-28在多发性硬化症的小鼠模型中延迟疾病的发生

### A. 概述

为检验鼠IL-28是否对多发性硬化症具有任何效应，检测IL-28抑制实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE) (MS的小鼠模型)的能力。使用在C57BL/6小鼠中良好表征的髓鞘质少突胶质细胞糖蛋白(MOG)的35-55肽免疫模型。进行实验以确定IL-28可在EAE中延迟和/或抑制疾病评分。IL-28在EAE模型中延迟疾病的发生，表明IL-28的使用在MS治疗中是有益的。

### B. 研究设计

实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)是MS的小鼠模型。在一个这样的模型中，用在RIBI佐剂中乳化的100  $\mu$ g MOG肽(MOG35-55)免疫C57BL/6小鼠。向RIBI的瓶中加入2毫升0.5mg/ml的PBS中的MOG35-55制剂，剧烈地涡旋以乳化溶液。修剃小鼠的背部，将100  $\mu$ g MOG/RIBI皮下注射入小鼠的背部。在免疫前2天和免疫后每天称取小鼠的重量。然后在第2天用200  $\mu$ l百日咳毒素(PT)静脉内注射小鼠，终浓度为200ng/小鼠。每天就临床评分监测小鼠。在一个实验中，从第1-11天隔日用200  $\mu$ l PBS、200  $\mu$ l 体积的50ug mL28或200ug mL-28 (SEQ ID NO: 8)腹膜内注射成组的小鼠。在第二个实验中，从第1-21天隔日用200  $\mu$ l PBS、200  $\mu$ l 体积的130ug BSA或130ug mL-28 (SEQ ID NO: 8)腹膜内注射成组的小鼠。评估小鼠的体重、临床评分和发病率并

作图以进行分析。

### C. 结果和结论

IL-28 的隔日施用在该模型中以剂量依赖性的方式延迟了疾病的发病。该延迟和经PBS或BSA处理的小鼠相比是显著的。

## 实施例 41

### 肝癌细胞系 HepG2 中的 IL-29 和 IFN $\alpha$ 2a 的微阵列比较

#### A. 引言

在病毒感染后, 诱导 I 类干扰素 (IFN) 成为身体对病毒的免疫应答的部分。这些蛋白通过诱导干扰素刺激的基因 (ISG) 来抑制病毒的复制, 所述基因直接地抑制病毒复制、增加 NK 细胞的裂解能力 (Biron, C. A. 1998. Role of early cytokines, including alpha and beta interferons (IFN-alpha/beta), in innate and adaptive immune responses to viral infections. *Semin Immunol* 10: 383-90) 和通过增加 I 类 MHC 的表达调节适应性免疫应答以提高抗原呈递 (Fellous, M., Nir, U., Wallach, D., Merlin, G., Rubinstein, M., 和 Revel, M. 1982. Interferon-dependent induction of mRNA for the major histocompatibility antigens in human fibroblasts and lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79: 3082-6)、提高 T 细胞生存 (Marrack, P., Kappler, J., and Mitchell, T. 1999. Type I interferons keep activated T cells alive. *J Exp Med* 189: 521-30) 和刺激树突细胞成熟 (Buelens, C., Bartholome, E. J., Amraoui, Z., Boutriaux, M., Salmon, I., Thielemans, K., Willems, F., and Goldman, M. 2002. Interleukin-3 and interferon beta cooperate to induce differentiation of monocytes into dendritic cells with potent helper T-cell stimulatory properties. *Blood* 99: 993-8)。因为对病毒生命周期的该根本性影响, 所以已证明 IFN  $\alpha$  2a 是治疗丙型肝炎的有价值的治疗剂。



除了 I 型干扰素外, 病毒感染诱导 IL-28 和 IL-29 (IFN $\lambda$  1-3) 的产生, 这两者是最近发现的新的 II 类细胞因子的家族, 其和 IFN $\alpha$  和 IL-10 的关系不紧密。和 1 型 IFN 一样, IL28/29 具有抗许多病毒的抗病毒活性 (Sheppard, P. 等人, 2003. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol* 4: 63-8; Kotenko, S. V. 等人, 2003. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol* 4: 69-77; 和 Robek, M. D. 等人, 2005. Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication. *J Virol* 79: 3851-4)。我们和其他人在前面已显示 IL-29 在原代人肝细胞和人肝癌细胞系例如 HuH7 和 HepG2 中诱导 ISG Mx1、PRKR 和 OAS。因此 IL28/29 可象 IFN $\alpha$  2a 一样调节生物学活性和具有抗人患者中的慢性病毒性肝炎的治疗价值。然而, IL-29 和 IFN $\alpha$  利用不同的受体, 这使得这两种细胞因子可能潜在地调节其他细胞因子特异性基因亚组和生物学过程。因此在全局规模上比较这两种细胞因子的基因调控特征谱是非常有意义的。因此, 在分离总 DNA 和使用 DNA 微阵列分析法分析基因调控之前用 IL-29 和 IFN $\alpha$  2a 处理 HepG2 细胞, 进行不同的时间。

### B. 研究设计

为鉴定在肝细胞中受 IL-29 和 IFN $\alpha$  2a 调控的基因, 在肝癌细胞系 HepG2 上进行微阵列实验。对于这些实验用作为负对照的培养基、50  $\mu$ g/ml 人 IL-29 (SEQ ID NO: 4) 或 5  $\mu$ g/ml 人 IFN $\alpha$  2a 处理 HepG2 细胞的三份重复培养物, 进行 1、6 或 24 小时。刺激后, 按照厂商说明书, 使用购自 QIAGEN 的 RNeasy Mini 试剂盒提取总 RNA, 使用 RNA 6000 Nano Assay (Agilent) 在 Agilent 2100 Bioanalyzer 中确定 RNA 的质量和数量。简而言之, 使用购自 Affymetrix 的 GeneChip<sup>®</sup> One-Cycle Target Labeling and Control Reagents 合成生物素标记的 cRNA。按照厂商说明书, 将各样品的片段化的 cRNA 和 Affymetrix Human Genome Focus Array 杂交和染色。然后在 Affymetrix GeneChip<sup>®</sup>

Scanner 3000 上扫描阵列，使用 Affymetrix GeneChip® Operating Software (GCOS) 数据挖掘软件产生原始数据。然后将原始数据输入 GeneSpring 7.0 微阵列分析软件 (Silicon Genetics) 以进行数据分析目的。将低于 0.01 的值转化为 0.01 的值。使用所有存在的并具有 50 或更大的原始值将所有阵列的每一阵列的强度规范为第 50 的百分位。对中位数规范基于每个基因的值，所述中位数通过所有阵列上具有 50 或更大的原始值的值计算而来。使用未滤过的数据产生散布图。受 IL-29 调控的基因被鉴定为具有小于或等于 0.05 的单因子变异数分析 (ANOVA)  $p$ -值，600 (3 倍于背景) 或更大的经 IL-29 处理的样品中的原始强度，以及和在对应时间点上经培养基处理的样品相比具有 2 倍或更大的倍数变化的基因。在 6 小时时间点上观察到基因的最大诱导。

### C. 结果和结论

分析微阵列结果后发现，在 HepG2 细胞中都由 IL-29 和 IFN  $\alpha$  2a 产生的基因调控似乎是短暂的，在 6 小时处达到峰值，然后逐渐下降。在将来自经 IL-29 处理的样品的数据和来自经 IFN  $\alpha$  2a 处理的样品的数据比较之后，发现所有基因被这两种细胞因子类似地调控，表明 IL-29 和 IFN  $\alpha$  2a 在肝细胞中调控相同的基因亚组。然而，在 HepG2 细胞中受 IFN  $\alpha$  2a 诱导的程度比由 IL-29 引起的程度强。经鉴定为受 IL-29 上调 (如根据列于研究设计部分的标准所确定的) 的所有基因的目录在下面列于表 35 中。发现这些基因专门由已知的干扰素刺激的基因 (ISG) 组成，所述干扰素刺激的基因编码参与抗病毒反应 (OAS 基因、MX 基因和 PRKR、ADAR)、增殖的调控 (IFITM1、IFITM3、CEB1)、编程性细胞凋亡 (TNFSF10) 和信号转导 (NMI, STAT1, IRF9) 的蛋白。这些数据表明 IL-29 在表达 IL-28 受体的细胞例如肝细胞中介导和由 I 类干扰素调控的生物学功能相同的生物学功能。

表 35

基因名称	描述	Unigene ID	IFN 倍数改变	IL-29 倍数改变
IFIT1	具有三十四肽重复单位 1 的干扰素诱导的蛋白	Hs.20315	384.1	198.1
IFI27	干扰素 $\alpha$ 诱导型蛋白 27	Hs.532634	221.5	91.96
OAS2	2'-5'寡腺苷酸合成酶 2	Hs.414332	92.73	40.91
MX1	粘病毒 (流感病毒) 抗性 1	Hs.517307	81.47	42.44
G1P3	干扰素 $\alpha$ 诱导型蛋白 (克隆 IFI-6-16)	Hs.523847	38.48	32.87
CEB1	周期蛋白 E 结合性蛋白 1	Hs.26663	34.09	4.526
IFIT3	干扰素诱导的具有三十四肽重复单位 3 的蛋白	Hs.47338	33.06	12.58
OAS1	2',5'-寡腺苷酸合成酶 1	Hs.524760	26.78	13.1
OASL	2'-5'寡腺苷酸合成酶样	Hs.118633	25.87	8.516
OAS3	2'-5'寡腺苷酸合成酶 3	Hs.528634	23.15	10.83
MDA5	黑色素瘤分化关联蛋白-5	Hs.163173	22.7	7.423
G1P2	干扰素 $\alpha$ 诱导型蛋白 (克隆 IFI-15K)	Hs.458485	22.49	13.6
DDX58	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 盒多肽 58	Hs.190622	21.63	8.265
APOL6	载脂蛋白 L, 6	Hs.257352	18.16	7.865
HSXIAPAF1	XIAP 关联因子-1	Hs.441975	15.2	7.96
HMI	N-myc(和 STAT) interactor	Hs.54483	13.85	3.855
PLSCR1	磷脂 scramblase 1	Hs.130759	11.64	6.899
UBE2L6	结合在蛋白的酶 E2L 6	Hs.425777	11.21	4.463
SP110	SP110 核体蛋白	Hs.145150	10.94	4.551
USP18	遍在蛋白特异性蛋白酶 18	Hs.38260	10.83	4.357
ISGF3G	干扰素调节因子 9	Hs.1706	10.44	7.496
STAT1	转录因子 1 的信号转导物和激活物, 91kDa	Hs.470943	9.701	5.565
SP100	核抗原 Sp100	Hs.369056	9.328	3.567
PSMB9	蛋白酶体 (前体, macropain) 亚基, $\beta$ 型, 9	Hs.381081	9.227	3.128
TNFSF10	肿瘤坏死因子超家族, 成员 10 (TRAIL)	Hs.478275	8.819	3.003
MX2	粘病毒 (流感病毒) 抗性 2	Hs.926	7.847	3.368
IFIT5	干扰素诱导的具有三十四肽重复单位 5 的蛋白	Hs.252839	7.208	4.143
ISG20	干扰素刺激的基因 20kDa	Hs.459265	7.188	2.489
PRKR	干扰素诱导型双链 RNA 依赖性蛋白激酶	Hs.131431	7.025	4.924
IFITM1	干扰素诱导的跨膜蛋白 1(9-27)	Hs.458414	6.288	3.144
LY6E	淋巴细胞抗原 6 复合物, 基因座 E (Sca-2)	Hs.521903	4.047	2.282
BST2	骨髓基质细胞抗原 2	Hs.118110	3.737	2.127
IFITM3	干扰素诱导的跨膜蛋白 3 (1-8U)	Hs.374650	3.057	2.25

## 实施例 42

### 小鼠IL28质粒在小鼠中抑制肾细胞癌RENCA肿瘤的生长

#### A. 概述

为确定IL28/IL29对小鼠中的肿瘤生长是否具有作用，在第0天用RENCA肿瘤细胞皮下注射成组的小鼠。然后在第5和12天，通过流体动力递送(hydrodynamic delivery)(HDD)用50ug对照载体质粒或mIL28质粒(SEQ ID NO: 7)注射小鼠。每周3次监测肿瘤体积，进行5周。通过ELISA测量血清中小鼠IL28蛋白的水平。用mIL28质粒注射的小鼠，和注射对照质粒的小鼠相比，显示显著更小的肿瘤，表明小鼠IL28具有抗肿瘤活性。

#### B. 研究设计

在第0天用 $0.1 \times 10^6$  RENCA细胞在右肋腹上皮皮下注射10周大小的雌性BALB/c小鼠(Charles River Laboratories)。在第5天和12天，使用流体动压法(在5-8秒内通过尾静脉注射重悬浮于1.6ml生理盐水中的质粒)用50ug空的pZP-7质粒或pZP-7/mIL28静脉内注射成组小鼠(n=10/组)。在质粒注射后24小时(第6和13天)将小鼠放血以通过ELISA确定血清mIL28的水平。使用测径器测量，每周3次监测肿瘤生长，进行5周。使用公式 $\frac{1}{2} * (B)^2 * L$  (mm<sup>3</sup>)计算肿瘤体积。

#### C. 结果和结论

mIL28质粒的注射导致质粒递送后24小时，蛋白质的表达在50-200ng/ml之间。mIL-28质粒的注射在RENCA模型中抑制肿瘤生长。经对照质粒和IL28质粒注射的小鼠之间的肿瘤体积上的差异在统计学上是显著的(在第36天，和对照相比，p=0.0125)(图1)。这些数据表明IL28具有抗肿瘤活性并可能对癌症具有治疗效果。

## 实施例 43

### 小鼠IL28质粒和人IL29 C172S-PEG蛋白在小鼠中抑制RENCA肿瘤

## 的生长

### A. 概述

为确定IL28/IL29在小鼠中是否影响肿瘤的生长，在第0天用RENCA肿瘤皮下注射成组的小鼠。然后在第5和12天通过流体动力递送(HDD)用50ug对照载体质粒、mIL28质粒(SEQ ID NO: 7)或mIFN $\alpha$ 质粒注射小鼠。从第5至21天，独立的组的肿瘤载荷小鼠隔日(EOD)接受通过腹膜内注射的25ug人IL29 C172S (SEQ ID NO: 29)-PEG (20kD通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛)蛋白。每周3次监测肿瘤体积，进行4周。通过ELISA测量血清中小鼠IL28和IFN $\alpha$ 蛋白的水平。用mIL28或mIFN $\alpha$ 质粒注射的小鼠，和经对照质粒注射的小鼠相比，显示显著更小的肿瘤，表明小鼠IL28具有抗肿瘤活性。此外，用IL29 C172S-PEG蛋白注射的小鼠，和对照相比，也显示减少的肿瘤体积。这些数据表明IL28和IL29都具有抗肿瘤活性。

### B. 研究设计

在第0天用 $0.1 \times 10^6$  RENCA细胞在右肋腹上皮皮下注射10周大小的雌性BALB/c小鼠(Charles River Laboratories)。在第5和12天，使用流体动压法(在5-8秒内通过尾静脉注射重悬浮于1.6ml生理盐水中的质粒)用50ug空的pZP-7质粒或pZP-7/mIL28或pORF/mIFN $\alpha$ 静脉内注射成组小鼠(n=10/组)。从第5至21天隔日用25ug人IL29 C172S-PEG腹膜内注射分开的组的小鼠(n=10)。以200ul的总体积提供腹膜内注射。在质粒注射后24小时(第6和13天)将小鼠放血以通过ELISA确定血清mIL28和mIFN $\alpha$ 的水平。使用测径器测量，每周3次监测肿瘤生长，进行4周。使用公式 $\frac{1}{2} * (B)^2 * L$  (mm<sup>3</sup>)计算肿瘤体积。

### C. 结果和结论

mIL-28或mIFN $\alpha$ 质粒的施用在该RENCA模型中都显著抑制肿瘤的生长(和第28天的对照组相比，对于所有3组， $p < 0.001$ ) (图2)。人IL-29 C172S-PEG蛋白注射，和对照相比，也显著地抑制肿瘤生长。这

些数据表明mIL28和人IL29具有抗肿瘤活性并且可能对癌症具有治疗效果。

#### 实施例 44

### 低剂量的人 IL29 蛋白的 2 种不同形式在 RENCA 模型中显示抗肿瘤活性

#### A. 概述

为确定是否可在比上述更低的剂量上获得IL29的抗肿瘤活性，在第0天用RENCA细胞皮下注射成组的小鼠。从第5至23天，独立的组的肿瘤载荷小鼠隔日（EOD）接受通过腹膜内注射的1ug、5ug、25ug人IL29 C172S（SEQ ID NO: 29）-PEG（20kD的通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛）或人IL29 C172S d2-7（SEQ ID NO: 159）-PEG（20kD的通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛）蛋白。每周3次监测肿瘤体积，进行4周。用1、5或25ugIL29C172S-PEG蛋白注射的小鼠，和对照相比，显示减少的肿瘤体积。此外，用1、5或25ug的人IL29 C172S d2-7-PEG蛋白注射的小鼠，和对照相比，也显示显著减小的肿瘤生长。这些数据表明低剂量的人IL29蛋白的2种不同形式在小鼠中具有抗肿瘤活性。

#### B. 研究设计

在第0天用 $0.1 \times 10^6$  RENCA细胞在右肋腹皮下注射10周大小的雌性BALB/c 小鼠(Charles River Laboratories)。从第5至23天隔日用1ug、5ug或25ug人IL29 C172S-PEG或人IL29 C172S d2-7-PEG腹膜内注射成组的小鼠（n=10/组）。以200ul的总体积提供腹膜内注射。使用测径器测量，每周3次监测肿瘤生长，进行4周。使用公式 $\frac{1}{2} * (B)^2 * L$  (mm<sup>3</sup>)计算肿瘤体积。

#### C. 结果和结论

1ug、5ug或25ug人IL29 C172S-PEG蛋白的施用显著抑制肿瘤的生长。此外，和经媒介物处理的小鼠相比，1ug、5ug或25ug IL29 C172S

d2-7-PEG蛋白的注射抑制肿瘤生长(图3)。这些数据提供了人IL-29蛋白具有抗肿瘤活性并且可能对各种肿瘤具有治疗效果的证据。

### 实施例 45

#### 使用PEG化的人IL29的治疗性处理在RENCA模型中显示有效的抗肿瘤活性

##### A. 概述

为确定使用IL29的治疗性处理是否可诱导抗肿瘤活性,在第0天用RENCA肿瘤皮下注射成组的小鼠。当肿瘤体积达到 $100\text{mm}^3$ 时,小鼠隔日(EOD)接受媒介物、5ug或25ug人IL29 C172S d2-7 (SEQ ID NO: 159)-PEG (20kD通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛)蛋白(共进行10次注射)或每日(ED)接受5ug人IL29 C172S d2-7 (SEQ ID NO: 159)-PEG (20kD通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛)蛋白(共进行20次注射)。作为对照,从肿瘤注射的第5天开始共20天(第5-23天)用5ug人IL29 C172S d2-7-PEG隔日预防性地处理一组小鼠。各个体小鼠只在其肿瘤体积达到 $100\text{mm}^3$ 后接受注射。蛋白的所有注射都通过腹膜内施用。每周3次监测肿瘤的面积,进行4周。用5ug或25ug隔日或5ug每日注射的小鼠,和对照相比,都显示显著较少的肿瘤生长。和前面的结果一致,提供使用5ug IL29预防性处理的小鼠,和对照相比,也显示减少的肿瘤生长。这些数据表明使用人IL29蛋白的治疗性处理在小鼠中具有抗肿瘤活性。

##### B. 研究设计

在第0天用 $0.1 \times 10^6$  RENCA细胞在右肋腹上皮下注射10周大小的雌性BALB/c小鼠(Charles River Laboratories)。从肿瘤面积为大约 $100\text{mm}^3$ 时开始,用媒介物、5ug或25ug人IL29 C172Sd2-7-PEG隔日腹膜内注射成组的小鼠( $n=10/\text{组}$ ),进行20天,或每天用5ug人IL29 C172S d2-7-PEG注射,进行20天。从实验(预防性处理)的第5天开始,分开的组的小鼠隔日接受5ug人IL29 C172S d2-7-PEG,进行20天。以 $200\text{u}1$

的总体积提供腹膜内注射。使用测径器测量,每周3次监测肿瘤的生长,进行4周。使用公式 $\frac{1}{2} * (B)^2 * L$  (mm<sup>3</sup>)计算肿瘤体积。

### C. 结果和结论

用5ug或25ug隔日或5ug每日注射的小鼠,和对照相比,显示显著更小的肿瘤生长。和前面的结果一致,使用5ug IL29的预防性处理的小鼠,和对照相比,也显示减少的肿瘤生长(图4)。这些数据提供了人IL29蛋白具有抗肿瘤活性和对于各种肿瘤具有治疗性效果的证据。

## 实施例 46

### 使用 PEG化人IL29的预防性处理在E. G7胸腺瘤模型中抑制肿瘤的生长

#### A. 概述

为确定IL29是否可在其他肿瘤中诱导抗肿瘤活性,在第0天用E. G7肿瘤皮下注射成组的小鼠。成组的小鼠隔日接受媒介物或25ug人IL29 C172S d2-7 (SEQ ID NO: 159)-PEG (20kD通过N末端缀合的甲氧基-聚乙二醇丙醛)蛋白,共10次注射(第0-18天)。蛋白的所有注射都通过腹膜内施用。每周3次监测肿瘤体积,进行4周。用25ug隔日注射的小鼠,和对照相比,显示显著减少的肿瘤生长。这些数据表明使用人IL-29蛋白的处理在小鼠中具有抗肿瘤活性。

#### B. 研究设计

在第0天用 $0.4 \times 10^6$  E. G7细胞在右肋腹上皮下注射10周大小的雌性C57BL/6 小鼠(Charles River Laboratories)。用媒介物或25ug人IL29 C172Sd2-7-PEG隔日腹膜内注射成组的小鼠(n=10/组),进行20天。以200ul的总体积提供腹膜内注射。使用测径器测量,每周3次监测肿瘤生长,进行4周。使用公式 $\frac{1}{2} * (B)^2 * L$  (mm<sup>3</sup>)计算肿瘤体积。



### C. 结果和结论

用25ug隔日注射的小鼠，和对照相比，显示显著更少的肿瘤生长并且和对照动物相比也延长小鼠的存活期（图5A和5B）。这些数据提供了人IL29蛋白具有抗肿瘤活性和对于各种肿瘤具有潜在的治疗性效果的证据。

此处引述的所有专利、专利申请和出版物以及可电子获得的材料（例如，GenBank 氨基酸和核苷酸序列的提交内容）的全部公开内容在此引用作为参考。前面详述的说明和实施例仅用于使理解更清晰。不应从其理解出不必要的限制，本发明不限于显示的 and 描述的确切细节，因为对于本领域技术人员是显然的改变包含在由权利要求所界定的本发明中。

<110> ZymoGenetics, Inc.

<120> IL-28 和 IL-29 治疗癌症和自身免疫性疾病的用途

<130> 04-08PC

<160> 161

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 734

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> sig\_peptide

<222> (53)... (127)

<221> mat\_peptide

<222> (128)... (655)

<221> CDS

<222> (53)... (655)

<400> 1

tgggtgacag cctcagagtg tttcttctgc tgacaaagac cagagatcag ga atg aaa 58  
Met Lys  
-25

cta gac atg act ggg gac tgc acg cca gtg ctg gtg ctg atg gcc gca 106  
Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Thr Pro Val Leu Val Leu Met Ala Ala  
-20 -15 -10

gtg ctg acc gtg act gga gca gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct 154  
Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala  
-5 1 5

ctc ccg gat gca agg ggc tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct 202  
Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser  
10 15 20 25

cca cag gag ctg cag gcc ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag 250  
 Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu  
                   30                  35                  40

tcg ctt ctg ctg aag gac tgc agg tgc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg 298  
 Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg  
                   45                  50                  55

acc tgg gac ctg agg cag ctg cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg 346  
 Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu  
                   60                  65                  70

gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac 394  
 Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp  
                   75                  80                  85

act gac cca gcc ctg gtg gac gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg 442  
 Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu  
                   90                  95                  100                  105

cac cat atc ctc tcc cag ttc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg 490  
 His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr  
                   110                  115                  120

gca ggg ccc agg acc cgg ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc 538  
 Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu  
                   125                  130                  135

cag gag gcc cca aaa aag gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc 586  
 Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val  
                   140                  145                  150

acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc 634  
 Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala  
                   155                  160                  165

agt ggg gac ctg tgt gtc tga cctcccacc agtcatgcaa cctgagattt 685  
 Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
 170                  175

tattataaa ttagccactt gtcttaattt attgccaccc agtcgctat 734

&lt;210&gt; 2

<211> 200  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<220>  
 <221> SIGNAL  
 <222> (1)... (25)

<400> 2

```

Met Lys Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Thr Pro Val Leu Val Leu Met
-25          -20          -15          -10
Ala Ala Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu His
          -5          1          5
Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser
          10          15          20
Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu
          25          30          35
Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe
40          45          50          55
Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met
          60          65          70
Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr
          75          80          85
Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His
          90          95          100
Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln
          105          110          115
Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr
120          125          130          135
Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala
          140          145          150
Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys
          155          160          165
Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
          170          175

```

<210> 3  
 <211> 856  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> sig\_peptide

<222> (98)... (154)

<221> mat\_peptide

<222> (155)... (700)

<221> CDS

<222> (98)... (700)

<400> 3

aattaccttt tcaactttaca cacatcatct tggattgcc attttgcgtg gctaaaaagc 60  
 agagccatgc cgctggggaa gcagttgcga tttagcc atg gct gca gct tgg acc 115  
 Met Ala Ala Ala Trp Thr  
 -15

gtg gtg ctg gtg act ttg gtg cta ggc ttg gcc gtg gca ggc cct gtc 163  
 Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu Ala Val Ala Gly Pro Val  
 -10 -5 1

ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg 211  
 Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg  
 5 10 15

ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg 259  
 Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg  
 20 25 30 35

gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct 307  
 Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser  
 40 45 50

cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag 355  
 Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu  
 55 60 65

cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg 403  
 Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu  
 70 75 80

gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt 451  
 Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu  
 85 90 95

cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct 499  
 His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro

100	105	110	115	
cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg				547
Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu				
	120	125	130	
cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag				595
His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu				
	135	140	145	
gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa				643
Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys				
	150	155	160	
tat gtg gcc gat ggg aac ctg tgt ctg aga acg tca acc cac cct gag				691
Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu				
	165	170	175	
tcc acc tga cacccacac cttatttatg cgctgagccc tactccttc				740
Ser Thr *				
180				
ttaatttatt tcctctcacc cttatttat gaagctgcag ccctgactga gacatagggc				800
tgagtttatt gttttacttt tatacattat gcacaataa acaacaagga attgga				856
<210> 4				
<211> 200				
<212> PRT				
<213> 智人				
<220>				
<221> SIGNAL				
<222> (1)... (19)				
<400> 4				
Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu				
	-15	-10	-5	
Ala Val Ala Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys				
	1	5	10	
Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala				
	15	20	25	
Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys				
	30	35	40	45
Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg				

```

          50              55              60
Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala
          65              70              75
Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp
          80              85              90
Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu
          95              100             105
Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly
110              115              120              125
Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu
          130              135              140
Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu
          145              150              155
Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg
          160              165              170
Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr
          175              180

```

<210> 5  
 <211> 734  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<220>  
 <221> sig\_peptide  
 <222> (53)...(127)

<221> mat\_peptide  
 <222> (128)...(655)

<221> CDS  
 <222> (53)...(655)

<400> 5  
 tgggtgacag cctcagagtg tttcttctgc tgacaaagac cagagatcag ga atg aaa 58  
 Met Lys  
 -25

cta gac atg acc ggg gac tgc atg cca gtg ctg gtg ctg atg gcc gca 106  
 Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Met Pro Val Leu Val Leu Met Ala Ala  
 -20 -15 -10

gtg ctg acc gtg act gga gca gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct 154

---

Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala  
-5 1 5

ctc ccg gat gca agg ggc tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct 202  
Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser  
10 15 20 25

cca cag gag ctg cag gcc ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag 250  
Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu  
30 35 40

tcg ctt ctg ctg aag gac tgc aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg 298  
Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg  
45 50 55

acc tgg gac ctg agg cag ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg 346  
Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu  
60 65 70

gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac 394  
Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp  
75 80 85

act gac cca gcc ctg ggg gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg 442  
Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu  
90 95 100 105

cac cat atc ctc tcc cag ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg 490  
His His Ile Leu Ser Gln Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr  
110 115 120

gca ggg ccc agg acc cgg ggc cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc 538  
Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu  
125 130 135

cag gag gcc cca aaa aag gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc 586  
Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val  
140 145 150

acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc 634  
Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala  
155 160 165

agc ggg gac ctg tgt gtc tga cccttcgcc agtcatgcaa cctgagattt 685



Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
170 175

tatttataaa ttagccactt ggcttaattt attgccaccc agtcgctat 734

<210> 6  
<211> 200  
<212> PRT  
<213> 智人

<220>  
<221> SIGNAL  
<222> (1)... (25)

<400> 6  
Met Lys Leu Asp Met Thr Gly Asp Cys Met Pro Val Leu Val Leu Met  
-25 -20 -15 -10  
Ala Ala Val Leu Thr Val Thr Gly Ala Val Pro Val Ala Arg Leu Arg  
-5 1 5  
Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser  
10 15 20  
Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu  
25 30 35  
Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe  
40 45 50 55  
Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val  
60 65 70  
Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr  
75 80 85  
Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His  
90 95 100  
Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln  
105 110 115  
Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His  
120 125 130 135  
Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala  
140 145 150  
Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys  
155 160 165  
Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
170 175

<210> 7

<211> 633

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> sig\_peptide

<222> (22)...(105)

<221> mat\_peptide

<222> (106)...(630)

<221> CDS

<222> (22)...(630)

<400> 7

```

tcacagaccc cggagagcaa c atg aag cca gaa aca gct ggg ggc cac atg   51
                    Met Lys Pro Glu Thr Ala Gly Gly His Met
                               -25                               -20

ctc ctc ctg ctg ttg cct ctg ctg ctg gcc gca gtg ctg aca aga acc   99
Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Ala Ala Val Leu Thr Arg Thr
                    -15                    -10                    -5

caa gct gac cct gtc ccc agg gcc acc agg ctc cca gtg gaa gca aag   147
Gln Ala Asp Pro Val Pro Arg Ala Thr Arg Leu Pro Val Glu Ala Lys
                    1                    5                    10

gat tgc cac att gct cag ttc aag tct ctg tcc cca aaa gag ctg cag   195
Asp Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Lys Glu Leu Gln
                    15                    20                    25                    30

gcc ttc aaa aag gcc aag gat gcc atc gag aag agg ctg ctt gag aag   243
Ala Phe Lys Lys Ala Lys Asp Ala Ile Glu Lys Arg Leu Leu Glu Lys
                    35                    40                    45

gac ctg agg tgc agt tcc cac ctc ttc ccc agg gcc tgg gac ctg aag   291
Asp Leu Arg Cys Ser Ser His Leu Phe Pro Arg Ala Trp Asp Leu Lys
                    50                    55                    60

cag ctg cag gtc caa gag cgc ccc aag gcc ttg cag gct gag gtg gcc   339
Gln Leu Gln Val Gln Glu Arg Pro Lys Ala Leu Gln Ala Glu Val Ala
                    65                    70                    75

ctg acc ctg aag gtc tgg gag aac atg act gac tca gcc ctg gcc acc   387

```

Leu Thr Leu Lys Val Trp Glu Asn Met Thr Asp Ser Ala Leu Ala Thr  
           80                                  85                                  90  
  
 atc ctg ggc cag cct ctt cat aca ctg agc cac att cac tcc cag ctg 435  
 Ile Leu Gly Gln Pro Leu His Thr Leu Ser His Ile His Ser Gln Leu  
   95                                  100                                  105                                  110  
  
 cag acc tgt aca cag ctt cag gcc aca gca gag ccc agg tcc ccg agc 483  
 Gln Thr Cys Thr Gln Leu Gln Ala Thr Ala Glu Pro Arg Ser Pro Ser  
                                   115                                  120                                  125  
  
 cgc cgc ctc tcc cgc tgg ctg cac agg ctc cag gag gcc cag agc aag 531  
 Arg Arg Leu Ser Arg Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Gln Ser Lys  
                                   130                                  135                                  140  
  
 gag acc cct ggc tgc ctg gag gcc tct gtc acc tcc aac ctg ttt cgc 579  
 Glu Thr Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Ser Asn Leu Phe Arg  
                                   145                                  150                                  155  
  
 ctg ctc acc cgg gac ctc aag tgt gtg gcc aat gga gac cag tgt gtc 627  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Cys Val Ala Asn Gly Asp Gln Cys Val  
   160                                  165                                  170  
  
 tga cct 633  
 \*

<210> 8

<211> 202

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> SIGNAL

<222> (1)... (28)

<400> 8

Met Lys Pro Glu Thr Ala Gly Gly His Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro  
                   -25                                  -20                                  -15  
 Leu Leu Leu Ala Ala Val Leu Thr Arg Thr Gln Ala Asp Pro Val Pro  
                   -10                                  -5                                  1  
 Arg Ala Thr Arg Leu Pro Val Glu Ala Lys Asp Cys His Ile Ala Gln  
   5                                  10                                  15                                  20

Phe Lys Ser Leu Ser Pro Lys Glu Leu Gln Ala Phe Lys Lys Ala Lys  
                           25                          30                          35  
 Asp Ala Ile Glu Lys Arg Leu Leu Glu Lys Asp Leu Arg Cys Ser Ser  
                           40                          45                          50  
 His Leu Phe Pro Arg Ala Trp Asp Leu Lys Gln Leu Gln Val Gln Glu  
                           55                          60                          65  
 Arg Pro Lys Ala Leu Gln Ala Glu Val Ala Leu Thr Leu Lys Val Trp  
                           70                          75                          80  
 Glu Asn Met Thr Asp Ser Ala Leu Ala Thr Ile Leu Gly Gln Pro Leu  
 85                          90                          95                          100  
 His Thr Leu Ser His Ile His Ser Gln Leu Gln Thr Cys Thr Gln Leu  
                           105                          110                          115  
 Gln Ala Thr Ala Glu Pro Arg Ser Pro Ser Arg Arg Leu Ser Arg Trp  
                           120                          125                          130  
 Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Gln Ser Lys Glu Thr Pro Gly Cys Leu  
                           135                          140                          145  
 Glu Ala Ser Val Thr Ser Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu  
                           150                          155                          160  
 Lys Cys Val Ala Asn Gly Asp Gln Cys Val  
 165                          170

<210> 9  
 <211> 632  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<220>  
 <221> sig\_peptide  
 <222> (22)...(105)

<221> mat\_peptide  
 <222> (106)...(630)

<221> CDS  
 <222> (22)...(630)

<400> 9  
 tcacagaccc cggagagcaa c atg aag cca gaa aca gct ggg ggc cac atg 51  
                           Met Lys Pro Glu Thr Ala Gly Gly His Met  
                           -25                          -20

ctc ctc ctg ctg ttg cct ctg ctg ctg gcc gca gtg ctg aca aga acc 99  
 Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Leu Ala Ala Val Leu Thr Arg Thr

-15	-10	-5	
caa gct gac cct gtc ccc agg gcc acc agg ctc cca gtg gaa gca aag			147
Gln Ala Asp Pro Val Pro Arg Ala Thr Arg Leu Pro Val Glu Ala Lys			
1	5	10	
gat tgc cac att gct cag ttc aag tct ctg tcc cca aaa gag ctg cag			195
Asp Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Lys Glu Leu Gln			
15	20	25	30
gcc ttc aaa aag gcc aag ggt gcc atc gag aag agg ctg ctt gag aag			243
Ala Phe Lys Lys Ala Lys Gly Ala Ile Glu Lys Arg Leu Leu Glu Lys			
35	40	45	
gac atg agg tgc agt tcc cac ctc atc tcc agg gcc tgg gac ctg aag			291
Asp Met Arg Cys Ser Ser His Leu Ile Ser Arg Ala Trp Asp Leu Lys			
50	55	60	
cag ctg cag gtc caa gag cgc ccc aag gcc ttg cag gct gag gtg gcc			339
Gln Leu Gln Val Gln Glu Arg Pro Lys Ala Leu Gln Ala Glu Val Ala			
65	70	75	
ctg acc ctg aag gtc tgg gag aac ata aat gac tca gcc ctg acc acc			387
Leu Thr Leu Lys Val Trp Glu Asn Ile Asn Asp Ser Ala Leu Thr Thr			
80	85	90	
atc ctg ggc cag cct ctt cat aca ctg agc cac att cac tcc cag ctg			435
Ile Leu Gly Gln Pro Leu His Thr Leu Ser His Ile His Ser Gln Leu			
95	100	105	110
cag acc tgt aca cag ctt cag gcc aca gca gag ccc aag ccc ccg agt			483
Gln Thr Cys Thr Gln Leu Gln Ala Thr Ala Glu Pro Lys Pro Pro Ser			
115	120	125	
cgc cgc ctc tcc cgc tgg ctg cac agg ctc cag gag gcc cag agc aag			531
Arg Arg Leu Ser Arg Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Gln Ser Lys			
130	135	140	
gag act cct ggc tgc ctg gag gac tct gtc acc tcc aac ctg ttt caa			579
Glu Thr Pro Gly Cys Leu Glu Asp Ser Val Thr Ser Asn Leu Phe Gln			
145	150	155	
ctg ctc ctc cgg gac ctc aag tgt gtg gcc agt gga gac cag tgt gtc			627
Leu Leu Leu Arg Asp Leu Lys Cys Val Ala Ser Gly Asp Gln Cys Val			

```

      160          165          170
tga cc
*

<210> 10
<211> 202
<212> PRT
<213> Mus musculus

<220>
<221> SIGNAL
<222> (1)... (28)

<400> 10
Met Lys Pro Glu Thr Ala Gly Gly His Met Leu Leu Leu Leu Leu Pro
      -25          -20          -15
Leu Leu Leu Ala Ala Val Leu Thr Arg Thr Gln Ala Asp Pro Val Pro
      -10          -5          1
Arg Ala Thr Arg Leu Pro Val Glu Ala Lys Asp Cys His Ile Ala Gln
  5          10          15          20
Phe Lys Ser Leu Ser Pro Lys Glu Leu Gln Ala Phe Lys Lys Ala Lys
          25          30          35
Gly Ala Ile Glu Lys Arg Leu Leu Glu Lys Asp Met Arg Cys Ser Ser
          40          45          50
His Leu Ile Ser Arg Ala Trp Asp Leu Lys Gln Leu Gln Val Gln Glu
      55          60          65
Arg Pro Lys Ala Leu Gln Ala Glu Val Ala Leu Thr Leu Lys Val Trp
      70          75          80
Glu Asn Ile Asn Asp Ser Ala Leu Thr Thr Ile Leu Gly Gln Pro Leu
  85          90          95          100
His Thr Leu Ser His Ile His Ser Gln Leu Gln Thr Cys Thr Gln Leu
          105          110          115
Gln Ala Thr Ala Glu Pro Lys Pro Pro Ser Arg Arg Leu Ser Arg Trp
          120          125          130
Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Gln Ser Lys Glu Thr Pro Gly Cys Leu
          135          140          145
Glu Asp Ser Val Thr Ser Asn Leu Phe Gln Leu Leu Leu Arg Asp Leu
          150          155          160
Lys Cys Val Ala Ser Gly Asp Gln Cys Val
165          170

```

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 520

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 11

Met Ala Gly Pro Glu Arg Trp Gly Pro Leu Leu Leu Cys Leu Leu Gln  
 1                   5                   10                   15  
 Ala Ala Pro Gly Arg Pro Arg Leu Ala Pro Pro Gln Asn Val Thr Leu  
                   20                   25                   30  
 Leu Ser Gln Asn Phe Ser Val Tyr Leu Thr Trp Leu Pro Gly Leu Gly  
           35                   40                   45  
 Asn Pro Gln Asp Val Thr Tyr Phe Val Ala Tyr Gln Ser Ser Pro Thr  
       50                   55                   60  
 Arg Arg Arg Trp Arg Glu Val Glu Glu Cys Ala Gly Thr Lys Glu Leu  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Cys Ser Met Met Cys Leu Lys Lys Gln Asp Leu Tyr Asn Lys Phe  
                   85                   90                   95  
 Lys Gly Arg Val Arg Thr Val Ser Pro Ser Ser Lys Ser Pro Trp Val  
                  100                   105                   110  
 Glu Ser Glu Tyr Leu Asp Tyr Leu Phe Glu Val Glu Pro Ala Pro Pro  
           115                   120                   125  
 Val Leu Val Leu Thr Gln Thr Glu Glu Ile Leu Ser Ala Asn Ala Thr  
       130                   135                   140  
 Tyr Gln Leu Pro Pro Cys Met Pro Pro Leu Asp Leu Lys Tyr Glu Val  
 145                   150                   155                   160  
 Ala Phe Trp Lys Glu Gly Ala Gly Asn Lys Thr Leu Phe Pro Val Thr  
                  165                   170                   175  
 Pro His Gly Gln Pro Val Gln Ile Thr Leu Gln Pro Ala Ala Ser Glu  
           180                   185                   190  
 His His Cys Leu Ser Ala Arg Thr Ile Tyr Thr Phe Ser Val Pro Lys  
          195                   200                   205  
 Tyr Ser Lys Phe Ser Lys Pro Thr Cys Phe Leu Leu Glu Val Pro Glu  
       210                   215                   220  
 Ala Asn Trp Ala Phe Leu Val Leu Pro Ser Leu Leu Ile Leu Leu Leu  
 225                   230                   235                   240  
 Val Ile Ala Ala Gly Gly Val Ile Trp Lys Thr Leu Met Gly Asn Pro  
                  245                   250                   255  
 Trp Phe Gln Arg Ala Lys Met Pro Arg Ala Leu Asp Phe Ser Gly His  
          260                   265                   270  
 Thr His Pro Val Ala Thr Phe Gln Pro Ser Arg Pro Glu Ser Val Asn  
          275                   280                   285  
 Asp Leu Phe Leu Cys Pro Gln Lys Glu Leu Thr Arg Gly Val Arg Pro

```

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

```

<210> 12

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO:1 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<400> 12

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48



Met	Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	His	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	
1				5					10						15	
tgc	cac	ata	gcc	cag	ttc	aag	tcc	ctg	tct	cca	cag	gag	ctg	cag	gcc	96
Cys	His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	
			20					25					30			
ttt	aag	agg	gcc	aaa	gat	gcc	tta	gaa	gag	tcg	ctt	ctg	ctg	aag	gac	144
Phe	Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	
			35				40					45				
tgc	agg	tgc	cac	tcc	cgc	ctc	ttc	ccc	agg	acc	tgg	gac	ctg	agg	cag	192
Cys	Arg	Cys	His	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	
	50					55					60					
ctg	cag	gtg	agg	gag	cgc	ccc	atg	gct	ttg	gag	gct	gag	ctg	gcc	ctg	240
Leu	Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Met	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	
65					70					75					80	
acg	ctg	aag	gtt	ctg	gag	gcc	acc	gct	gac	act	gac	cca	gcc	ctg	gtg	288
Thr	Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Thr	Ala	Asp	Thr	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	
				85					90					95		
gac	gtc	ttg	gac	cag	ccc	ctt	cac	acc	ctg	cac	cat	atc	ctc	tcc	cag	336
Asp	Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	
			100					105					110			
ttc	cgg	gcc	tgt	atc	cag	cct	cag	ccc	acg	gca	ggg	ccc	agg	acc	cgg	384
Phe	Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	
		115					120					125				
ggc	cgc	ctc	cac	cat	tgg	ctg	tac	cgg	ctc	cag	gag	gcc	cca	aaa	aag	432
Gly	Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	
		130				135					140					
gag	tcc	cct	ggc	tgc	ctc	gag	gcc	tct	gtc	acc	ttc	aac	ctc	ttc	cgc	480
Glu	Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	
145					150					155					160	
ctc	ctc	acg	cga	gac	ctg	aat	tgt	ggt	gcc	agt	ggg	gac	ctg	tgt	gtc	528
Leu	Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
				165					170					175		
tga																531

\*

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 176

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SEQ ID NO:1 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

&lt;400&gt; 13

```

Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly
 1           5           10           15
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala
      20           25           30
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
      35           40           45
Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
      50           55           60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
65           70           75           80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val
      85           90           95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
      100          105          110
Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
      115          120          125
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
      130          135          140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
145          150          155          160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
      165          170          175

```

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 621

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SEQ ID NO:3 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (549)

&lt;400&gt; 14

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc 48  
 Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
 1 5 10 15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
 20 25 30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
 35 40 45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
 50 55 60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
 85 90 95

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
 100 105 110

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Lou Thr  
 145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg tgt ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
                   165                  170                  175

acc cac cct gag tcc acc tga cacccacac cttatttatg cgctgagccc 579  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
                   180

tactccttcc ttaatttatt tcctctcacc cttatttat ga 621

<210> 15

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO:3 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

<400> 15

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
 1                  5                  10                  15  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
                   20                  25                  30  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
                   35                  40                  45  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
                   50                  55                  60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65                  70                  75                  80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
                   85                  90                  95  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
                   100                  105                  110  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
                   115                  120                  125  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
                   130                  135                  140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145                  150                  155                  160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
                   165                  170                  175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 16

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO:5 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<400> 16

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
35 40 45

tgc aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
Cys Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240  
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
65 70 75 80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg ggg 288  
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly  
85 90 95

gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
100 105 110

ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg

115	120	125	
ggc cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag			432
Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys			
130	135	140	
gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc			480
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg			
145	150	155	160
ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc			528
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val			
165	170	175	
tga			531
*			

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 176

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; SEQ ID NO:5 的成熟蛋白, 添加了 3' Met

&lt;400&gt; 17

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

Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130 135 140  
 Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
 145 150 155 160  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
 165 170 175

<210> 18  
 <211> 528  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IL-28A 突变体 C48S

<221> CDS  
 <222> (1)... (528)

<400> 18  
 gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc 48  
 Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1 5 10 15  
 cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt 96  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
 20 25 30  
 aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac tcc 144  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Ser  
 35 40 45  
 agg tgc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg 192  
 Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
 50 55 60  
 cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80  
 ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg gtg gac 288  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp  
 85 90 95

gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ttc 336  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe  
                   100                                  105                                  110

cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc 384  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
                   115                                  120                                  125

cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag 432  
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
                   130                                  135                                  140

tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc 480  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
                   145                                  150                                  155                                  160

ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agt ggg gac ctg tgt gtc tga 528  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
                                   165                                  170                                  175

<210> 19

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28A 突变体 C48S

<400> 19

Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
   1                  5                                  10                                  15  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
                   20                                  25                                  30  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Ser  
                   35                                  40                                  45  
 Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
                   50                                  55                                  60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
   65                                  70                                  75                                  80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp  
                   85                                  90                                  95  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe



	100		105		110										
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly
	115		120		125										
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu
	130		135		140										
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu
	145		150		155										160
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
			165		170										175

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 531

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; met IL-28A 突变体 C49S

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (531)

&lt;400&gt; 20

atg	gtt	cct	gtc	gcc	agg	ctc	cac	ggg	gct	ctc	ccg	gat	gca	agg	ggc	48
Met	Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	His	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	
1			5					10						15		
tgc	cac	ata	gcc	cag	ttc	aag	tcc	ctg	tct	cca	cag	gag	ctg	cag	gcc	96
Cys	His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	
			20					25					30			
ttt	aag	agg	gcc	aaa	gat	gcc	tta	gaa	gag	tgg	ctt	ctg	ctg	aag	gac	144
Phe	Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	
			35				40						45			
tcc	agg	tgc	cac	tcc	cgc	ctc	ttc	ccc	agg	acc	tgg	gac	ctg	agg	cag	192
Ser	Arg	Cys	His	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	
	50					55					60					
ctg	cag	gtg	agg	gag	cgc	ccc	atg	gct	ttg	gag	gct	gag	ctg	gcc	ctg	240
Leu	Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Met	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	
	65				70					75				80		
acg	ctg	aag	gtt	ctg	gag	gcc	acc	gct	gac	act	gac	cca	gcc	ctg	gtg	288

---

Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val  
                           85                          90                          95  
  
 gac gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
 Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
                           100                          105                          110  
  
 ttc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
 Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
                           115                          120                          125  
  
 ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
                           130                          135                          140  
  
 gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480  
 Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
                           145                          150                          155                          160  
  
 ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agt ggg gac ctg tgt gtc 528  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
                           165                          170                          175  
  
 tga 531  
 \*

<210> 21

<211> 176

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-28A 突变体 C49S

<400> 21

Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
   1                          5                          10                          15  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
                           20                          25                          30  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
                           35                          40                          45  
 Ser Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln

50                      55                      60  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65                      70                      75                      80  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val  
 85                      90                      95  
 Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
 100                      105                      110  
 Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
 115                      120                      125  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130                      135                      140  
 Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
 145                      150                      155                      160  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
 165                      170                      175

<210> 22

<211> 528

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28A 突变体 C50S

<221> CDS

<222> (1)... (528)

<400> 22

gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc    48  
 Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1                      5                      10                      15

cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt    96  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
 20                      25                      30

aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tgc ctt ctg ctg aag gac tgc    144  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
 35                      40                      45

agg tcc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg    192  
 Arg Ser His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
 50                      55                      60

cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80

ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg gtg gac 288  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp  
 85 90 95

gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ttc 336  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe  
 100 105 110

cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc 384  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
 115 120 125

cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag 432  
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
 130 135 140

tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc 480  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
 145 150 155 160

ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agt ggg gac ctg tgt gtc tga 528  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
 165 170 175

<210> 23

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28A 突变体 C50S

<400> 23

Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1 5 10 15  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
 20 25 30

Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
           35                                  40                                  45  
 Arg Ser His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
           50                                  55                                  60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
           65                                  70                                  75                                  80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp  
                                   85                                  90                                  95  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe  
                                   100                                  105                                  110  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
           115                                  120                                  125  
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
           130                                  135                                  140  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
           145                                  150                                  155                                  160  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
                                   165                                  170                                  175

<210> 24

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-28A 突变体 C51S

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<400> 24

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
   1                                  5                                  10                                  15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
                                   20                                  25                                  30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
           35                                  40                                  45

tgc agg tcc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag	192
Cys Arg Ser His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln	
50 55 60	
ctg cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg	240
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu	
65 70 75 80	
acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg gtg	288
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val	
85 90 95	
gac gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag	336
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln	
100 105 110	
ttc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg	384
Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg	
115 120 125	
ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag	432
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys	
130 135 140	
gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc	480
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg	
145 150 155 160	
ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agt ggg gac ctg tgt gtc	528
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val	
165 170 175	
tga	531
*	

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 176

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; met IL-28A 突变体 C51S

&lt;400&gt; 25

```

Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly
 1           5           10           15
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala
           20           25           30
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
           35           40           45
Cys Arg Ser His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
           50           55           60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
65           70           75           80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val
           85           90           95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
           100          105          110
Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
           115          120          125
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
           130          135          140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
145          150          155          160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
           165          170          175

```

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 546

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL-29 突变体 C171S

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (546)

&lt;400&gt; 26

```

ggt ccg gtt ccg acc tct aaa cca acc acc act ggt aaa ggt tgc cac   48
Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His
 1           5           10           15

atc ggt cgt ttc aaa tct ctg tct ccg cag gaa ctg gct tct ttc aaa   96
Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys

```

20	25	30	
aaa gct cgt gac gct ctg gaa gaa tct ctg aaa ctg aaa aac tgg tct			144
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser			
35	40	45	
tgc tct tct ccg gtt ttc ccg ggt aac tgg gat ctg cgt ctg ctg cag			192
Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln			
50	55	60	
gtt cgt gaa cgt ccg gtt gct ctg gaa gct gaa ctg gct ctg acc ctg			240
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu			
65	70	75	80
aaa gtt ctg gaa gct gct gca ggt cct gct ctg gaa gat gtt ctg gat			288
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp			
85	90	95	
cag ccg ctg cac act ctg cac cac atc ctg tct cag ctg cag gct tgc			336
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys			
100	105	110	
att caa ccg caa ccg acc gct ggt ccg cgt ccg cgt ggt cgt ctg cac			384
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His			
115	120	125	
cac tgg ctg cat cgt ctg cag gaa gct ccg aaa aaa gaa tct gct ggt			432
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly			
130	135	140	
tgc ctg gaa gct tct gtt acc ttc aac ctg ttc cgt ctg ctg acc cgt			480
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg			
145	150	155	160
gat ctg aaa tac gtt gct gat ggt aac ctg tct ctg cgt acc tct acc			528
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Ser Leu Arg Thr Ser Thr			
165	170	175	
cat ccg gaa tct acc taa			546
His Pro Glu Ser Thr *			
180			

&lt;210&gt; 27



<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 突变体 C171S

<400> 27

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1                    5                    10                    15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                   20                    25                    30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                   35                    40                    45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                   50                    55                    60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                   85                    90                    95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                   100                    105                    110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
                   115                    120                    125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
                   130                    135                    140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145                    150                    155                    160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Ser Leu Arg Thr Ser Thr  
                   165                    170                    175  
 His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 28

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-29 突变体 C172S

<221> CDS

<222> (1)... (549)

&lt;400&gt; 28

atg ggt ccg gtt ccg acc tct aaa cca acc acc act ggt aaa ggt tgc	48
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys	
1                                5                                10                                15	
cac atc ggt cgt ttc aaa tct ctg tct ccg cag gaa ctg gct tct ttc	96
His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe	
20                                25                                30	
aaa aaa gct cgt gac gct ctg gaa gaa tct ctg aaa ctg aaa aac tgg	144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp	
35                                40                                45	
tct tgc tct tct ccg gtt ttc ccg ggt aac tgg gat ctg cgt ctg ctg	192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu	
50                                55                                60	
cag gtt cgt gaa cgt ccg gtt gct ctg gaa gct gaa ctg gct ctg acc	240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr	
65                                70                                75                                80	
ctg aaa gtt ctg gaa gct gct gca ggt cct gct ctg gaa gat gtt ctg	288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu	
85                                90                                95	
gat cag ccg ctg cac act ctg cac cac atc ctg tct cag ctg cag gct	336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala	
100                                105                                110	
tgc att caa ccg caa ccg acc gct ggt ccg cgt ccg cgt ggt cgt ctg	384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu	
115                                120                                125	
cac cac tgg ctg cat cgt ctg cag gaa gct ccg aaa aaa gaa tct gct	432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala	
130                                135                                140	
ggt tgc ctg gaa gct tct gtt acc ttc aac ctg ttc cgt ctg ctg acc	480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr	
145                                150                                155                                160	
cgt gat ctg aaa tac gtt gct gat ggt aac ctg tct ctg cgt acc tct	528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Ser Leu Arg Thr Ser	

165 170 175  
 acc cat ccg gaa tct acc taa 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 29

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-29 突变体 C172S

<400> 29

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
 1 5 10 15  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
 20 25 30  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
 35 40 45  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
 50 55 60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
 85 90 95  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
 100 105 110  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Ser Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr  
 180

<210> 30

<211> 525

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 18 的简并序列

<221> misc\_feature

<222> (1)... (525)

<223> n = A, T, C 或 G

<400> 30

```
gtncngtng cnmgnytnca yggngcnytn ccngaygcnm gnggntgyca yathgencar 60
ttyaarwsny tnwsncnca rgarytnear gcnttyaarm gngcnaarga ygcnytngar 120
garwsnytny tnytnaarga ywsnmngtgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180
ytnmgncary tncargtnmg ngarmgnccn atggcnytn g argcngaryt ngcnytnacn 240
ytnaargtny tngargcnac ngcngayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300
ccnytncaya cnytnca yca yathytnwsn carttymgng cntgyathca rccncarecn 360
acngcnggnc cnmgnacnmg nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420
ccnaaraarg arwsncngg ntgyytngar gcwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480
ytnacnmgng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytn gygtn 525
```

<210> 31

<211> 525

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 20 的简并序列

<221> misc\_feature

<222> (1)... (525)

<223> n = A, T, C 或 G

<400> 31

```
gtncngtng cnmgnytnca yggngcnytn ccngaygcnm gnggntgyca yathgencar 60
ttyaarwsny tnwsncnca rgarytnear gcnttyaarm gngcnaarga ygcnytngar 120
garwsnytny tnytnaarga ywsnmngtgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180
ytnmgncary tncargtnmg ngarmgnccn atggcnytn g argcngaryt ngcnytnacn 240
ytnaargtny tngargcnac ngcngayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300
ccnytncaya cnytnca yca yathytnwsn carttymgng cntgyathca rccncarecn 360
acngcnggnc cnmgnacnmg nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420
ccnaaraarg arwsncngg ntgyytngar gcwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480
ytnacnmgng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytn gygtn 525
```

<210> 32  
 <211> 525  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> SEQ ID NO: 22 的简并序列

<221> misc\_feature  
 <222> (1)... (525)  
 <223> n = A, T, C 或 G

<400> 32  
 gtncngtng cnmgnytncayggngcnytn ccngaycncm gnggntgyca yathgcncar 60  
 ttyaarwsny tnwsncnca rgarytnear genttyaarm gngcnaarga ygcnytngrar 120  
 garwsnytny tnytnaarga ywsnmgntgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180  
 ytnmgncary tncargtnmg ngarmgncn atggcnytnrg argcngaryt ngcnytnacn 240  
 ytnaargtny tngargcnac ngcngayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300  
 ccnytncaaya cnytncaaya yathytnwsn carttymgng cntgyathca recncarcn 360  
 acngcnggnc cnmgnacnmg nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420  
 ccnaaraarg arwsncnng ntgyytngrar gcnwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480  
 ytnacnmgng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytn gygtn 525

<210> 33  
 <211> 525  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> SEQ ID NO: 24 的简并序列

<221> misc\_feature  
 <222> (1)... (525)  
 <223> n = A, T, C 或 G

<400> 33  
 gtncngtng cnmgnytncayggngcnytn ccngaycncm gnggntgyca yathgcncar 60  
 ttyaarwsny tnwsncnca rgarytnear genttyaarm gngcnaarga ygcnytngrar 120  
 garwsnytny tnytnaarga ywsnmgntgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180  
 ytnmgncary tncargtnmg ngarmgncn atggcnytnrg argcngaryt ngcnytnacn 240  
 ytnaargtny tngargcnac ngcngayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300  
 ccnytncaaya cnytncaaya yathytnwsn carttymgng cntgyathca recncarcn 360  
 acngcnggnc cnmgnacnmg nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420  
 ccnaaraarg arwsncnng ntgyytngrar gcnwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480

ytnacnmng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytnt gygtn 525

<210> 34

<211> 525

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 26 的简并序列

<221> misc\_feature

<222> (1)... (525)

<223> n = A, T, C 或 G

<400> 34

gtncngtng cnmgnytnca yggngcnytn ccngaygcnm gnggntgyca yathgcnear 60  
 ttyaarwsny tnwsnccnca rgarytnear genttyaarm gngcnaarga ygcnytnear 120  
 garwsnytny tnytnaarga ywsnmgntgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180  
 ytnmgncary tncargtnmg ngarmgnccn atggcnytn gngcngaryt ngcnytnacn 240  
 ytnaargtny tngargcnac ngengayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300  
 ccnytncaya cnytnca yathytwnsn carttymgng cntgyathca rccncarccn 360  
 acngcnggnc cnmgnacnm nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420  
 ccnaaraarg arwsnccngg ntgyytngar gnwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480  
 ytnacnmng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytnt gygtn 525

<210> 35

<211> 525

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> SEQ ID NO: 28 的简并序列

<221> misc\_feature

<222> (1)... (525)

<223> n = A, T, C 或 G

<400> 35

gtncngtng cnmgnytnca yggngcnytn ccngaygcnm gnggntgyca yathgcnear 60  
 ttyaarwsny tnwsnccnca rgarytnear genttyaarm gngcnaarga ygcnytnear 120  
 garwsnytny tnytnaarga ywsnmgntgy caywsnmgny tnttyccnmg nacntgggay 180  
 ytnmgncary tncargtnmg ngarmgnccn atggcnytn gngcngaryt ngcnytnacn 240  
 ytnaargtny tngargcnac ngengayacn gayccngcny tngtngaygt nytngaycar 300  
 ccnytncaya cnytnca yathytwnsn carttymgng cntgyathca rccncarccn 360

acngcnggnc cnmgnacnmg nggnmgnytn caycaytggy tntaymgnyt ncargargcn 420  
 ccnaaraarg arwsncngg ntgytngar genwsngtna cnttyaayt nttymgnytn 480  
 ytnacnmng ayytnaaytg ygtngcnwsn ggngayytn gygtn 525

<210> 36

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28A 突变体 C48X

<221> VARIANT

<222> (48)... (48)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

<400> 36

Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	His	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Cys
1				5					10					15	
His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	Phe
			20						25					30	
Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Xaa
			35						40					45	
Arg	Cys	His	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu
			50						55					60	
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Met	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr
			65						70					75	
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Thr	Ala	Asp	Thr	Asp	Pro	Ala	Leu	Val	Asp
									85					90	
Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Phe
			100						105					110	
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly
			115						120					125	
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu
									130					135	
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu
									140					145	
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
									150					155	
									160					165	
									170					175	

<210> 37

<211> 176

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-28A 突变体 C49X

<221> VARIANT

<222> (49)... (49)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

<400> 37

```

Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly
 1           5           10          15
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala
           20           25          30
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
           35           40          45
Xaa Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
           50           55          60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
65           70           75          80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val
           85           90          95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
           100          105          110
Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
           115          120          125
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
           130          135          140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
145          150          155          160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
           165          170          175

```

<210> 38

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28A 突变体 C50X

<221> VARIANT

<222> (50)... (50)



<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

<400> 38

Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1                    5                    10                    15  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
                   20                    25                    30  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
                   35                    40                    45  
 Arg Xaa His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
                   50                    55                    60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp  
                   85                    90                    95  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe  
                   100                    105                    110  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
                   115                    120                    125  
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
                   130                    135                    140  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
 145                    150                    155                    160  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
                   165                    170                    175

<210> 39

<211> 176

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> met IL-28A 突变体 C51X

<221> VARIANT

<222> (51)...(51)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

<400> 39

Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
                   20                    25                    30

```

Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
   35                               40                               45
Cys Arg Xaa His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
   50                               55                               60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
  65                               70                               75                               80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val
                               85                               90                               95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
                               100                              105                              110
Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
                               115                              120                              125
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
                               130                              135                              140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
  145                               150                               155                               160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
                               165                              170                              175

```

<210> 40

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 突变体 C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

<400> 40

```

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

```

---

85	90	95
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys		
100	105	110
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His		
115	120	125
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly		
130	135	140
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg		
145	150	155
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr		
165	170	175
His Pro Glu Ser Thr		
180		

&lt;210&gt; 41

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; met IL-29 突变体 C172X

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (172)... (172)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val 或 Asn

&lt;400&gt; 41

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

His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr  
 180

<210> 42

<211> 49

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC40923

<400> 42

tccaggaat tcatataggc cggccacat gaaactagac atgactggg

49

<210> 43

<211> 74

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC43152

<400> 43

ggggtgggta caacccaga gctgttttaa ggcgcgcctc tagactattt ttagacacac 60  
 aggtccccac tggc 74

<210> 44

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC29740

<400> 44

ttgacaatta atcatcggct cgtataatgt gtggaattgt gagcggataa

50

- 
- <210> 45  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC29741
- <400> 45  
 tctgatttaa tctgtatcag gctgaaaatc ttatctcatc cg 42
- <210> 46  
 <211> 62  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC29736
- <400> 46  
 gtggaattgt gagcggataa caatttcaca cagaattcat taaagaggag aaattaactc 60  
 cc 62
- <210> 47  
 <211> 63  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC29738
- <400> 47  
 gctgaaaatc ttatctcatc cgccaaaaca cccgggagtt aatttctcct cttaaatgaa 60  
 ttc 63
- <210> 48  
 <211> 78  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44566
- <400> 48

---

tcttccagag cgtcacgagc ttttttgaag gaagccagtt cctgcggaga cagagatttg 60  
aaacgaccga tgtggcaa 78

<210> 49  
<211> 84  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡核苷酸引物 ZC44565

<400> 49  
tcgtgacgct ctggaagaat ctctgaaact gaaaaactgg tcttgctctt ctccggtttt 60  
cccgggtaac tgggatctgc gtct 84

<210> 50  
<211> 71  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡核苷酸引物 ZC44564

<400> 50  
aacagaagct tccaggcaac cagcagattc ttttttcgga gcttcctgca gacgatgcag 60  
ccagtgggtgc a 71

<210> 51  
<211> 73  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 寡核苷酸引物 ZC44563

<400> 51  
aactggctct gaccctgaaa gttctggaag ctgctgcagg tcctgctctg gaagatgttc 60  
tggatcagcc gct 73

<210> 52  
<211> 74  
<212> DNA  
<213> 人工序列

---

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC44562

<400> 52

tcagggtcag agccagtca gcttcagag caaccggacg ttcacgaacc tgcagcagac 60  
gcagatccca gtta 74

<210> 53

<211> 76

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC44561

<400> 53

tcagctgcag gcttgattc aaccgcaacc gaccgtggt ccgctccgc gtggctctct 60  
gcaccactgg ctgcat 76

<210> 54

<211> 60

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC44560

<400> 54

atgcaagcct gcagctgaga caggatgtgg tgcagagtgt gcagcggctg atccagaaca 60

<210> 55

<211> 62

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC44559

<400> 55

atgggtccgg ttcgacctc taaaccaacc accactggta aaggttgcca catcgtctgt 60  
tt 62

<210> 56

- 
- <211> 65  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44558
- <400> 56  
 ttaggtagat tccggatggg tagaggtacg caggcacagg ttaccatcag caacgtattt 60  
 cagat 65
- <210> 57  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44557
- <400> 57  
 tgcctggaag cttctgttac ctcaacctg ttccgtctgc tgaccctga tctgaaatac 60  
 gttgctgat 69
- <210> 58  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44340
- <400> 58  
 cgttgctgat ggtaacctgt ctctgcgtac ctctacccat c 41
- <210> 59  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列
- <220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44341
- <400> 59  
 gatgggtaga ggtacgcaga gacaggttac catcagcaac g 41



<210> 60

<211> 68

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC41212

<400> 60

ctagaaataa ttttgtttaa ctttaagaag gagatatata tatgggcct gtcgccactt 60  
ccaagccc 68

<210> 61

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC41041

<400> 61

tctgtatcag gctgaaaatc ttatctcatc cgccaaaaca ttaggtggac tcagggtggg 60  
ttgacgt 67

<210> 62

<211> 65

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC43431

<400> 62

ctagaaataa ttttgtttaa ctttaagaag gagatatata tatggttctt gtcgccaggc 60  
tccac 65

<210> 63

<211> 67

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 寡核苷酸引物 ZC43437

<400> 63  
 taatctgtat caggctgaaa atcttatctc atccgcaaaa acatcagaca cacaggtccc 60  
 cactggc 67

<210> 64  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44327

<400> 64  
 gtggccgatg ggaacctgtc cctgagaacg tcaaccac 39

<210> 65  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC44328

<400> 65  
 gtgggttgac gttctcaggg acaggttccc atcgccac 39

<210> 66  
 <211> 83  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC45399

<400> 66  
 tcaggtccca ggtcctgggg aagaggcggg agtggcacct ggagtccttc agcagaagcg 60  
 actcttctaa ggcattttg gcc 83

<210> 67  
 <211> 531  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 来自 pYEL7b 的成熟 zcyto20

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (531)

&lt;400&gt; 67

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cac ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
 20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
 35 40 45

tgc agg tgc cac tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
 Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
 50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc atg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65 70 75 80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg gtg 288  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val  
 85 90 95

gac gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
 Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
 100 105 110

ttc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
 Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
 115 120 125

ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130 135 140

gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480

Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg	
145	150
	155
	160
ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agt ggg gac ctg tgt gtc	528
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val	
	165
	170
	175
tga	531
*	

<210> 68  
 <211> 83  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC45398

<400> 68  
 ggccaaagat gccttagaag agtcgcttct gctgaaggac tccaggtgcc actcccgcct 60  
 ctccccagg acctgggacc tga 83

<210> 69  
 <211> 83  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC45397

<400> 69  
 gctgcctcag gtcccaggtc ctggggaaga ggcgggagtg ggacctgcag tccttcagca 60  
 gaagcgactc ttctaaggca tct 83

<210> 70  
 <211> 83  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 寡核苷酸引物 ZC45396

&lt;400&gt; 70

agatgcctta gaagagtcgc ttctgctgaa ggactgcagg tcccactccc gcctcttccc 60  
caggacctgg gacctgaggc agc 83

&lt;210&gt; 71

&lt;211&gt; 1013

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 智人

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (14)... (991)

&lt;400&gt; 71

ccagcgtccg tcc atg gcg tgg agc ctt ggg agc tgg ctg ggt ggc tgc 49  
Met Ala Trp Ser Leu Gly Ser Trp Leu Gly Gly Cys  
1 5 10

ctg ctg gtg tca gca ttg gga atg gta cca cct ccc gaa aat gtc aga 97  
Leu Leu Val Ser Ala Leu Gly Met Val Pro Pro Pro Glu Asn Val Arg  
15 20 25

atg aat tct gtt aat ttc aag aac att cta cag tgg gag tca cct gct 145  
Met Asn Ser Val Asn Phe Lys Asn Ile Leu Gln Trp Glu Ser Pro Ala  
30 35 40

ttt gcc aaa ggg aac ctg act ttc aca gct cag tac cta agt tat agg 193  
Phe Ala Lys Gly Asn Leu Thr Phe Thr Ala Gln Tyr Leu Ser Tyr Arg  
45 50 55 60

ata ttc caa gat aaa tgc atg aat act acc ttg acg gaa tgt gat ttc 241  
Ile Phe Gln Asp Lys Cys Met Asn Thr Thr Leu Thr Glu Cys Asp Phe  
65 70 75

tca agt ctt tcc aag tat ggt gac cac acc ttg aga gtc agg gct gaa 289  
Ser Ser Leu Ser Lys Tyr Gly Asp His Thr Leu Arg Val Arg Ala Glu  
80 85 90

ttt gca gat gag cat tca gac tgg gta aac atc acc ttc tgt cct gtg 337  
Phe Ala Asp Glu His Ser Asp Trp Val Asn Ile Thr Phe Cys Pro Val  
95 100 105

gat gac acc att att gga ccc cct gga atg caa gta gaa gta ctt gct 385  
Asp Asp Thr Ile Ile Gly Pro Pro Gly Met Gln Val Glu Val Leu Ala

110	115	120	
gat tct tta cat atg cgt ttc tta gcc cct aaa att gag aat gaa tac			433
Asp Ser Leu His Met Arg Phe Leu Ala Pro Lys Ile Glu Asn Glu Tyr			
125	130	135	140
gaa act tgg act atg aag aat gtg tat aac tca tgg act tat aat gtg			481
Glu Thr Trp Thr Met Lys Asn Val Tyr Asn Ser Trp Thr Tyr Asn Val			
	145	150	155
caa tac tgg aaa aac ggt act gat gaa aag ttt caa att act ccc cag			529
Gln Tyr Trp Lys Asn Gly Thr Asp Glu Lys Phe Gln Ile Thr Pro Gln			
	160	165	170
tat gac ttt gag gtc ctc aga aac ctg gag cca tgg aca act tat tgt			577
Tyr Asp Phe Glu Val Leu Arg Asn Leu Glu Pro Trp Thr Thr Tyr Cys			
	175	180	185
gtt caa gtt cga ggg ttt ctt cct gat cgg aac aaa gct ggg gaa tgg			625
Val Gln Val Arg Gly Phe Leu Pro Asp Arg Asn Lys Ala Gly Glu Trp			
	190	195	200
agt gag cct gtc tgt gag caa aca acc cat gac gaa acg gtc ccc tcc			673
Ser Glu Pro Val Cys Glu Gln Thr Thr His Asp Glu Thr Val Pro Ser			
205	210	215	220
tgg atg gtg gcc gtc atc ctc atg gcc tcg gtc ttc atg gtc tgc ctg			721
Trp Met Val Ala Val Ile Leu Met Ala Ser Val Phe Met Val Cys Leu			
	225	230	235
gca ctc ctc ggc tgc ttc tcc ttg ctg tgg tgc gtt tac aag aag aca			769
Ala Leu Leu Gly Cys Phe Ser Leu Leu Trp Cys Val Tyr Lys Lys Thr			
	240	245	250
aag tac gcc ttc tcc cct agg aat tct ctt cca cag cac ctg aaa gag			817
Lys Tyr Ala Phe Ser Pro Arg Asn Ser Leu Pro Gln His Leu Lys Glu			
	255	260	265
ttt ttg ggc cat cct cat cat aac aca ctt ctg ttt ttc tcc ttt cca			865
Phe Leu Gly His Pro His His Asn Thr Leu Leu Phe Phe Ser Phe Pro			
	270	275	280
ttg tcg gat gag aat gat gtt ttt gac aag cta agt gtc att gca gaa			913
Leu Ser Asp Glu Asn Asp Val Phe Asp Lys Leu Ser Val Ile Ala Glu			

---

285	290	295	300	
gac tct gag agc ggc aag cag aat cct ggt gac agc tgc agc ctc ggg				961
Asp Ser Glu Ser Gly Lys Gln Asn Pro Gly Asp Ser Cys Ser Leu Gly				
	305	310	315	
acc ccg cct ggg cag ggg ccc caa agc tag gctctgagaa ggaaacacac				1011
Thr Pro Pro Gly Gln Gly Pro Gln Ser *				
	320	325		
tc				1013
<210> 72				
<211> 49				
<212> DNA				
<213> 人工序列				
<220>				
<223> 寡核苷酸引物 ZC40922				
<400> 72				
tccaggaat tcatataggc cggccaccat ggctgcagct tggaccgtg				49
<210> 73				
<211> 71				
<212> DNA				
<213> 人工序列				
<220>				
<223> 寡核苷酸引物 ZC43153				
<400> 73				
ggggtgggta caacccaga gctgttttaa ggcgcgcctc tagactatit ttaggtggac				60
tcagggtggg t				71
<210> 74				
<211> 546				
<212> DNA				
<213> 人工序列				
<220>				
<223> IL29 突变体 C15X, Asn169				
<221> CDS				

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> (44)... (45)

<223> n = A, G, T, 或 C

<400> 74

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn cac 48  
Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His  
1 5 10 15

att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96  
Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
20 25 30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144  
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
35 40 45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192  
Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
50 55 60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240  
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
65 70 75 80

aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac 288  
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
85 90 95

cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336  
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
100 105 110

atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384  
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
115 120 125

cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432  
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
130 135 140

tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480



Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160

gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aay ctg tgt ctg aga acg tca acc 528  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175

cac cct gag tcc acc tga 546  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 75

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> IL29 突变体 C15X, Asn169

<400> 75

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His  
 1 5 10 15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
 20 25 30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
 35 40 45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
 50 55 60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
 85 90 95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
 100 105 110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
 115 120 125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg

---

145                                  150                                  155                                  160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
    165                                  170                                  175  
 His Pro Glu Ser Thr  
    180

<210> 76

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 C16X, Asn170

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> (47)... (48)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 76

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn 48  
 Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa  
 1                                  5                                  10                                  15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
    20                                  25                                  30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
    35                                  40                                  45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
    50                                  55                                  60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65                                  70                                  75                                  80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288

---

Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
 85 90 95

gac cag ecc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
 100 105 110

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aay ctg tgt ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 77

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> Met IL29 突变体 C16X, Asn170

<400> 77

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa  
 1 5 10 15  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe

	20		25		30														
Lys	Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp				
	35						40				45								
Ser	Cys	Ser	Ser	Pro	Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Arg	Leu	Leu				
	50					55					60								
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr				
65					70				75					80					
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Val	Leu				
				85					90					95					
Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala				
			100					105						110					
Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu				
	115						120						125						
His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala				
	130					135						140							
Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr				
145					150					155				160					
Arg	Asp	Leu	Lys	Tyr	Val	Ala	Asp	Gly	Asn	Leu	Cys	Leu	Arg	Thr	Ser				
				165					170					175					
Thr	His	Pro	Glu	Ser	Thr														
			180																

<210> 78

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 C15X, Asp169

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> (44)... (45)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 78

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn cac 48

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His

1 5 10 15

att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96

Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys	
20 25 30	
aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt	144
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser	
35 40 45	
tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag	192
Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln	
50 55 60	
gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg	240
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu	
65 70 75 80	
aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac	288
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp	
85 90 95	
cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt	336
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys	
100 105 110	
atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac	384
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His	
115 120 125	
cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc	432
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly	
130 135 140	
tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga	480
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg	
145 150 155 160	
gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg tgt ctg aga acg tca acc	528
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr	
165 170 175	
cac cct gag tcc acc tga	546
His Pro Glu Ser Thr *	
180	

<210> 79

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 C15X, Asp169

<221> VARIANT

<222> (15)... (15)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 79

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His  
 1                   5                   10                   15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                   20                   25                   30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                   35                   40                   45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                   50                   55                   60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65                   70                   75                   80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                   85                   90                   95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                   100                   105                   110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
                   115                   120                   125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
                   130                   135                   140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145                   150                   155                   160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
                   165                   170                   175  
 His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 80

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL29 突变体 C16X, Asp170

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (549)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (47)... (48)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 80

```
atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn 48
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa
1           5           10           15
```

```
cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96
His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe
           20           25           30
```

```
aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp
           35           40           45
```

```
agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu
           50           55           60
```

```
cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr
           65           70           75           80
```

```
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu
           85           90           95
```

```
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala
           100           105           110
```

```
tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu
           115           120           125
```

```
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432
```

His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg tgt ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 81

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 C16X, Asp170

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 81

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



---

115                      120                      125  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130                      135                      140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145                      150                      155                      160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
                             165                      170                      175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr  
                             180

<210> 82

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 Asp169, C171X

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> (512)... (513)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 82

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac 48  
 Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1                      5                      10                      15

att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                             20                      25                      30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                             35                      40                      45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                             50                      55                      60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240

---

Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu 65	70	75	80	
aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp	85	90	95	288
cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys	100	105	110	336
atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His	115	120	125	384
cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly	130	135	140	432
tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg	145	150	155	480
gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca acc Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr	165	170	175	528
cac cct gag tcc acc tga His Pro Glu Ser Thr *	180			546

<210> 83

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 Asp169, C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 83

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1                   5                   10                   15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                   20                   25                   30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                   35                   40                   45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                   50                   55                   60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65                   70                   75                   80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                   85                   90                   95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                   100                   105                   110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
                   115                   120                   125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
                   130                   135                   140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145                   150                   155                   160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
                   165                   170                   175  
 His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 84

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 Asp170, C172X

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> (515)... (516)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 84

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc 48

Met	Gly	Pro	Val	Pro	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	Thr	Thr	Gly	Lys	Gly	Cys	
1				5					10						15	
cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc																96
His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe																
			20					25						30		
aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg																144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp																
		35					40					45				
agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc																192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu																
	50					55					60					
cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg																240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr																
	65				70					75					80	
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta																288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu																
			85					90						95		
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc																336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala																
		100						105						110		
tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc																384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu																
	115						120						125			
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct																432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala																
	130					135								140		
ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg																480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr																
	145				150					155					160	
cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca																528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser																
			165					170						175		
acc cac cct gag tcc acc tga																549

Thr His Pro Glu Ser Thr \*

180

<210> 85

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 Asp170, C172X

<221> VARIANT

<222> (172)... (172)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 85

```

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

```

<210> 86

<211> 546  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IL29 突变体 T10P, Asn169, C171X

<221> CDS  
 <222> (1)... (546)

<221> variation  
 <222> (512)... (513)  
 <223> n = A, T, G, 或 C

<400> 86  
 ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc tgc cac 48  
 Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1 5 10 15

att ggc agg ttc aaa tet ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
 20 25 30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
 35 40 45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
 50 55 60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65 70 75 80

aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac 288  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
 85 90 95

cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
 100 105 110

atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384

Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
 115 120 125

cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140

tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160

gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc 528  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175

cac cct gag tcc acc tga 546  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 87

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 T10P, Asn169, C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 87

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

	85		90		95										
Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala	Cys
	100							105					110		
Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	His
	115							120					125		
His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly
	130							135					140		
Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr	Arg
145					150					155					160
Asp	Leu	Lys	Tyr	Val	Ala	Asp	Gly	Asn	Leu	Xaa	Leu	Arg	Thr	Ser	Thr
				165					170						175
His	Pro	Glu	Ser	Thr											
				180											

<210> 88

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, Asn170, C172X

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> (515)... (516)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 88

atg	ggc	cct	gtc	ccc	act	tcc	aag	ccc	acc	ccn	act	ggg	aag	ggc	tgc	48
Met	Gly	Pro	Val	Pro	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	Pro	Thr	Gly	Lys	Gly	Cys	
1			5						10					15		

cac	att	ggc	agg	ttc	aaa	tct	ctg	tca	cca	cag	gag	cta	gcg	agc	ttc	96
His	Ile	Gly	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Ala	Ser	Phe	
			20						25					30		

aag	aag	gcc	agg	gac	gcc	ttg	gaa	gag	tca	ctc	aag	ctg	aaa	aac	tgg	144
Lys	Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp	
		35						40					45			

agt	tgc	agc	tct	cct	gtc	ttc	ccc	ggg	aat	tgg	gac	ctg	agg	ctt	ctc	192
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----



---

Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
50 55 60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
65 70 75 80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288  
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
85 90 95

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336  
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
100 105 110

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384  
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
115 120 125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432  
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca 528  
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
180

&lt;210&gt; 89

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL29 突变体 T11P, Asn170, C172X

<221> VARIANT

<222> (172)... (172)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 89

```

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

```

<210> 90

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 T10P, C15X, Asn169

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> 30, 44, 45

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 90

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc dnn cac	48
Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa His	
1 5 10 15	
att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag	96
Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys	
20 25 30	
aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt	144
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser	
35 40 45	
tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag	192
Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln	
50 55 60	
gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg	240
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu	
65 70 75 80	
aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac	288
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp	
85 90 95	
cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt	336
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys	
100 105 110	
atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac	384
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His	
115 120 125	
cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc	432
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly	
130 135 140	
tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga	480
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg	
145 150 155 160	
gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aay ctg tgt ctg aga acg tca acc	528

Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175

cac cct gag tcc acc tga  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

546

<210> 91  
 <211> 181  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IL29 突变体 T10P, C15X, Asn169

<221> VARIANT  
 <222> (15)... (15)  
 <223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 91  
 Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa His  
 1 5 10 15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
 20 25 30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
 35 40 45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
 50 55 60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
 85 90 95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
 100 105 110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
 115 120 125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175  
 His Pro Glu Ser Thr

180

&lt;210&gt; 92

&lt;211&gt; 549

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL29 突变体 T11P, C16X, Asn170

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (549)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; 33, 47, 48

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 92

```

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc dnn 48
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa
  1             5             10             15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96
His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe
             20             25             30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp
             35             40             45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu
             50             55             60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr
             65             70             75             80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu
             85             90             95

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336

```

Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
                   100                  105                  110  
 tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
                   115                  120                  125  
 cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
                   130                  135                  140  
 ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
                   145                  150                  155                  160  
 cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aay ctg tgt ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
                   165                  170                  175  
 acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
                   180

<210> 93

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, C16X, Asn170

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 93

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa  
 1                  5                  10                  15  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
                   20                  25                  30  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
                   35                  40                  45  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu

---

```

      50              55              60
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr
65              70              75              80
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu
      85              90              95
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala
      100             105             110
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu
      115             120             125
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala
      130             135             140
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr
      145             150             155             160
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser
      165             170             175
Thr His Pro Glu Ser Thr
      180

```

<210> 94

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 T10P, Asp169, C171X

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> 30, 512, 513

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 94

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc tgc cac 48

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Cys His

1

5

10

15

att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96

Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys

20

25

30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144

Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
           35                          40                          45  
  
 tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
           50                          55                          60  
  
 gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
           65                          70                          75                          80  
  
 aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac 288  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                           85                          90                          95  
  
 cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                           100                          105                          110  
  
 atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
           115                          120                          125  
  
 cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
           130                          135                          140  
  
 tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
           145                          150                          155                          160  
  
 gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca acc 528  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
                           165                          170                          175  
  
 cac cct gag tcc acc tga 546  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
           180

&lt;210&gt; 95

&lt;211&gt; 181

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列



<220>

<223> IL29 突变体 T10P, Asp169, C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 95

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1                    5                    10                    15  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                   20                    25                    30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                   35                    40                    45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                   50                    55                    60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                   85                    90                    95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                   100                    105                    110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
                   115                    120                    125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
                   130                    135                    140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145                    150                    155                    160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
                   165                    170                    175  
 His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 96

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, Asp170, C172X

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> 33, 515, 516

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 96

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc tgc 48  
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Cys  
1 5 10 15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96  
His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
20 25 30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144  
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
35 40 45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192  
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
50 55 60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
65 70 75 80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288  
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
85 90 95

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336  
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
100 105 110

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384  
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
115 120 125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc get 432  
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480

Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 97

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, Asp170, C172X

<221> VARIANT

<222> (172)... (172)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 97

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Cys  
 1 5 10 15  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
 20 25 30  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
 35 40 45  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
 50 55 60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
 85 90 95  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
 100 105 110  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr

---

145                      150                      155                      160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
                                  165                      170                      175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr  
                                  180

<210> 98

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 T10P, C15X, Asp169

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> 30, 44, 45

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 98

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc dnn cac    48  
 Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa His  
   1                      5                      10                      15

att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag    96  
 Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                                  20                      25                      30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt    144  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                                  35                      40                      45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag    192  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                                  50                      55                      60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg    240  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
   65                      70                      75                      80

aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac    288

---

Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
85 90 95

cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336  
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
100 105 110

atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384  
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
115 120 125

cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432  
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
130 135 140

tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480  
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
145 150 155 160

gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg tgt ctg aga acg tca acc 528  
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
165 170 175

cac cct gag tcc acc tga 546  
His Pro Glu Ser Thr \*  
180

<210> 99

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 T10P, C15X, Asp169

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 99

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa His  
1 5 10 15  
Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys

20 25 30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
 35 40 45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
 50 55 60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65 70 75 80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
 85 90 95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
 100 105 110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
 115 120 125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175  
 His Pro Glu Ser Thr  
 180

<210> 100

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, C16X, Asp170

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> 33, 47, 48

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 100

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc ccn act ggg aag ggc dnn 48

Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Pro Thr Gly Lys Gly Xaa

1

5

10

15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96

His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe	
20  25  30	
aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg	144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp	
35  40  45	
agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc	192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu	
50  55  60	
cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg	240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr	
65  70  75  80	
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta	288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu	
85  90  95	
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc	336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala	
100  105  110	
tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc	384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu	
115  120  125	
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct	432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala	
130  135  140	
ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg	480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr	
145  150  155  160	
cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg tgt ctg aga acg tca	528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser	
165  170  175	
acc cac cct gag tcc acc tga	549
Thr His Pro Glu Ser Thr *	
180	

<210> 101

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 T11P, C16X, Asp170

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 101

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

<210> 102

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL29 突变体 G18D, Asn169, C171X

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (546)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (512)... (513)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 102

```

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac 48
Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His
  1           5           10           15

att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96
Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys
           20           25           30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144
Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser
           35           40           45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192
Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln
           50           55           60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu
           65           70           75           80

aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac 288
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp
           85           90           95

cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys
           100           105           110

atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His
           115           120           125

cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432

```

His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140  
  
 tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160  
  
 gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc 528  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175  
  
 cac cct gag tcc acc tga 546  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 103

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 G18D, Asn169, C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 103

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

115	120	125
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly		
130	135	140
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg		
145	150	155
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr		
	165	170
His Pro Glu Ser Thr		175
180		

&lt;210&gt; 104

&lt;211&gt; 549

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL29 突变体 G19D, Asn170, C172X

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (549)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (515)... (516)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 104

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc	48		
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys			
1	5	10	15

cac att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc	96	
His Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe		
20	25	30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg	144	
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp		
35	40	45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc	192	
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu		
50	55	60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg	240
---	-----

```

Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr
 65           70           75           80

ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta 288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu
           85           90           95

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc 336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala
           100           105           110

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc 384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu
           115           120           125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala
           130           135           140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr
           145           150           155           160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca 528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser
           165           170           175

acc cac cct gag tcc acc tga 549
Thr His Pro Glu Ser Thr *
           180

```

<210> 105

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 G19D, Asn170, C172X

<221> VARIANT

<222> (172)... (172)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 105

```

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

```

<210> 106

<211> 546

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 C15X, G18D, Asn169

<221> CDS

<222> (1)... (546)

<221> variation

<222> (44)... (45)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 106

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn cac 48

Gly	Pro	Val	Pro	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	Thr	Thr	Gly	Lys	Gly	Xaa	His		
1				5					10					15			
att	gay	agg	ttc	aaa	tct	ctg	tca	cca	cag	gag	cta	gcg	agc	ttc	aag	96	
Ile	Asp	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Ala	Ser	Phe	Lys		
			20					25					30				
aag	gcc	agg	gac	gcc	ttg	gaa	gag	tca	ctc	aag	ctg	aaa	aac	tgg	agt	144	
Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp	Ser		
		35					40					45					
tgc	agc	tct	cct	gtc	ttc	ccc	ggg	aat	tgg	gac	ctg	agg	ctt	ctc	cag	192	
Cys	Ser	Ser	Pro	Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Arg	Leu	Leu	Gln		
	50					55					60						
gtg	agg	gag	cgc	cct	gtg	gcc	ttg	gag	gct	gag	ctg	gcc	ctg	acg	ctg	240	
Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr	Leu		
	65				70					75					80		
aag	gtc	ctg	gag	gcc	gct	gct	ggc	cca	gcc	ctg	gag	gac	gtc	cta	gac	288	
Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Val	Leu	Asp		
				85					90					95			
cag	ccc	ctt	cac	acc	ctg	cac	cac	atc	ctc	tcc	cag	ctc	cag	gcc	tgt	336	
Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala	Cys		
			100						105					110			
atc	cag	cct	cag	ccc	aca	gca	ggg	ccc	agg	ccc	cgg	ggc	cgc	ctc	cac	384	
Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	His		
		115					120					125					
cac	tgg	ctg	cac	cgg	ctc	cag	gag	gcc	ccc	aaa	aag	gag	tcc	gct	ggc	432	
His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly		
	130					135						140					
tgc	ctg	gag	gca	tct	gtc	acc	ttc	aac	ctc	ttc	cgc	ctc	ctc	acg	cga	480	
Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr	Arg		
	145				150					155				160			
gac	ctc	aaa	tat	gtg	gcc	gat	ggg	aay	ctg	tgt	ctg	aga	acg	tca	acc	528	
Asp	Leu	Lys	Tyr	Val	Ala	Asp	Gly	Asn	Leu	Cys	Leu	Arg	Thr	Ser	Thr		
				165					170					175			
cac	cct	gag	tcc	acc	tga											546	

His Pro Glu Ser Thr \*

180

<210> 107

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 C15X, G18D, Asn169

<221> VARIANT

<222> (15)... (15)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 107

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His

1 5 10 15

Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys

20 25 30

Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser

35 40 45

Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln

50 55 60

Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu

65 70 75 80

Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp

85 90 95

Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys

100 105 110

Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His

115 120 125

His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly

130 135 140

Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg

145 150 155 160

Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr

165 170 175

His Pro Glu Ser Thr

180

<210> 108

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 C16X, G19D, Asn170

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> (47)... (48)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 108

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn	48
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa	
1                    5                    10                    15	

cac att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc	96
His Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe	
20                    25                    30	

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg	144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp	
35                    40                    45	

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc	192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu	
50                    55                    60	

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg	240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr	
65                    70                    75                    80	

ctg aag gtc ctg gag gcc get gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta	288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu	
85                    90                    95	

gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc	336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala	
100                    105                    110	

tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc	384
---	-----



Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125

cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct 432  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140

ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg 480  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160

cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aay ctg tgt ctg aga acg tca 528  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Cys Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*

180

<210> 109

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 C16X, G19D, Asn170

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 109

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

	85		90		95										
Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala
	100		105		110										
Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu
	115		120		125										
His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala
	130		135		140										
Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr
	145		150		155										
Arg	Asp	Leu	Lys	Tyr	Val	Ala	Asp	Gly	Asn	Leu	Cys	Leu	Arg	Thr	Ser
	165		170		175										
Thr	His	Pro	Glu	Ser	Thr										
	180														

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 546

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL29 突变体 G18D, Asp169, C171X

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (546)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (512)... (513)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 110

ggc	cct	gtc	ccc	act	tcc	aag	ccc	acc	aca	act	ggg	aag	ggc	tgc	cac	48
Gly	Pro	Val	Pro	Thr	Ser	Lys	Pro	Thr	Thr	Thr	Gly	Lys	Gly	Cys	His	
1		5		10		15										

att	gay	agg	ttc	aaa	tct	ctg	tca	cca	cag	gag	cta	gcg	agc	ttc	aag	96
Ile	Asp	Arg	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Ala	Ser	Phe	Lys	
	20		25		30											

aag	gcc	agg	gac	gcc	ttg	gaa	gag	tca	ctc	aag	ctg	aaa	aac	tgg	agt	144
Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp	Ser	
	35		40		45											

tgc	agc	tct	cct	gtc	ttc	ccc	ggg	aat	tgg	gac	ctg	agg	ctt	ctc	cag	192
-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln	
50	55 60
gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg	240
Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu	
65	70 75 80
aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac	288
Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp	
	85 90 95
cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt	336
Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys	
	100 105 110
atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac	384
Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His	
	115 120 125
cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc	432
His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly	
	130 135 140
tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga	480
Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg	
	145 150 155 160
gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca acc	528
Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr	
	165 170 175
cac cct gag tcc acc tga	546
His Pro Glu Ser Thr *	
	180

&lt;210&gt; 111

&lt;211&gt; 181

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL29 突变体 G18D, Asp169, C171X

<221> VARIANT

<222> (171)... (171)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 111

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His  
 1                   5                   10                   15  
 Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
                   20                   25                   30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
                   35                   40                   45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln  
                   50                   55                   60  
 Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu  
 65                   70                   75                   80  
 Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp  
                   85                   90                   95  
 Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
                   100                   105                   110  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
                   115                   120                   125  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
                   130                   135                   140  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145                   150                   155                   160  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr  
                   165                   170                   175  
 His Pro Glu Ser Thr  
                   180

<210> 112

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 G19D, Asp170, C172X

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<221> variation

<222> (515)... (516)

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 112

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc	48
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys	
1                                5                                10                                15	
cac att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc	96
His Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe	
20                                25                                30	
aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg	144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp	
35                                40                                45	
agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc	192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu	
50                                55                                60	
cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg	240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr	
65                                70                                75                                80	
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta	288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu	
85                                90                                95	
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc	336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala	
100                                105                                110	
tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc	384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu	
115                                120                                125	
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct	432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala	
130                                135                                140	
ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg	480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr	
145                                150                                155                                160	
cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg dnn ctg aga acg tca	528

Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175

acc cac cct gag tcc acc tga 549  
 Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 113  
 <211> 182  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> Met IL29 突变体 G19D, Asp170, C172X

<221> VARIANT  
 <222> (172)... (172)  
 <223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 113  
 Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
 1 5 10 15  
 His Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
 20 25 30  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
 35 40 45  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
 50 55 60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu  
 85 90 95  
 Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala  
 100 105 110  
 Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu  
 115 120 125  
 His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr  
 145 150 155 160  
 Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Xaa Leu Arg Thr Ser  
 165 170 175  
 Thr His Pro Glu Ser Thr

180

&lt;210&gt; 114

&lt;211&gt; 546

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL29 突变体 C15X, G18D, Asp169

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (546)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (44)... (45)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 114

ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn cac 48

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His

1

5

10

15

att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag 96

Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys

20

25

30

aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt 144

Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser

35

40

45

tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag 192

Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln

50

55

60

gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg 240

Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu

65

70

75

80

aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac 288

Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp

85

90

95

cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt 336

Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys  
 100 105 110

atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac 384  
 Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His  
 115 120 125

cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc 432  
 His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly  
 130 135 140

tgc ctg gag gca tet gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga 480  
 Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg  
 145 150 155 160

gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg gay ctg tgt ctg aga acg tca acc 528  
 Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr  
 165 170 175

cac cct gag tcc acc tga 546  
 His Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 115

<211> 181

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL29 突变体 C15X, G18D, Asp169

<221> VARIANT

<222> (15)... (15)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 115

Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa His  
 1 5 10 15  
 Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys  
 20 25 30  
 Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser  
 35 40 45  
 Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln



---

50	55	60																	
Val Arg Glu Arg Pro	Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu																		
65	70	75	80																
Lys Val Leu Glu Ala	Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp																		
	85	90	95																
Gln Pro Leu His Thr	Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys																		
	100	105	110																
Ile Gln Pro Gln Pro	Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His																		
	115	120	125																
His Trp Leu His Arg	Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly																		
	130	135	140																
Cys Leu Glu Ala Ser	Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg																		
145	150	155	160																
Asp Leu Lys Tyr Val	Ala Asp Gly Asp Leu Cys Leu Arg Thr Ser Thr																		
	165	170	175																
His Pro Glu Ser Thr																			
	180																		

&lt;210&gt; 116

&lt;211&gt; 549

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL29 突变体 C16X, G19D, Asp170

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (549)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (47)... (48)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 116

atg ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc dnn	48		
Met Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Xaa			
1	5	10	15

cac att gay agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc	96	
His Ile Asp Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe		
20	25	30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg	144
---	-----

Lys	Lys	Ala	Arg	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp	
		35					40					45				
agt	tgc	agc	tct	cct	gtc	ttc	ccc	ggg	aat	tgg	gac	ctg	agg	ctt	ctc	192
Ser	Cys	Ser	Ser	Pro	Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Arg	Leu	Leu	
	50					55					60					
cag	gtg	agg	gag	cgc	cct	gtg	gcc	ttg	gag	gct	gag	ctg	gcc	ctg	acg	240
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr	
	65				70				75						80	
ctg	aag	gtc	ctg	gag	gcc	gct	gct	ggc	cca	gcc	ctg	gag	gac	gtc	cta	288
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Val	Leu	
				85				90						95		
gac	cag	ccc	ctt	cac	acc	ctg	cac	cac	atc	ctc	tcc	cag	ctc	cag	gcc	336
Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala	
			100					105						110		
tgt	atc	cag	cct	cag	ccc	aca	gca	ggg	ccc	agg	ccc	cgg	ggc	cgc	ctc	384
Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	
		115					120						125			
cac	cac	tgg	ctg	cac	cgg	ctc	cag	gag	gcc	ccc	aaa	aag	gag	tcc	gct	432
His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala	
		130				135							140			
ggc	tgc	ctg	gag	gca	tct	gtc	acc	ttc	aac	ctc	ttc	cgc	ctc	ctc	acg	480
Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr	
	145				150					155					160	
cga	gac	ctc	aaa	tat	gtg	gcc	gat	ggg	gay	ctg	tgt	ctg	aga	acg	tca	528
Arg	Asp	Leu	Lys	Tyr	Val	Ala	Asp	Gly	Asp	Leu	Cys	Leu	Arg	Thr	Ser	
				165					170					175		
acc	cac	cct	gag	tcc	acc	tga										549
Thr	His	Pro	Glu	Ser	Thr	*										
			180													

&lt;210&gt; 117

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

<220>

<223> Met IL29 突变体 C16X, G19D, Asp170

<221> VARIANT

<222> (16)... (16)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 117

```

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

```

<210> 118

<211> 57

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 信号序列

<221> CDS

<222> (1)... (57)

<400> 118

```
atg gct gca gct tgg acc gtg gtg ctg gtg act ttg gtg cta ggc ttg 48
Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu
  1           5           10           15
```

```
gcc gtg gca 57
Ala Val Ala
```

<210> 119

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 信号序列

<400> 119

```
Met Ala Ala Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val Leu Gly Leu
  1           5           10           15
Ala Val Ala
```

<210> 120

<211> 66

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 信号序列

<221> CDS

<222> (1)... (66)

<400> 120

```
atg gtg ccc acc aca ttg gct tgg acc gtg gtg ctg gtg act ttg gtg 48
Met Val Pro Thr Thr Leu Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val
  1           5           10           15
```

```
cta ggc ttg gcc gtg gca 66
```

Leu Gly Leu Ala Val Ala  
20

<210> 121  
<211> 22  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 信号序列

<400> 121  
Met Val Pro Thr Thr Leu Ala Trp Thr Val Val Leu Val Thr Leu Val  
1 5 10 15  
Leu Gly Leu Ala Val Ala  
20

<210> 122  
<211> 528  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> IL-28B C48S

<221> CDS  
<222> (1)... (528)

<221> variation  
<222> (143)... (144)  
<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 122  
gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc 48  
Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
1 5 10 15  
  
cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt 96  
His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
20 25 30  
  
aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac dnn 144

---

Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Xaa  
                   35                                  40                                  45

aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg 192  
 Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
           50                                  55                                  60

cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
       65                                  70                                  75                                  80

ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg ggg gat 288  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp  
                                   85                                  90                                  95

gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ctc 336  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu  
                                   100                                  105                                  110

cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc 384  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
                                   115                                  120                                  125

cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag 432  
 Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
       130                                  135                                  140

tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc 480  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
       145                                  150                                  155                                  160

ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc tga 528  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
                                   165                                  170                                  175

&lt;210&gt; 123

&lt;211&gt; 175

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VARIANT

<222> (48)... (48)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> IL-28B C48S

<400> 123

Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	Arg	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Cys
1				5					10					15	
His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	Phe
			20					25					30		
Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Xaa
		35					40					45			
Lys	Cys	Arg	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu
	50					55					60				
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr
65					70					75				80	
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Thr	Ala	Asp	Thr	Asp	Pro	Ala	Leu	Gly	Asp
				85					90					95	
Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu
			100						105					110	
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly
		115					120						125		
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu
	130						135					140			
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu
145					150						155				160
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
				165						170				175	

<210> 124

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL-28B C49S

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<221> variation

<222> (146)... (147)

<223> n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 124

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
 20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
 35 40 45

dnn aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
 Xaa Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
 50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65 70 75 80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg ggg 288  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly  
 85 90 95

gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
 Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
 100 105 110

ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
 Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
 115 120 125

ggc cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130 135 140

gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480  
 Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
 145 150 155 160

ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc 528  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val



165	170	175	
tga			531
*			
<210> 125			
<211> 176			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<221> VARIANT			
<222> (49)... (49)			
<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn			
<223> Met IL-28B C49S			
<400> 125			
Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly			
1                    5                    10                    15			
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala			
20                    25                    30			
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp			
35                    40                    45			
Xaa Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln			
50                    55                    60			
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu			
65                    70                    75                    80			
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly			
85                    90                    95			
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln			
100                    105                    110			
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg			
115                    120                    125			
Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys			
130                    135                    140			
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg			
145                    150                    155                    160			
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val			
165                    170                    175			

&lt;210&gt; 126

&lt;211&gt; 528

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL-28B C50S

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (528)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (149)... (150)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 126

gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc 48  
 Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1 5 10 15

cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt 96  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
 20 25 30

aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac tgc 144  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
 35 40 45

aag dnn cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg 192  
 Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
 50 55 60

cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65 70 75 80

ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg ggg gat 288  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp  
 85 90 95

gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ctc 336  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu  
 100 105 110

cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc 384  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
           115                          120                          125

cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag 432  
 Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
           130                          135                          140

tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc 480  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
           145                          150                          155                          160

ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc tga 528  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val \*  
                                   165                          170                          175

<210> 127

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> VARIANT

<222> (50)... (50)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> IL-28B C50S

<400> 127

Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
   1                          5                          10                          15  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
                           20                          25                          30  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
           35                          40                          45  
 Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
           50                          55                          60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
   65                          70                          75                          80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp  
                           85                          90                          95  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu

	100		105		110										
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly
	115					120					125				
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	His	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu
	130					135					140				
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu
145					150					155					160
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
			165						170					175	

&lt;210&gt; 128

&lt;211&gt; 531

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL-28B C51S

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (531)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (152)... (153)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 128

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
 20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
 35 40 45

tgc aag dnn cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
 Cys Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
 50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240

```

Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
 65              70              75              80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc acc gct gac act gac cca gcc ctg ggg 288
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly
          85              90              95

gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
          100             105             110

ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
          115             120             125

ggc cgc ctc cac cat tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432
Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
          130             135             140

gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
          145             150             155             160

ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc 528
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
          165             170             175

tga
*

```

```

<210> 129
<211> 176
<212> PRT
<213> 人工序列

```

```

<220>
<221> VARIANT
<222> (51)... (51)
<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

```

```

<223> Met IL-28B C51S

```

<400> 129

```

Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly
 1           5           10           15
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala
           20           25           30
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
           35           40           45
Cys Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
 50           55           60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
65           70           75           80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly
           85           90           95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
           100          105          110
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
           115          120          125
Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
           130          135          140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
145           150           155           160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
           165          170          175

```

<210> 130

<211> 528

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-28B C48S T87S H135Y

<221> CDS

<222> (1)... (528)

<221> variation

<222> 143, 144, 261

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 130

```

gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc tgc 48
Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys
 1           5           10           15

```

cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc ttt	96
His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe	
20 25 30	
aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac dnn	144
Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Xaa	
35 40 45	
aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag ctg	192
Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu	
50 55 60	
cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg	240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr	
65 70 75 80	
ctg aag gtt ctg gag gcc wsn gct gac act gac cca gcc ctg ggg gat	288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp	
85 90 95	
gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ctc	336
Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu	
100 105 110	
cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc	384
Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly	
115 120 125	
cgc ctc cac cat tgg ctg tay cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag	432
Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu	
130 135 140	
tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc	480
Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu	
145 150 155 160	
ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc tga	528
Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val *	
165 170 175	

&lt;210&gt; 131

<211> 175  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (48)... (48)  
 <223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<221> VARIANT  
 <222> (87)... (87)  
 <223> Xaa = Ser

<223> IL-28B C48S T87S H135Y

<400> 131

Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu	Arg	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Cys
1				5					10					15	
His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys	Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	Phe
			20					25					30		
Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Xaa
		35					40					45			
Lys	Cys	Arg	Ser	Arg	Leu	Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu
	50					55					60				
Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr
65					70					75				80	
Leu	Lys	Val	Leu	Glu	Ala	Xaa	Ala	Asp	Thr	Asp	Pro	Ala	Leu	Gly	Asp
				85					90					95	
Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His	Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu
				100					105				110		
Arg	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln	Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Thr	Arg	Gly
		115							120				125		
Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	Tyr	Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu
		130					135					140			
Ser	Pro	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala	Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu
145					150					155				160	
Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Asn	Cys	Val	Ala	Ser	Gly	Asp	Leu	Cys	Val	
				165						170				175	

<210> 132  
 <211> 531  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Met IL-28B C49S T88S H136Y

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (531)

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; 146, 147, 264

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;400&gt; 132

atg gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
 20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tgc ctt ctg ctg aag gac 144  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
 35 40 45

dnn aag tgc cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
 Xaa Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
 50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65 70 75 80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc wsn gct gac act gac cca gcc ctg ggg 288  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly  
 85 90 95

gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
 Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
 100 105 110

ctc egg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
 Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
 115 120 125

ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tay cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130 135 140  
 gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480  
 Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
 145 150 155 160  
 ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc 528  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
 165 170 175  
 tga 531  
 \*

<210> 133  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <221> VARIANT  
 <222> (49)... (49)  
 <223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<221> VARIANT  
 <222> (88)... (88)  
 <223> Xaa = Ser

<223> Met IL-28B C49S T88S H136Y

<400> 133  
 Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
 1 5 10 15  
 Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
 20 25 30  
 Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
 35 40 45  
 Xaa Lys Cys Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
 50 55 60  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65 70 75 80



50	55	60	
cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg			240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr			
65	70	75	80
ctg aag gtt ctg gag gcc wsn gct gac act gac cca gcc ctg ggg gat			288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp			
	85	90	95
gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag ctc			336
Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu			
	100	105	110
cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg ggc			384
Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly			
	115	120	125
cgc ctc cac cat tgg ctg tay cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag gag			432
Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu			
	130	135	140
tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc			480
Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu			
	145	150	155
ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc tga			528
Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val *			
	165	170	175

&lt;210&gt; 135

&lt;211&gt; 175

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (50)... (50)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (87)... (87)

<223> Xaa = Ser

<223> IL-28B C50S T87S H135Y

<400> 135

Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys  
 1                    5                    10                    15  
 His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe  
                   20                    25                    30  
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys  
                   35                    40                    45  
 Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu  
                   50                    55                    60  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly Asp  
                   85                    90                    95  
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu  
                   100                    105                    110  
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly  
                   115                    120                    125  
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu  
                   130                    135                    140  
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu  
 145                    150                    155                    160  
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
                   165                    170                    175

<210> 136

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> Met IL-28B C51S T88S H136Y

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<221> variation

<222> 152, 153, 264

<223> n = A, T, G, 或 C

<400> 136  
atg gtt cct gtc gcc agg ctc cgc ggg gct ctc ccg gat gca agg ggc 48  
Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly  
1 5 10 15

tgc cac ata gcc cag ttc aag tcc ctg tct cca cag gag ctg cag gcc 96  
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala  
20 25 30

ttt aag agg gcc aaa gat gcc tta gaa gag tcg ctt ctg ctg aag gac 144  
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp  
35 40 45

tgc aag dnn cgc tcc cgc ctc ttc ccc agg acc tgg gac ctg agg cag 192  
Cys Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln  
50 55 60

ctg cag gtg agg gag cgc ccc gtg gct ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240  
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
65 70 75 80

acg ctg aag gtt ctg gag gcc wsn gct gac act gac cca gcc ctg ggg 288  
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly  
85 90 95

gat gtc ttg gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cat atc ctc tcc cag 336  
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln  
100 105 110

ctc cgg gcc tgt atc cag cct cag ccc acg gca ggg ccc agg acc cgg 384  
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg  
115 120 125

ggc cgc ctc cac cat tgg ctg tay cgg ctc cag gag gcc cca aaa aag 432  
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
130 135 140

gag tcc cct ggc tgc ctc gag gcc tet gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480  
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
145 150 155 160

ctc ctc acg cga gac ctg aat tgt gtt gcc agc ggg gac ctg tgt gtc 528  
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val  
165 170 175

tga

531

\*

&lt;210&gt; 137

&lt;211&gt; 176

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (51)... (51)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (88)... (88)

&lt;223&gt; Xaa = Ser

&lt;223&gt; Met IL-28B C51S T88S H136Y

&lt;400&gt; 137

```

Met Val Pro Val Ala Arg Leu Arg Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly
 1                5                10                15
Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala
                20                25                30
Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp
 35                40                45
Cys Lys Xaa Arg Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln
 50                55                60
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
65                70                75                80
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Xaa Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Gly
                85                90                95
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln
                100                105                110
Leu Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg
                115                120                125
Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys
                130                135                140
Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg
145                150                155                160
Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val

```

165	170	175	
<210> 138			
<211> 543			
<212> DNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> IL-29 C170X, 在N末端甲硫氨酸和甘氨酸后截短			
<221> variation			
<222> (509)... (510)			
<223> n = A, T, G, 或 C			
<221> CDS			
<222> (1)... (543)			
<400> 138			
cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att			48
Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile			
1	5	10	15
ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag			96
Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys			
20	25	30	
gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc			144
Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys			
35	40	45	
agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg			192
Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val			
50	55	60	
agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag			240
Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys			
65	70	75	80
gtc ctg gag gcc gcl gcl ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag			288
Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln			
85	90	95	
ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc			336



Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile  
 100 105 110

cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac 384  
 Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His  
 115 120 125

tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc 432  
 Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys  
 130 135 140

ctg gag gca tet gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac 480  
 Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp  
 145 150 155 160

ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac 528  
 Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His  
 165 170 175

cct gag tcc acc tga 543  
 Pro Glu Ser Thr \*  
 180

<210> 139

<211> 180

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> VARIANT

<222> (170)... (170)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> IL-29 C170X, 在N末端甲硫氨酸和甘氨酸后截短

<400> 139

Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile  
 1 5 10 15  
 Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys  
 20 25 30  
 Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys  
 35 40 45  
 Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val

50                                 55                                 60  
 Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys  
 65                                 70                                 75                                 80  
 Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln  
                                85                                 90                                 95  
 Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile  
                                100                                 105                                 110  
 Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His  
                                115                                 120                                 125  
 Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys  
                                130                                 135                                 140  
 Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp  
 145                                 150                                 155                                 160  
 Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His  
                                165                                 170                                 175  
 Pro Glu Ser Thr  
                                180

<210> 140

<211> 540

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C169X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸和脯氨酸后截短

<221> variation

<222> (506)... (507)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (540)

<400> 140

gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc 48

Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly

1                                 5                                 10                                 15

agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc 96

Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala

20                                 25                                 30

agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc 144

Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser			
35	40	45	
tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg	192		
Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg			
50	55	60	
gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc	240		
Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val			
65	70	75	80
ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc	288		
Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro			
85	90	95	
ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag	336		
Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln			
100	105	110	
cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg	384		
Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp			
115	120	125	
ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg	432		
Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu			
130	135	140	
gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc	480		
Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu			
145	150	155	160
aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct	528		
Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro			
165	170	175	
gag tcc acc tga	540		
Glu Ser Thr *			

&lt;210&gt; 141

&lt;211&gt; 179

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

<220>

<221> VARIANT

<222> (169)... (169)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<223> L-29 C169X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸和脯氨酸后截短

<400> 141

```

Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly
 1                5                10                15
Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala
    20                25                30
Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser
    35                40                45
Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg
    50                55                60
Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val
 65                70                75                80
Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro
    85                90                95
Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln
    100                105                110
Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp
    115                120                125
Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu
    130                135                140
Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu
 145                150                155                160
Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro
    165                170                175
Glu Ser Thr

```

<210> 142

<211> 537

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C168X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸和缬氨酸后截短

<221> variation

&lt;222&gt; (503)... (504)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (537)

&lt;400&gt; 142

ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg 48  
 Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg  
 1 5 10 15

ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg 96  
 Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg  
 20 25 30

gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct 144  
 Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser  
 35 40 45

cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag 192  
 Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu  
 50 55 60

cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg 240  
 Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu  
 65 70 75 80

gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt 288  
 Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu  
 85 90 95

cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct 336  
 His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro  
 100 105 110

cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg 384  
 Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu  
 115 120 125

cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag 432  
 His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu  
 130 135 140

gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa 480

Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys  
145                    150                    155                    160

tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct gag 528  
Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu  
                         165                    170                    175

tcc acc tga 537  
Ser Thr \*

<210> 143  
<211> 178  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> IL-29 C168X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸和缬氨酸后截短

<221> VARIANT  
<222> (168)... (168)  
<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 143  
Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg  
1                    5                    10                    15  
Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg  
                         20                    25                    30  
Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser  
                         35                    40                    45  
Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu  
50                    55                    60  
Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu  
65                    70                    75                    80  
Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu  
                         85                    90                    95  
His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro  
                         100                    105                    110  
Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu  
                         115                    120                    125  
His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu  
130                    135                    140  
Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys

145 150 155 160  
 Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu  
 165 170 175  
 Ser Thr

<210> 144  
 <211> 534  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> IL-29 C167X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸和脯氨酸后截短

<221> variation  
 <222> (500)... (501)  
 <223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS  
 <222> (1)... (534)

<400> 144  
 act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg ttc 48  
 Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe  
 1 5 10 15

aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg gac 96  
 Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp  
 20 25 30

gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct cct 144  
 Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro  
 35 40 45

gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag cgc 192  
 Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg  
 50 55 60

cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg gag 240  
 Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu  
 65 70 75 80

gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt cac 288

---

Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His  
                                   85                                  90                                  95

acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct cag 336  
 Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln  
                                   100                                  105                                  110

ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg cac 384  
 Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His  
                                   115                                  120                                  125

cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag gca 432  
 Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala  
                                   130                                  135                                  140

tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa tat 480  
 Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr  
                                   145                                  150                                  155                                  160

gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct gag tcc 528  
 Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser  
                                   165                                  170                                  175

acc tga 534  
 Thr \*

<210> 145

<211> 177

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C167X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸和脯氨酸后截短

<221> VARIANT

<222> (167)...(167)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 145

Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe  
 1                                  5                                  10                                  15  
 Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp



	20		25		30										
Ala	Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Lys	Leu	Lys	Asn	Trp	Ser	Cys	Ser	Ser	Pro
	35		40		45										
Val	Phe	Pro	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Arg	Leu	Leu	Gln	Val	Arg	Glu	Arg
	50		55		60										
Pro	Val	Ala	Leu	Glu	Ala	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr	Leu	Lys	Val	Leu	Glu
65			70		75									80	
Ala	Ala	Ala	Gly	Pro	Ala	Leu	Glu	Asp	Val	Leu	Asp	Gln	Pro	Leu	His
			85		90									95	
Thr	Leu	His	His	Ile	Leu	Ser	Gln	Leu	Gln	Ala	Cys	Ile	Gln	Pro	Gln
	100		105		110										
Pro	Thr	Ala	Gly	Pro	Arg	Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	His	His	Trp	Leu	His
	115		120		125										
Arg	Leu	Gln	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Glu	Ser	Ala	Gly	Cys	Leu	Glu	Ala
	130		135		140										
Ser	Val	Thr	Phe	Asn	Leu	Phe	Arg	Leu	Leu	Thr	Arg	Asp	Leu	Lys	Tyr
145			150		155									160	
Val	Ala	Asp	Gly	Asn	Leu	Xaa	Leu	Arg	Thr	Ser	Thr	His	Pro	Glu	Ser
			165		170									175	
Thr															

<210> 146

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C166X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸、脯氨酸和苏氨酸后截短

<221> variation

<222> (497)... (498)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<400> 146

tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg ttc aaa 48

Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys

1 5 10 15

tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg gac gcc 96

---

Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala	
20                                  25                                  30	
ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct cct gtc	144
Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val	
35                                  40                                  45	
ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag cgc cct	192
Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro	
50                                  55                                  60	
gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg gag gcc	240
Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala	
65                                  70                                  75                                  80	
gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt cac acc	288
Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr	
85                                  90                                  95	
ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct cag ccc	336
Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro	
100                                  105                                  110	
aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg cac cgg	384
Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg	
115                                  120                                  125	
ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag gca tct	432
Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser	
130                                  135                                  140	
gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa tat gtg	480
Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val	
145                                  150                                  155                                  160	
gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct gag tcc acc	528
Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr	
165                                  170                                  175	
tga	531
*	

<210> 147

<211> 176

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C166X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸、脯氨酸和苏氨酸后截短

<221> VARIANT

<222> (166)...(166)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 147

```

Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys
 1             5             10             15
Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala
 20             25             30
Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val
 35             40             45
Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro
 50             55             60
Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala
 65             70             75             80
Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr
 85             90             95
Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro
 100            105            110
Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg
 115            120            125
Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser
 130            135            140
Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val
 145            150            155            160
Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr
 165            170            175

```

<210> 148

<211> 528

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C165X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苏氨酸和丝

## 氨基酸后截短

&lt;221&gt; variation

&lt;222&gt; (494)... (495)

&lt;223&gt; n = A, T, G, 或 C

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (1)... (528)

&lt;400&gt; 148

```

aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg ttc aaa tct 48
Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser
 1           5           10           15

ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg gac gcc ttg 96
Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu
           20           25           30

gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct cct gtc ttc 144
Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe
           35           40           45

ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag cgc cct gtg 192
Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val
           50           55           60

gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg gag gcc gct 240
Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala
           65           70           75           80

gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt cac acc ctg 288
Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu
           85           90           95

cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct cag ccc aca 336
His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr
           100           105           110

gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg cac cgg ctc 384
Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu
           115           120           125

cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag gca tct gtc 432
Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val

```

130	135	140	
acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa tat gtg gcc			480
Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala			
145	150	155	160
gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct gag tcc acc tga			528
Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr *			
	165	170	175

<210> 149

<211> 175

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 C165X, 在 N 末端甲硫氨酸、甘氨酸、脯氨酸、缬氨酸、脯氨酸、苏氨酸和丝氨酸后截短

<221> VARIANT

<222> (165)...(165)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 149

Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser			
1	5	10	15
Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu			
	20	25	30
Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe			
	35	40	45
Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val			
	50	55	60
Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala			
65	70	75	80
Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu			
	85	90	95
His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr			
	100	105	110
Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu			
	115	120	125
Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val			
	130	135	140

Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala  
 145                                    150                                    155                                    160  
 Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr  
                                   165                                    170                                    175

<210> 150

<211> 552

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在N末端 Met 后插入 Leu 的 IL-29, C173X

<221> variation

<222> (518)... (519)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (552)

<400> 150

atg ytn ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc    48  
 Met Leu Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly  
   1                                    5                                    10                                    15

tgc cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc    96  
 Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser  
                                   20                                    25                                    30

ttc aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac    144  
 Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn  
                                   35                                    40                                    45

tgg agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt    192  
 Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu  
                                   50                                    55                                    60

ctc cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg    240  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
   65                                    70                                    75                                    80

acg ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc    288  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val

85	90	95	
cta gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag			336
Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln			
100	105	110	
gcc tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc			384
Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg			
115	120	125	
ctc cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc			432
Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser			
130	135	140	
gct ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc			480
Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu			
145	150	155	160
acg cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg			528
Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr			
165	170	175	
tca acc cac cct gag tcc acc tga			552
Ser Thr His Pro Glu Ser Thr *			
180			

&lt;210&gt; 151

&lt;211&gt; 183

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 在N末端Met后插入Leu的IL-29, C173X

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (173)... (173)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

&lt;400&gt; 151

Met Leu Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly

1

5

10

15

Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser

20

25

30

Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn  
           35                          40                          45  
 Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu  
           50                          55                          60  
 Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu  
 65                          70                          75                          80  
 Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val  
                           85                          90                          95  
 Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln  
                           100                          105                          110  
 Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg  
           115                          120                          125  
 Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser  
           130                          135                          140  
 Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu  
 145                          150                          155                          160  
 Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr  
                           165                          170                          175  
 Ser Thr His Pro Glu Ser Thr  
                           180

<210> 152

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 G2L C172X

<221> variation

<222> (515)... (516)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<400> 152

atg ytn cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc 48  
 Met Leu Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
   1                          5                          10                          15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe



20	25	30	
aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg			144
Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp			
35	40	45	
agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc			192
Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu			
50	55	60	
cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg			240
Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr			
65	70	75	80
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta			288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu			
85	90	95	
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc			336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala			
100	105	110	
tgt atc cag cct cag ccc aca gea ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc			384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu			
115	120	125	
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct			432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala			
130	135	140	
ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg			480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr			
145	150	155	160
cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca			528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser			
165	170	175	
acc cac cct gag tcc acc tga			549
Thr His Pro Glu Ser Thr *			
180			

&lt;210&gt; 153

<211> 182

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 G2L C172X

<221> VARIANT

<222> (172)...(172)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 153

```

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

```

<210> 154

<211> 552

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 在 N 末端 Met 后插入 Ile 的 IL-29, C173X

<221> variation

<222> (518)... (519)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (552)

<400> 154

```

atg ath ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc 48
Met Ile Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly
 1           5           10           15

tgc cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc 96
Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser
           20           25           30

ttc aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac 144
Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn
           35           40           45

tgg agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt 192
Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu
 50           55           60

ctc cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg 240
Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu
 65           70           75           80

acg ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc 288
Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val
           85           90           95

cta gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag etc cag 336
Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln
           100           105           110

gcc tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc 384
Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg
           115           120           125

ctc cac cac tgg ctg cac cgg etc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc 432
Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser

```

130	135	140	
gct ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc 480			
Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu			
145	150	155	160
acg cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg 528			
Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr			
	165	170	175
tca acc cac cct gag tcc acc tga 552			
Ser Thr His Pro Glu Ser Thr *			
	180		

&lt;210&gt; 155

&lt;211&gt; 183

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt;在 N 末端 Met 后插入 Ile 的 IL-29, C173X

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (173)... (173)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

&lt;400&gt; 155

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

Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser  
 130 135 140  
 Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu  
 145 150 155 160  
 Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr  
 165 170 175  
 Ser Thr His Pro Glu Ser Thr  
 180

<210> 156

<211> 549

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> IL-29 G2I C172X

<221> variation

<222> (515)... (516)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (549)

<400> 156

atg ath cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc 48  
 Met Ile Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys  
 1 5 10 15

cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc 96  
 His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe  
 20 25 30

aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg 144  
 Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp  
 35 40 45

agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc 192  
 Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu  
 50 55 60

cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg 240  
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr

65	70	75	80	
ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta				288
Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu				
	85	90	95	
gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc				336
Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala				
	100	105	110	
tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc				384
Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu				
	115	120	125	
cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct				432
His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala				
	130	135	140	
ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg				480
Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr				
	145	150	155	160
cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca				528
Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser				
	165	170	175	
acc cac cct gag tcc acc tga				549
Thr His Pro Glu Ser Thr *				
	180			

&lt;210&gt; 157

&lt;211&gt; 182

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; IL-29 G2I C172X

&lt;221&gt; VARIANT

&lt;222&gt; (172)...(172)

&lt;223&gt; Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

&lt;400&gt; 157

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

<210> 158

<211> 531

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> N末端 Met 后氨基酸残基 2-7 被删除的 IL-29, C166X

<221> variation

<222> (497)... (498)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (531)

<400> 158

atg aag ccc acc aca act ggg aag ggc tgc cac att ggc agg ttc aaa   48  
 Met Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys

1	5	10	15	
tct ctg tca cca cag gag cta gcg agc ttc aag aag gcc agg gac gcc				96
Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala				
	20	25	30	
ttg gaa gag tca ctc aag ctg aaa aac tgg agt tgc agc tct cct gtc				144
Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val				
	35	40	45	
ttc ccc ggg aat tgg gac ctg agg ctt ctc cag gtg agg gag cgc cct				192
Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro				
	50	55	60	
gtg gcc ttg gag gct gag ctg gcc ctg acg ctg aag gtc ctg gag gcc				240
Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala				
	65	70	75	80
gct gct ggc cca gcc ctg gag gac gtc cta gac cag ccc ctt cac acc				288
Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr				
	85	90	95	
ctg cac cac atc ctc tcc cag ctc cag gcc tgt atc cag cct cag ccc				336
Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro				
	100	105	110	
aca gca ggg ccc agg ccc cgg ggc cgc ctc cac cac tgg ctg cac cgg				384
Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg				
	115	120	125	
ctc cag gag gcc ccc aaa aag gag tcc gct ggc tgc ctg gag gca tct				432
Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser				
	130	135	140	
gtc acc ttc aac ctc ttc cgc ctc ctc acg cga gac ctc aaa tat gtg				480
Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val				
	145	150	155	160
gcc gat ggg aac ctg dnn ctg aga acg tca acc cac cct gag tcc acc				528
Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr				
	165	170	175	
tga				531
*				



<210> 159  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> N末端 Met 后氨基酸残基 2-7 被删除的 IL-29, C166X

<221> VARIANT  
 <222> (166)...(166)  
 <223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 159  
 Met Lys Pro Thr Thr Thr Gly Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala  
 20                   25                   30  
 Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val  
 35                   40                   45  
 Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro  
 50                   55                   60  
 Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala  
 65                   70                   75                   80  
 Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr  
 85                   90                   95  
 Leu His His Ile Leu Ser Gln Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro  
 100                   105                   110  
 Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg  
 115                   120                   125  
 Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser  
 130                   135                   140  
 Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val  
 145                   150                   155                   160  
 Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr  
 165                   170                   175

<210> 160  
 <211> 558  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>

<223> 在 N 末端 Met 后插入 Glu、Ala 和 Glu 的 IL-29, C175X

<221> variation

<222> (524)... (525)

<223> n = A, T, G, 或 C

<221> CDS

<222> (1)... (558)

<400> 160

atg gar gcn gar ggc cct gtc ccc act tcc aag ccc acc aca act ggg	48
Met Glu Ala Glu Gly Pro Val Pro Thr Ser Lys Pro Thr Thr Thr Gly	
1 5 10 15	
aag ggc tgc cac att ggc agg ttc aaa tct ctg tca cca cag gag cta	96
Lys Gly Cys His Ile Gly Arg Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu	
20 25 30	
gcg agc ttc aag aag gcc agg gac gcc ttg gaa gag tca ctc aag ctg	144
Ala Ser Phe Lys Lys Ala Arg Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Lys Leu	
35 40 45	
aaa aac tgg agt tgc agc tct cct gtc ttc ccc ggg aat tgg gac ctg	192
Lys Asn Trp Ser Cys Ser Ser Pro Val Phe Pro Gly Asn Trp Asp Leu	
50 55 60	
agg ctt ctc cag gtg agg gag cgc cct gtg gcc ttg gag gct gag ctg	240
Arg Leu Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Val Ala Leu Glu Ala Glu Leu	
65 70 75 80	
gcc ctg acg ctg aag gtc ctg gag gcc gct gct ggc cca gcc ctg gag	288
Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Ala Ala Gly Pro Ala Leu Glu	
85 90 95	
gac gtc cta gac cag ccc ctt cac acc ctg cac cac atc ctc tcc cag	336
Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln	
100 105 110	
ctc cag gcc tgt atc cag cct cag ccc aca gca ggg ccc agg ccc cgg	384
Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg	
115 120 125	

gag cgc ctc cac cac tgg ctg cac cgg ctc cag gag gcc ccc aaa aag 432  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
 130 135 140

gag tcc gct ggc tgc ctg gag gca tct gtc acc ttc aac ctc ttc cgc 480  
 Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
 145 150 155 160

ctc ctc acg cga gac ctc aaa tat gtg gcc gat ggg aac ctg dnn ctg 528  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu  
 165 170 175

aga acg tca acc cac cct gag tcc acc tga 558  
 Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr \*  
 180 185

<210> 161

<211> 185

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 在 N 末端 Met 后插入 Glu、Ala 和 Glu 的 IL-29, C175X

<221> VARIANT

<222> (175)... (175)

<223> Xaa = Ser, Ala, Thr, Val, 或 Asn

<400> 161

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

---

Leu Gln Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Pro Arg  
           115                                  120                                  125  
 Gly Arg Leu His His Trp Leu His Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys  
           130                                  135                                  140  
 Glu Ser Ala Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg  
   145                                  150                                  155                                  160  
 Leu Leu Thr Arg Asp Leu Lys Tyr Val Ala Asp Gly Asn Leu Xaa Leu  
                                   165                                  170                                  175  
 Arg Thr Ser Thr His Pro Glu Ser Thr  
                                   180                                  185

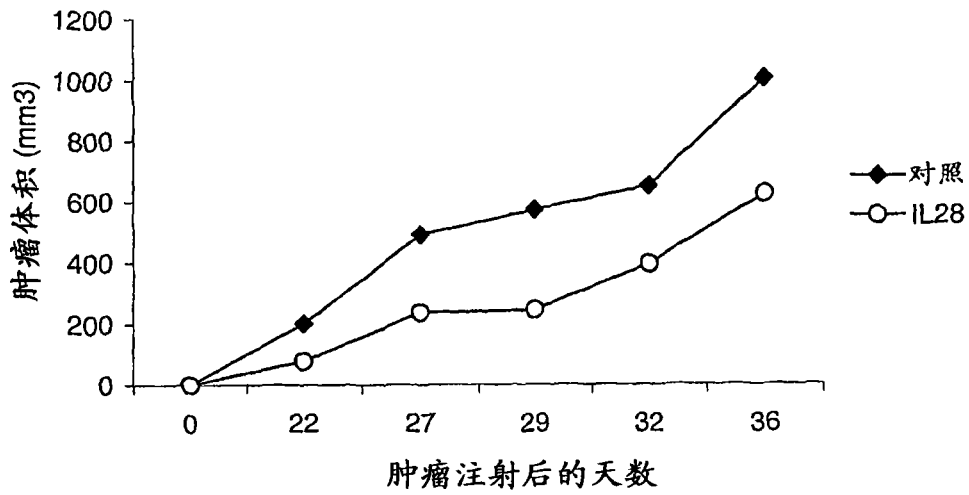


图1

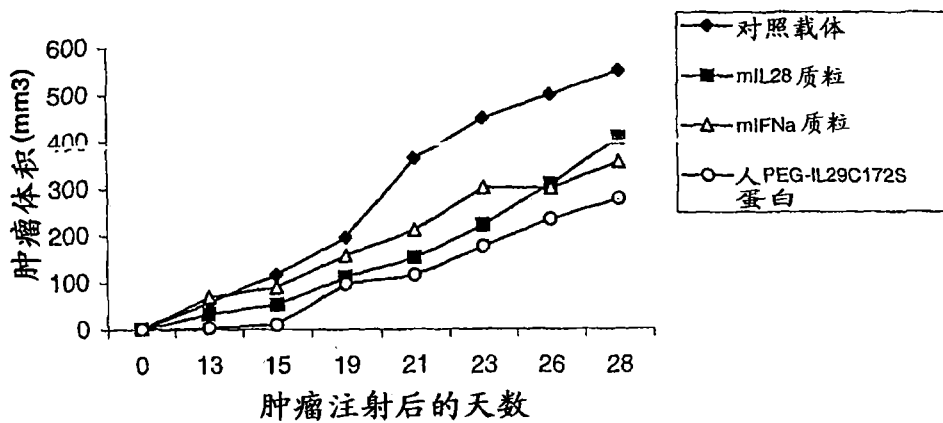


图2

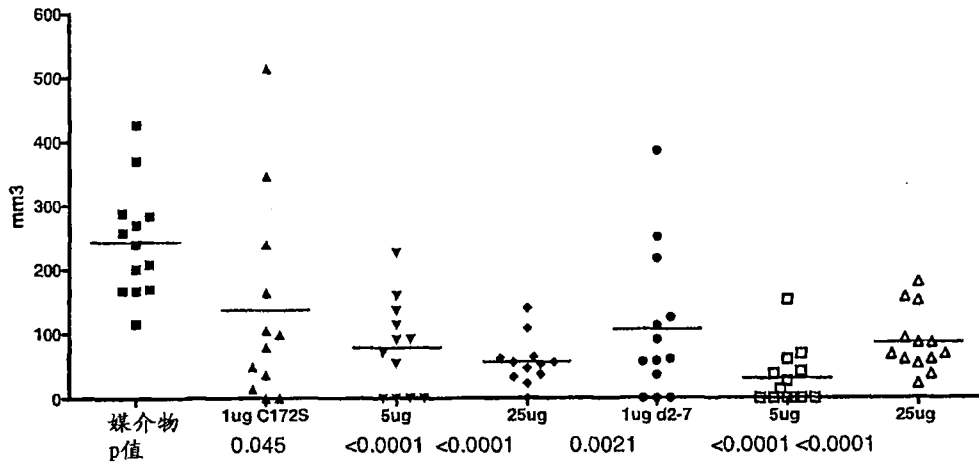


图 3

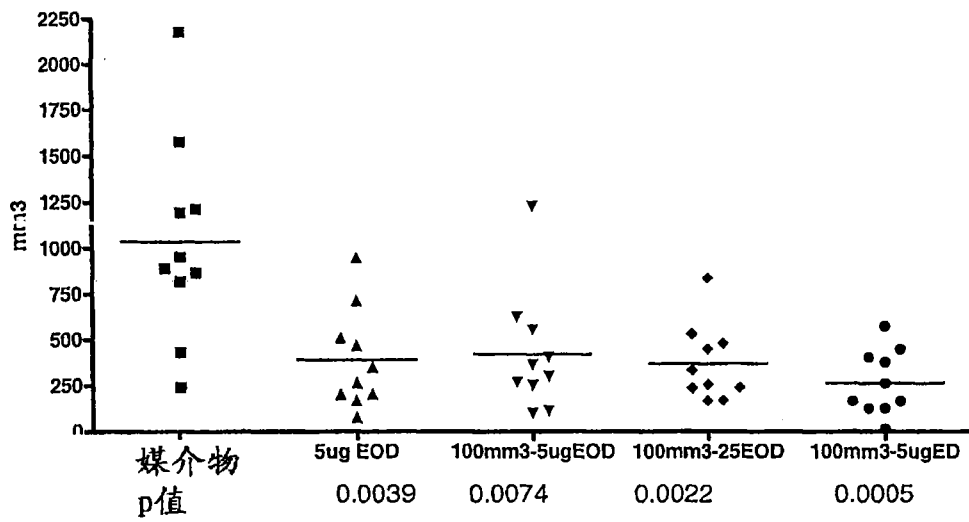


图 4

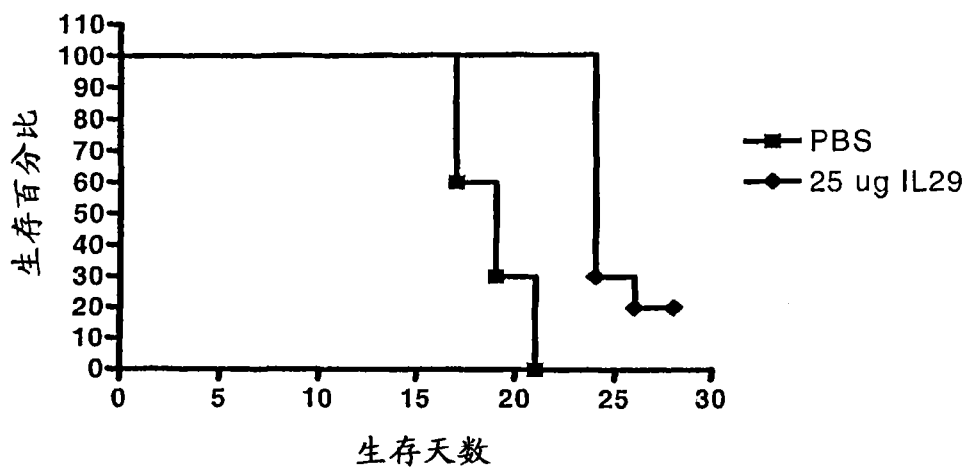


图 5A

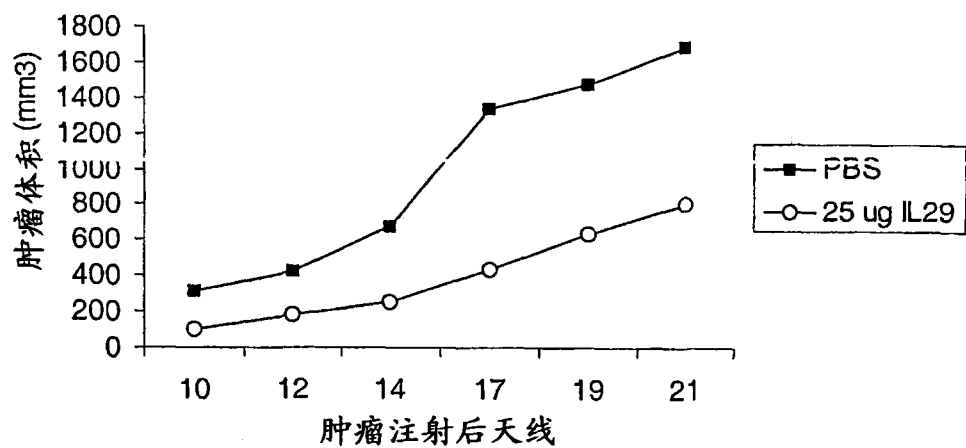


图 5B