(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公表特許公報**（Ａ）　(11)特許出願公表番号

特表2003－518371
(P2003－518371A)

(43)公表日 平成15年6月10日(2003.6.10)

(51)Int.Cl[7]	識別記号	ＦＩ	ﾃｰﾏｺｰﾄﾞ（参考）
Ｃ １２ Ｎ 15/09		Ａ ０１ Ｋ 67/027	２Ｇ０４５
Ａ ０１ Ｋ 67/027		Ａ ６１ Ｋ 31/711	４Ｂ０２４
Ａ ６１ Ｋ 31/711		39/39	４Ｂ０６３
39/39		45/00	４Ｂ０６４
45/00		48/00	４Ｂ０６５

審査請求　有　予備審査請求（全369数）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2001－543599(P2001－543599)

(86)(22)出願日　平成12年12月4日(2000.12.4)
(85)翻訳文提出日　平成14年6月6日(2002.6.6)
(86)国際出願番号　PCT/US00/32940
(87)国際公開番号　WO01/042304
(87)国際公開日　平成13年6月14日(2001.6.14)
(31)優先権主張番号　60/170,191
(32)優先日　平成11年12月10日(1999.12.10)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/188,053
(32)優先日　平成12年3月9日(2000.3.9)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　アムジェン　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア　91320，
サウザンド　オークス，ワン　アムジェン　センター　ドライブ
(72)発明者　サリス，　クリスティアーン　エム．
アメリカ合衆国　カリフォルニア　91320，
ニューベリー　パーク，コロネット　プレイス　4027
(72)発明者　ジレス，　ジェニファー
アメリカ合衆国　カリフォルニア　91320，
ニューベリー　パーク，シャルロット　ストリート　3031
(74)代理人　弁理士　山本　秀策　（外２名）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】　インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト関連分子およびその使用

(57)【要約】
本発明は、新規インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト関連（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ）ポリペプチドおよびこれをコードする核酸分子を提供する。本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するための、選択的結合因子、ベクター、宿主細胞、および方法を提供する。本発明はさらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに関連する疾患、障害、および状態の、診断、処置、改善、および／または予防のための、薬学的組成物および方法を提供する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト動物がまた、本発明に含まれる。

【特許請求の範囲】

【請求項１】　単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列；

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列；

（ｃ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；

（ｄ）（ａ）～（ｃ）のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および

（ｅ）（ａ）～（ｃ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項２】　単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドに少なくとも約７０％同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、または（ａ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、（ａ）または（ｂ）の領域であって、ここで、該ポリペプチドフラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域；

（ｄ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号１、配

列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、または（ａ）～（ｃ）いずれかの領域；

（ｅ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｄ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｆ）（ａ）～（ｄ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項３】　単離された核酸分子であって、以下；

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末

端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｆ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む（ａ）～（ｅ）のいずれかのヌクレオチド配列；

（ｇ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｆ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｈ）（ａ）～（ｅ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項４】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかに記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項５】　請求項４に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項６】　真核生物細胞である、請求項５に記載の宿主細胞。

【請求項７】　原核生物細胞である、請求項５に記載の宿主細胞。

【請求項８】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するためのプロセスであって、該ポリペプチドを発現するために適切な条件下で請求項５に記載の宿主細胞を培養する工程、および必要に応じて、該培養物から該ポリペプチドを単離する工程を包含する、プロセス。

【請求項９】　請求項８に記載のプロセスによって産生される、ポリペプチド。

【請求項１０】　請求項８に記載のプロセスであって、ここで、前記核酸分子が、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡに作動可能に連結された、ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対するプロモーターＤＮＡ以外のプロモーターＤＮＡを含む、プロセス。

【請求項１１】　請求項２に記載の単離された核酸分子であって、ここで、前記パーセント同一性は、ＧＡＰ、ＢＬＡＳＴＮ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＸ、ＢｅｓｔＦｉｔ、およびＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリ

ズムからなる群より選択されるコンピュータープログラムを用いて決定される、単離された核酸分子。

【請求項１２】　化合物がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を阻害するか否かを決定するためのプロセスであって、請求項５、請求項６、または請求項７のいずれかに記載の細胞を該化合物に曝露する工程、および該細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を測定する工程を包含する、プロセス。

【請求項１３】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列；および

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１４】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのオルソログに対するアミノ酸配列；

（ｂ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約７０％同一であるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基を含む配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列のフラグメントであって、ここで、該フラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、フラグメント；ならびに

（ｄ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、（ａ）、または（ｂ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１５】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１６】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれか

に示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチド。

【請求項１７】　請求項１４に記載の単離されたポリペプチドであって、ここで、前記パーセント同一性は、ＧＡＰ、ＢＬＡＳＴＰ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＸ、ＢｅｓｔＦｉｔ、およびＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムからなる群より選択されるコンピュータープログラムを用いて決定される、単離されたポリペプチド。

【請求項１８】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、または請求項５６のいずれかに記載のポリペプチドに特異的に結合する、選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項１９】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはそのフラグメントに特異的に結合する、請求項１８に記載の選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項２０】　抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２１】　ヒト化抗体である、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２２】　ヒト抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２３】　ポリクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２４】　モノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２５】　キメラ抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２６】　ＣＤＲ移植抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２７】　抗イディオタイプ抗体またはそのフラグメントである、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項２８】　可変領域フラグメントである、請求項１８記載の選択的結

合因子。

【請求項２９】　ＦａｂフラグメントまたはＦａｂ’フラグメントである、請求項２８に記載の可変領域フラグメント。

【請求項３０】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を有するポリペプチドに特異性を有する少なくとも１つの相補性決定領域を含む、選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項３１】　検出可能標識に結合される、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項３２】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性を拮抗する、請求項１８に記載の選択的結合因子。

【請求項３３】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド関連の疾患、状態、または障害を、処置、予防、または改善するための方法であって、有効量の請求項１８に記載の選択的結合因子を患者に投与する工程を包含する、方法。

【請求項３４】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドで動物を免疫することによって産生される、選択的結合因子。

【請求項３５】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかに記載のポリペプチドを結合し得る選択的結合因子を産生する、ハイブリドーマ。

【請求項３６】　請求項１８に記載の抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体またはフラグメントを用いて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量を検出または定量する方法。

【請求項３７】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、または請求項５６のいずれかのポリペプチド、および薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項３８】　前記薬学的に受容可能な処方剤が、キャリア、アジュバント、溶解剤、安定剤、または抗酸化剤である、請求項３７に記載の組成物。

【請求項３９】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、または請求項５６のいずれかのポリペプチドの誘導体を含む、ポリペプチド。

【請求項４０】　水溶性ポリマーを用いて共有結合的に改変された、請求項

３９に記載のポリペプチド。

【請求項４１】　請求項４０に記載のポリペプチドであって、ここで、前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール、モノメトキシポリエチレングリコール、デキストラン、セルロース、ポリ－（Ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、およびポリビニルアルコールからなる群より選択される、ポリペプチド。

【請求項４２】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかの核酸分子および薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項４３】　前記核酸分子が、ウイルスベクター中に含まれる、請求項４２に記載の組成物。

【請求項４４】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかの核酸分子を含む、ウイルスベクター。

【請求項４５】　異種アミノ酸配列に融合された、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、または請求項５６のいずれかのポリペプチドを含む、融合ポリペプチド。

【請求項４６】　前記異種アミノ酸配列が、ＩｇＧ定常ドメインまたはそのフラグメントである、請求項４５に記載の融合ポリペプチド。

【請求項４７】　医学状態を、処置、予防、または改善するための方法であって、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、もしくは請求項５６のいずれかのポリペプチド、または請求項１、請求項２、もしくは請求項３のいずれかの核酸によってコードされるポリペプチドを患者に投与する工程を包含する、方法。

【請求項４８】　被験体において病的状態または病的状態に対する感受性を診断する方法であって、以下：

（ａ）サンプル中の、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、もしくは請求項５６のいずれかのポリペプチド、または請求項１、請求項２、もしくは請求項３のいずれかの核酸によってコードされるポリペプチドの、発現の存在または発現量を決定する工程；および

（ｂ）該ポリペプチドの発現の存在または発現量に基づいて、病的状態または病的状態に対する感受性を診断する工程、
を包含する、方法。

【請求項４９】　デバイスであって、以下：

（ａ）移植に適した膜；および

（ｂ）該膜内にカプセル化された細胞であって、該細胞は、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、もしくは請求項５６のいずれかのタンパク質を分泌する、細胞；
を備え、

該膜は、該タンパク質に対して透過性であり、そして該細胞に有害な物質に対して不透過性である、デバイス。

【請求項５０】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する化合物を同定する方法であって、以下：

（ａ）請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項５５、もしくは請求項５６のいずれかのポリペプチドを、化合物と接触させる工程；および

（ｂ）該化合物に対する該ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合の程度を決定する工程、
を包含する、方法。

【請求項５１】　前記化合物に結合した場合に、前記ポリペプチドの活性を決定する工程をさらに包含する、請求項５０に記載の方法。

【請求項５２】　動物においてポリペプチドのレベルを調節する方法であって、請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子を該動物に投与する工程を包含する、方法。

【請求項５３】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子を含む、トランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【請求項５４】　化合物がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を阻害するか否かを決定するためのプロセスであって、請求項５３に記載のトランスジェニック哺乳動物を該化合物に曝露する工程、および該哺乳動物におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１

ｒａ－Ｒポリペプチド産生を測定する工程を包含する、プロセス。

【請求項５５】　単離されたポリペプチドであって、以下：２位のアルギニン；３位のアラニン、リジン、またはアルギニン；７位のセリン；８位のリジン；９位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；１０位のシステインまたはフェニルアラニン；１３位のアルギニンまたはトリプトファン；１５位のセリン；１８位のアルギニン；１９位のセリンまたはトレオニン；２１位のトレオニン；２３位のセリン；３４位のアルギニン；３７位のチロシン、セリン、またはアルギニン；３８位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；４１位のトレオニン；４３位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；４４位のアラニン；４８位のセリンまたはリジン；５２位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；５３位のセリン；５４位のセリン；５８位のアラニンまたはチロシン；６５位のリジン；６６位のフェニルアラニン；６７位のチロシン；６９位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；７３位のリジンまたはセリン；７８位のトレオニンまたはアルギニン；９０位のセリンまたはアラニン；９１位のアラニン；９６位のセリン；９７位のリジンまたはアルギニン；９８位のリジンまたはセリン；１００位のアラニン；１０２位のチロシン；１０４位のアルギニンまたはアラニン；１０５位のリジン；１０６位のトレオニン；１０８位のアルギニン；１０９位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１１０位のトレオニンまたはセリン；１１１位のセリン；１１４位のセリン；１１６位のセリン；１１７位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１２１位のチロシン；１２３位のセリンまたはアラニン；１２６位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１３６位のセリン；１３８位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１４１位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１４２位のリジンまたはチロシン；１４３位のトリプトファンまたはトレオニン；１４５位のアラニン；１４７位のトレオニンまたはセリン；１５１位のシステイン；および１５２位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号１または配列番号３のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４

、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、
単離されたポリペプチド。

【請求項５６】単離されたポリペプチドであって、以下：
２１位のアルギニン；２２位のアラニン、リジン、またはアルギニン；２６位のセリン；２７位のリジン；２８位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；２９位のシステインまたはフェニルアラニン；３２位のアルギニンまたはトリプトファン；３４位のセリン；３７位のアルギニン；３８位のセリンまたはトレオニン；４０位のトレオニン；４２位のセリン；５３位のアルギニン；５６位のチロシン、セリン、またはアルギニン；５７位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；６０位のトレオニン；６２位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；６３位のアラニン；６７位のセリンまたはリジン；７１位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；７２位のセリン；７３位のセリン；７７位のアラニンまたはチロシン；８４位のリジン；８５位のフェニルアラニン；８６位のチロシン；８８位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；９２位のリジンまたはセリン；９７位のトレオニンまたはアルギニン；１０９位のセリンまたはアラニン；１１０位のアラニン；１１５位のセリン；１１６位のリジンまたはアルギニン；１１７位のリジンまたはセリン；１１９位のアラニン；１２１位のチロシン；１２３位のアルギニンまたはアラニン；１２４位のリジン；１２５位のトレオニン；１２７位のアルギニン；１２８位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１２９位のトレオニンまたはセリン；１３０位のセリン；１３３位のセリン；１３５位のセリン；１３６位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１４０位のチロシン；１４２位のセリンまたはアラニン；１４５位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１５５位のセリン；１５７位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１６０位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１６１位のリジンまたはチロシン；１６２位のトリプトファンまたはトレオニン；１６４位のアラニン；１６６位のトレオニンまたはセリン；１７０位のシステイン；および１７１位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリ

ペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、
単離されたポリペプチド。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

（発明の分野）

本発明は、新規インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト関連（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ）ポリペプチドおよびこれをコードする核酸分子に関する。本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するための、選択的結合因子、ベクター、宿主細胞および方法に関する。本発明はさらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと関連する疾患、障害、および状態の、診断、処置、改善、および／または予防のための薬学的組成物および方法に関する。

【０００２】

（発明の背景）

核酸分子の同定、クローニング、発現、および操作における技術進歩ならびにヒトゲノムの解読は、新規治療因子の発見を大きく加速した。現在、高速核酸配列決定技術は、前例のない速度で配列情報を作製し得、そしてコンピュータ分析と結合されて、ゲノムの一部および全体への重複配列の集合ならびにポリペプチドコード領域の同定を可能にする。既知アミノ酸配列のデータベース編集物に対する推定アミノ酸配列の比較は、以前に同定された配列および／または構造の目印に対して相同性の程度を決定することを可能にする。核酸分子のポリペプチドコード領域のクローニングおよび発現は、構造分析および機能分析のためのポリペプチド産物を提供する。核酸分子およびコードされるポリペプチドの操作は、治療剤としての使用に関して生成物に対して有利な特性を与え得る。

【０００３】

過去１０年間にわたるゲノム研究における有意な技術進歩にも関わらず、ヒトゲノムに基づく新規治療剤の開発に対する可能性は、未だ広く理解されていない。潜在的に有利なポリペプチド治療剤をコードする多くの遺伝子またはこれらがコードするポリペプチド（これらは、治療分子に対して「標的」としてはたらき得る）は、未だ同定されていない。

【０００４】

従って、診断的な利点または治療的な利点を有する、新規ポリペプチドおよび

これらをコードする核酸分子を同定することが、本発明の目的である。

【０００５】

これまでに発見された最も強力な炎症性サイトカインのうちの１つは、インターロイキン－１（ＩＬ－１）である。ＩＬ－１は、多くの疾患および医学状態に関与すると考えられている。ＩＬ－１は、マクロファージ／単球系統の細胞によって（排他的にではないが）産生され、そして２つの形態：ＩＬ－１アルファ（ＩＬ－１α）およびＩＬ－１ベータ（ＩＬ－１β）で産生され得る。インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａ）は、インターロイキン－１の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。

【０００６】

（発明の要旨）

本発明は、新規ＩＬ－１ｒａ－Ｒの核酸分子およびコードされるポリペプチドに関する。

【０００７】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：）１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列；

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列；

（ｃ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；

（ｄ）（ａ）～（ｃ）のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および

（ｅ）（ａ）～（ｃ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【０００８】

本発明はまた、単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれか

に示されるポリペプチドに少なくとも約７０％同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、または（ａ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、（ａ）または（ｂ）の領域であって、ここで、上記ポリペプチドフラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域；

（ｄ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、または（ａ）～（ｃ）いずれかの領域；

（ｅ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｄ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｆ）（ａ）～（ｄ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【０００９】

本発明はさらに、単離された核酸分子であって、以下；

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配

列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｆ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む（ａ）～（ｅ）のいずれかのヌクレオチド配列；

（ｇ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｆ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｈ）（ａ）～（ｅ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供

する。

【００１０】

本発明は、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列；および

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１１】

本発明はまた、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのオルソログ（ｏｒｔｈｏｌｏｇ）に対するアミノ酸配列；

（ｂ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約７０％同一であるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基を含む配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列のフラグメントであって、ここで、上記フラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、フラグメント；ならびに

（ｄ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、（ａ）、または（ｂ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１２】

本発明はさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１３】

本発明はなおさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：

２位のアルギニン；３位のアラニン、リジン、またはアルギニン；７位のセリン；８位のリジン；９位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；１０位のシステインまたはフェニルアラニン；１３位のアルギニンまたはトリプトファン；１５位のセリン；１８位のアルギニン；１９位のセリンまたはトレオニン；２１位のトレオニン；２３位のセリン；３４位のアルギニン；３７位のチロシン、セリン、またはアルギニン；３８位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；４１位のトレオニン；４３位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；４４位のアラニン；４８位のセリンまたはリジン；５２位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；５３位のセリン；５４位のセリン；５８位のアラニンまたはチロシン；６５位のリジン；６６位のフェニルアラニン；６７位のチロシン；６９位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；７３位のリジンまたはセリン；７８位のトレオニンまたはアルギニン；９０位のセリンまたはアラニン；９１位のアラニン；９６位のセリン；９７位のリジンまたはアルギニン；９８位のリジンまたはセリン；１００位のアラニン；１０２位のチロシン；１０４位のアルギニンまたはアラニン；１０５位のリジン；１０６位のトレオニン；１０８位のアルギニン；１０９位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１１０位のトレオニンまたはセリン；１１１位のセリン；１１４位のセリン；１１６位のセリン；１１７位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１２１位のチロシン；１２３位のセリンまたはアラニン；１２６位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１３６位のセリン；１３８位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１４１位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１４２位のリジンまたはチロシン；１４３位のトリプトファンまたはトレオニン；１４５位のアラニン；１４７位のトレオニンまたはセリン；１５１位のシステイン；および１５２位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号１または配列番号３のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１４】

本発明はなおさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：２１位のアルギニン；２２位のアラニン、リジン、またはアルギニン；２６位のセリン；２７位のリジン；２８位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；２９位のシステインまたはフェニルアラニン；３２位のアルギニンまたはトリプトファン；３４位のセリン；３７位のアルギニン；３８位のセリンまたはトレオニン；４０位のトレオニン；４２位のセリン；５３位のアルギニン；５６位のチロシン、セリン、またはアルギニン；５７位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；６０位のトレオニン；６２位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；６３位のアラニン；６７位のセリンまたはリジン；７１位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；７２位のセリン；７３位のセリン；７７位のアラニンまたはチロシン；８４位のリジン；８５位のフェニルアラニン；８６位のチロシン；８８位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；９２位のリジンまたはセリン；９７位のトレオニンまたはアルギニン；１０９位のセリンまたはアラニン；１１０位のアラニン；１１５位のセリン；１１６位のリジンまたはアルギニン；１１７位のリジンまたはセリン；１１９位のアラニン；１２１位のチロシン；１２３位のアルギニンまたはアラニン；１２４位のリジン；１２５位のトレオニン；１２７位のアルギニン；１２８位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１２９位のトレオニンまたはセリン；１３０位のセリン；１３３位のセリン；１３５位のセリン；１３６位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１４０位のチロシン；１４２位のセリンまたはアラニン；１４５位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１５５位のセリン；１５７位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１６０位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１６１位のリジンまたはチロシン；１６２位のトリプトファンまたはトレオニン；１６４位のアラニン；１６６位のトレオニンまたはセリン；１７０位のシステイン；および１７１位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、また

は配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒアミノ酸配列を含む融合ポリペプチドがまた、提供される。

【００１６】

本発明はまた、本明細書中に示されるような単離された核酸分子を含む発現ベクター、本明細書中に示されるような組換え核酸分子を含む組換え宿主細胞、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する方法を提供し、この方法は、この宿主細胞を培養する工程、必要に応じてそのように産生されたポリペプチドを単離する工程を包含する。

【００１７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト動物がまた、本発明に含まれる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの増加したレベル（これは、増加した循環レベルを含み得る）を可能にする様式で、動物中に導入される。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、内因性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を阻害する様式で動物に導入される（すなわち、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子ノックアウトを保有するトランスジェニック動物を作製する）。トランスジェニック非ヒト動物は、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはげっ歯類（例えば、ラットまたはマウス）である。

【００１８】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの誘導体がまた、提供される。

【００１９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的に結合し得る選択的結合因子（例えば、抗体およびペプチド）が、さらに提供される。このような抗体およびペプチドは、アゴニストのものであってもアンタゴニストのものであってもよい。

【００２０】

本発明のヌクレオチド、ポリペプチド、もしくは選択的結合因子ならびに１つ

以上の薬学的に受容可能な処方剤を含む薬学的組成物がまた、本発明によって含まれる。薬学的組成物は、治療有効量の本発明のヌクレオチドまたはポリペプチドを提供するために使用される。本発明はまた、このポリペプチド、核酸分子、および選択的結合因子を使用する方法に関する。

【００２１】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドおよびｉｌ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、疾患および障害（本明細書中に列挙されるものを含む）を処置、予防、改善、および／または検出するための使用され得る。

【００２２】

本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する試験分子を同定するために、試験分子をアッセイする方法を提供する。この方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを試験分子と接触させて、この試験分子のこのポリペプチドに対する結合の程度を決定する工程を包含する。この方法はさらに、このような試験分子が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストであるか否かを決定する工程を包含する。本発明はさらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの活性に対する分子の影響を試験する方法を提供する。

【００２３】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調整する方法およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのレベル（すなわち、増加したレベルまたは減少したレベル）を調節する方法がまた、本発明によって含まれる。１つの方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子を動物に投与する工程を包含する。別の方法において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調整または調節するエレメントを含む核酸分子が、投与され得る。これらの方法の例としては、本明細書中にさらに記載されるように、遺伝子治療、細胞治療、およびアンチセンス治療が挙げられる。

【００２４】

本発明の別の局面において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、そのレセプター（「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター」）を同定するために使用され

得る。種々の形態の「発現クローニング」は、タンパク質リガンドに対するレセプターをクローン化するために広範囲に使用されている。例えば、Ｓｉｍｏｎｓｅｎおよびｌｏｄｉｓｈ、１９９４、Ｔｒｅｎｄｓ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｃｉ．１５：４３７－４１ならびにＴａｒｔａｇｌｉａら、１９９５、Ｃｅｌｌ８３：１２６３－７１を参照のこと。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターの単離は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル伝達経路の新規アゴニストおよびアンタゴニストの同定または開発に有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター－選択的結合因子（例えば、抗体またはその誘導体）、小分子、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられ、これらのうちのいずれかは、１つ以上の疾患または障害（本明細書中に開示されるものを含む）の処置に有用であり得る。

【００２５】

（発明の詳細な説明）

本明細書中で使用される節の表題は、組織的な目的のみのためであり、そして記載される内容を限定するようには解釈されるべきではない。本願において列挙される全ての参考文献は、明確に本明細書中に参考として援用される。

【００２６】

（定義）

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子」または「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子」あるいは「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリヌクレオチド」とは、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３におけるＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、および本明細書中で定義される核酸分子を含むか、またはこれらからなる核酸分子をいう。

【００２７】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体」とは、生物体または生物体の集団の染色体の所定の遺伝子座を占める遺伝子の、天然に存在する可能

ないくつかの交替形態のうちの１つをいう。

【００２８】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアミノ酸配列のＲＮＡ転写物中のイントロン配列の代替プロセシングによって生成される、核酸分子（通常はＲＮＡ）をいう。

【００２９】

用語「単離された核酸分子」とは、（１）総核酸が供給源細胞から単離される場合に、これが天然で一緒に見出されるタンパク質、脂質、炭水化物、または他の物質のうち少なくとも約５０パーセントから分離された本発明の核酸分子、（２）「単離された核酸分子」が天然で連結しているポリヌクレオチドの全てまたは一部に連結していない本発明の核酸分子、（３）天然では連結しないポリヌクレオチドに作動可能に連結した本発明の核酸分子、または（４）より大きなポリヌクレオチド配列の一部として天然には存在しない、本発明の核酸分子をいう。好ましくは、本発明の単離された核酸分子は、任意の他の混入核酸分子、または天然の環境において見出される他の混入物（これらは、ポリペプチド産生における使用、または治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用に干渉する）を実質的に含まない。

【００３０】

用語「核酸配列」または「核酸分子」は、ＤＮＡまたはＲＮＡ配列をいう。この用語は、ＤＮＡおよびＲＮＡの公知の塩基アナログのいずれかから形成される分子を含み、例えば、以下であるがこれらに限定されない：４－アセチルシトシン、８－ヒドロキシ－Ｎ６－メチルアデノシン、アジリジニル－シトシン、プソイドイソシトシン（ｐｓｅｕｄｏｉｓｏｃｙｔｏｓｉｎｅ）、５－（カルボキシヒドロキシルメチル）ウラシル、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、Ｎ６－イソ－ペンテニルアデニン、１－メチルアデニン、１－メチルプソイドウラシル、１－メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、

２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－エチルアミノメチルウラシル、５－メトキシアミノ－メチル－２－チオウラシル、β－Ｄ－マンノシルキューオシン、５’－メトキシカルボニル－メチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、オキシブトキソシン、プソイドウラシル、キューオシン、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、Ｎ－ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、プソイドウラシル、キューオシン、２－チオシトシン、および２，６－ジアミノプリン。

【００３１】

用語「ベクター」は、宿主細胞にコード情報を移すために使用される任意の分子（例えば、核酸、プラスミド、またはウイルス）をいうように使用される。

【００３２】

用語「発現ベクター」は、宿主細胞の形質転換に適切であり、そして挿入された異種核酸配列の発現を、指向および／または制御する核酸配列を含むベクターをいう。発現としては、転写、翻訳、およびＲＮＡスプライシング（イントロンが存在する場合）のようなプロセスが挙げられるがこれらに限定されない。

【００３３】

用語「作動可能に連結された」は、本明細書中で、隣接配列の配置をいうように使用され、ここで、このように記載される隣接配列は、その通常の機能を行うように構成または構築される。従って、コード配列に作動可能に連結した隣接配列は、このコード配列の複製、転写および／または翻訳を行うことが可能であり得る。例えば、コード配列は、このプロモーターがコード配列の転写を指向し得る場合に、プロモーターに作動可能に連結される。隣接配列は、これが正確に機能する限り、コード配列と連続する必要はない。したがって、例えば、介在性非翻訳の、転写された配列は、プロモーター配列とコード配列との間に存在し得、そしてこのプロモーター配列は、依然としてこのコード配列に「作動可能に連結」されているとみなされ得る。

【００３４】

用語「宿主細胞」は、核酸配列で形質転換されたか、または形質転換され得、次いで目的の選択された遺伝子を発現し得る細胞をいうように使用される。この用語には、選択された遺伝子が存在する限り、子孫が形態学または遺伝子構造において本来の親と同一であろうとなかろうと、親細胞の子孫を含む。

【００３５】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド、および関連するポリペプチドをいう。関連ポリペプチドとしては、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体が挙げられ、これらは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの少なくとも１つの活性を保有する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、本明細書中で定義される成熟ポリペプチドであり得、そしてこれらが調製される方法に依存して、アミノ末端メチオニン残基を有しても有さなくてもよい。

【００３６】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）での短縮化および／またはカルボキシ末端での短縮化を含むポリペプチドをいう。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント」はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体のアミノ末端および／またはカルボキシ末端短縮化、あるいはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体によってコードされるポリペプチドのアミノ末端および／またはカルボキシ末端短縮化をいう。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメントは、選択的ＲＮＡスプライシング、またはインビボプロテアーゼ活性から生じ得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの膜結合形態もまた、本発明によって意図され

る。好ましい実施形態において、短縮化および／または欠失は、約１０アミノ酸、または約２０アミノ酸、または約５０アミノ酸、または約７５アミノ酸、または約１００アミノ酸、または約１００より多くのアミノ酸を含む。このように生成されるポリペプチドフラグメントは、約２５個連続したアミノ酸、または約５０アミノ酸、または約７５アミノ酸、または約１００アミノ酸、または約１２５アミノ酸を含む。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメントは、必要に応じて、アミノ末端メチオニン残基を含み得る。このようなフラグメントは、例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する抗体を生成するために使用され得ることが理解される。

【００３７】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアミノ酸配列に対応する、別の種由来のポリペプチドをいう。例えば、マウスおよびヒトのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、互いにオルソログであるとみなされる。

【００３８】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６（リーダー配列を有するかまたは有さない）のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアミノ酸配列と比較して、１つ以上のアミノ酸配列の置換、欠失（例えば、内部欠失および／またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント）、および／または付加（例えば、内部付加および／またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド）を有するアミノ酸配列を含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。改変体は、天然に存在する（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体）か、または、人工的に構築され得る。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体は、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるＤＮＡ配列から変化するＤＮＡ配列を有する、対応する核酸分子から調製され得る。好ましい実施形態において、この改変体は、１～３、または１～５、ま

たは１～１０、または１～１５、または１～２０、または１～２５、または１～５０、または１～７５、または１～１００、または１００より多くのアミノ酸の置換、挿入、付加、および／または欠失を有し、ここで、この置換は、保存的、または非保存的、あるいはその任意の組み合わせであり得る。

【００３９】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチド、本明細書中で定義されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体をいい、これらは、化学的に改変されている。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体」はまた、本明細書中で定義されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体によってコードされるポリペプチドをいい、これは化学的に改変されている。

【００４０】

用語「成熟ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」は、リーダー配列を欠失したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。成熟ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、他の改変（例えば、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）および／またはカルボキシ末端のタンパク質分解性プロセシング、より大きな前駆体からのより小さなポリペプチドの切断、Ｎ連結および／またはＯ連結グリコシル化など）を含み得る。

【００４１】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチド、本明細書中で定義されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ誘導体のアミノ末端またはカルボキシ末端での、１つ以上のアミノ酸の融合（例えば、異種タンパク質またはペプチド）をいう。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド」はまた、本明細書中で定義されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体

によってコードされるポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端での、１つ以上のアミノ酸の融合をいう。

【００４２】

用語「生物学的に活性なＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドの、少なくとも１つの活性特徴を有するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、免疫原としての活性を有し得る；すなわち、このＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも１つのエピトープを含む。

【００４３】

用語「単離されたポリペプチド」とは、（１）供給源細胞から単離される場合に、天然で一緒に見出されるポリペプチド、脂質、炭水化物、または他の物質の少なくとも約５０％から単離された本発明のポリペプチド、（２）「単離されたポリペプチド」が天然で連結するポリペプチドの全てまたは一部に連結しない（共有結合的または非共有結合的相互作用によって）、本発明のポリペプチド、（３）天然には連結しないポリペプチドに作動可能に連結（共有結合的または非共有結合的相互作用によって）する、本発明のポリペプチド、または（４）天然には存在しない本発明のポリペプチドをいう。好ましくは、この単離されたポリペプチドは、任意の他の混入ポリペプチドまたは天然の環境において見出される他の混入物（これは、その治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用に干渉する）を実質的に含まない。

【００４４】

用語「同一性」とは、当該分野で公知のように、配列の比較によって決定される、２つ以上のポリペプチド分子または２つ以上の核酸分子の配列間の関係をいう。当該分野において、「同一性」はまた、場合に応じて、２つ以上のヌクレオチドまたは２つ以上のアミノ酸配列間の一致によって決定されるように、核酸分子またはポリペプチド間の配列関連性の程度を意味する。「同一性」は、２つ以上の配列のうち小さなものと、特定の数理的モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち、「アルゴリズム」）によって焦点をあてられたギャップ整列（存

在する場合）との間の一致の同一パーセントを評価する。

【００４５】

用語「相同性」は、概念に関するが、「同一性」とは対照的に、「相同性」は、同一的一致および保存的置換の一致の両方を含む関連性の基準をいう。２つのポリペプチド配列が、例えば１０／２０個同一のアミノ酸を有し、そして残りが全て非保存的置換である場合、パーセント同一性および相同性は、どちらも５０％である。同じ例において、保存的置換であるさらに５つの位置が存在する場合、パーセント同一性は５０％のままであるが、パーセント相同性は７５％（１５／２０）である。したがって、保存的置換が存在する場合、２つのポリペプチド間のパーセント相同性は、これらの２つのポリペプチド間のパーセント同一性よりも高い。

【００４６】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的材料と関連して使用される場合、天然において見出され、そしてヒトによって操作されていない材料をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成された材料をいう。

【００４７】

用語「有効量」および「治療有効量」は、各々、本明細書中に示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの１つ以上の生物学的活性の観察可能なレベルを支持するために使用されるＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の量をいう。

【００４８】

用語「薬学的に受容可能なキャリア」または「生理学的に受容可能なキャリア」は、本明細書中で使用される場合、薬学的組成物としてのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ選択的結合因子の送達の達成または増強に適切な１つ以上の処方材料をいう。

【００４９】

用語「抗原」とは、選択的結合因子（例えば、抗体）により結合され得、そしてさらに動物において使用されて、その抗原のエピトープに結合し得る抗体を産生じ得る分子または分子の一部をいう。抗原は、１つ以上のエピトープを有し得る。

【００５０】

用語「選択的結合因子」とは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異性を有する分子（単数または複数）をいう。本明細書中で使用される場合、用語「特異的」および「特異性」とは、選択的結合因子の、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合し、かつ非ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合しない能力をいう。しかし、選択的結合因子がまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載されるようなポリペプチドのオルソログ（すなわち、その種間変形（例えば、マウスＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドおよびラットＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド））に結合し得ることが、理解される。

【００５１】

用語「形質導入」とは、通常はファージによる１つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいう。「形質導入」はまた、レトロウイルスによる真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【００５２】

用語「トランスフェクション」は、細胞による異種または外因性ＤＮＡの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性ＤＮＡが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクトされ」ている。多数のトランスフェクション技術は、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、Ｇｒａｈａｍら，１９７３，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　５２：４５６；Ｓａｍｂｒｏｏｋら，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，１９８９）；Ｄａｖｉｓら，Ｂａｓｉｃ　Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，１９８６）；ａｎｄ　Ｃｈｕら，１９８１，Ｇｅｎｅ　１３：１９７を参照のこと。このような技術を使用して、１つ以上の外因性ＤＮＡ部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【００５３】

本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」とは、細胞の遺伝的特徴における変化をいい、そして細胞は、新しいＤＮＡを含有するように改変された場合に形質転換されている。例えば、細胞は、それがそのネイティブな状態から遺伝的に改変される場合に形質転換される。トランスフェクションまたは形質導入に続いて、ＤＮＡの形質転換は、物理的に細胞の染色体に組み込むことにより細胞のＤＮＡと組換わり得るか、複製されることなしにエピソームエレメントとして一時的に維持され得るか、またはプラスミドとして独立的に複製し得る。ＤＮＡが細胞分裂と共に複製される場合に、細胞は、安定に形質転換されたとみなされる。

【００５４】

（核酸分子および／またはポリペプチドの関連性）

関連した核酸分子が、配列番号１、配列番号３、配列番号５または配列番号３５のいずれかの核酸分子の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体を包含すること、および上記のヌクレオチド配列のいずれかに相補的である配列を包含することが理解される。関連した核酸分子はまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかにおけるポリペプチドと比較して１以上のアミノ酸残基の置換、改変、付加および／または欠失を含むかまたは本質的にこれからなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を包含する。このような関連したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、例えば、１以上のN結合型もしくはO結合型のグリコシル化部位の付加および／もしくは欠失、または１以上のシステイン残基の付加および／もしくは欠失を含み得る。

【００５５】

関連した核酸分子はまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも約２５個連続したアミノ酸、または少なくとも約５０個のアミノ酸、または少なくとも約７５個のアミノ酸、または少なくとも約１００個のアミノ酸、または少なくとも約１２５個のアミノ酸、または１２５個より多くのアミノ酸残基のポリペプチドをコードする、ＩＬ－１ｒａ－R核酸分子のフラグメントを包含する。

【００５６】

さらに、関連したＩＬ－１ｒａ－R核酸分子はまた、本明細書中で定義したとおりの中程度または高度にストリンジェントな条件下で、配列番号１、配列番号３、配列番号５もしくは配列番号３５のいずれかのＩＬ－１ｒａ－R核酸分子またはポリペプチドをコードする分子の十分に相補的な配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む分子を包含し、このポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６、または本明細書中に定義したとおりの核酸フラグメント、または本明細書中に定義したとおりのポリペプチドをコードする核酸フラグメントのいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。ハイブリダイゼーションプローブは、本明細書中に提供されるＩＬ－１ｒａ－R配列を用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡライブラリーまたは合成ＤＮＡライブラリーを関連した配列についてスクリーニングして調製され得る。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの ＤＮＡ配列および／またはアミノ酸配列のうちの、既知配列に対して顕著な同一性を示す領域は、本明細書中に記載されるとおりの配列アラインメントアルゴリズムを用いて容易に決定され、そしてこれらの領域を用いて、スクリーニングのためのプローブを設計し得る。

【００５７】

用語「高度にストリンジェントな条件」とは、配列が非常に相補的であるＤＮＡ鎖のハイブリダイゼーションを許容し、かつ顕著に不一致のＤＮＡのハイブリダイゼーションを排除するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、温度、イオン強度および変性剤（例えば、ホルムアミド）の濃度によって主に決定される。ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての「高度にストリンジェントな条件」の例は、６５～６８℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムまたは４２℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムおよび５０％ホルムアミドである。Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｆｒｉｔｓｃｈおよび Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（第2版，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，１９８９）；Ａｎｄｅｒｓｏｎら，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｓ

ａｔｉｏｎ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ第４章（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ Ｌｉｍｉｔｅｄ）を参照のこと。

【００５８】

よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミドまたは他の変性剤）もまた用いられ得るが、ハイブリダイゼーションの速度が影響される。他の薬剤は、非特異的および／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少させる目的のために、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の緩衝液中に含まれ得る。例は、０．１％ウシ血清アルブミン、０．１％ポリビニルピロリドン、０．１％ピロリン酸ナトリウム、０．１％ドデシル硫酸ナトリウム、ＮａＤｏｄＳＯ$_4$、（ＳＤＳ）、ｆｉｃｏｌｌ、デンハルト溶液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（または別の非相補的ＤＮＡ）およびデキストラン硫酸であるが、他の適切な薬剤もまた用いられ得る。これらの添加剤の濃度および種類は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は通常、ｐＨ６．８～７．４で実施される；しかし、代表的なイオン強度の条件では、ハイブリダイゼーションの速度は、ｐＨからほぼ独立する。Ａｎｄｅｒｓｏｎら，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｓａｔｉｏｎ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ第４章（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ Ｌｉｍｉｔｅｄ）を参照のこと。

【００５９】

ＤＮＡ二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基組成、長さおよび塩基対の不一致程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、これらの変動要因を適応させ、そして異なる配列関連性のＤＮＡがハイブリッドを形成するのを可能にするために当業者によって調整され得る。完全に一致したＤＮＡ二重鎖の融解温度は、以下の方程式によって評価され得る：

T_m（℃）＝８１．５＋１６．６（ｌｏｇ［Ｎａ＋］）＋０．４１（％Ｇ＋Ｃ）－６００／Ｎ－０．７２（％ホルムアミド）

ここで、Ｎは、形成される二重鎖の長さであり、［Ｎａ＋］は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中でのナトリウムイオンのモル濃度であり、％Ｇ＋

Ｃは、ハイブリッド中での（グアニン＋シトシン）塩基の百分率である。不完全に一致したハイブリッドについては、融解温度は、１％の不一致毎に約１℃下げられる。

【００６０】

用語「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するＤＮＡ二重鎖が形成され得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例は、５０～６５℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムまたは３７～５０℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムおよび２０％ホルムアミドである。例示として、０．０１５Mナトリウムイオン中での５０℃という「中程度にストリンジェントな条件」は、約２１％の不一致を可能にする。

【００６１】

「高度にストリンジェントな条件」と「中程度にストリンジェントな条件」との間に絶対的な区別が存在しないことが当業者によって認識される。例えば、０．０１５Mナトリウムイオン（ホルムアミドなし）では、完全に一致した長さのＤＮＡの融解温度は、約７１℃である。６５℃で（同じイオン強度で）の洗浄を用いると、このことは、約６％の不一致を可能にする。より遠く関連した配列を捕獲するために、当業者は、単純に、温度を低くし得るかまたはイオン強度を高くし得る。

【００６２】

約２０ｎｔまでのオリゴヌクレオチドプローブについての１Ｍ　ＮａＣｌ*中での融解温度の良好な評価は、以下によって与えられる：

Ｔｍ＝Ａ－Ｔ塩基対あたり２℃　＋　Ｇ－Ｃ塩基対あたり４℃

*６×塩クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中でのナトリウムイオン濃度は、１Mである。Ｓｕｇｇｓら，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔａｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　Ｕｓｉｎｇ　Ｐｕｒｉｆｉｅｄ　Ｇｅｎｅｓ　６８３（ＢｒｏｗｎおよびＦｏｘ編，１９８１）を参照のこと。

【００６３】

オリゴヌクレオチドについての高度ストリンジェンシー洗浄条件は通常、６×ＳＳＣ、０．１％　ＳＤＳ中でのそのオリゴヌクレオチドのＴｍよりも０℃～５℃低い温度においてである。

【００６４】

別の実施形態では、関連した核酸分子は、配列番号１、配列番号３、配列番号５もしくは配列番号３５のいずれかに示されるとおりのヌクレオチド配列に対して少なくとも約７０パーセント同一であるヌクレオチド配列を含むかもしくはこれからなるか、または配列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６のいずれかに示すとおりのポリペプチドに対して少なくとも約７０パーセント同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくは本質的にこれからなる。好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約７５パーセント、もしくは約８０パーセント、もしくは約８５パーセント、もしくは約９０パーセント、もしくは約９５、９６、９７、９８、もしくは９９パーセント同一であるか、またはヌクレオチド配列は、配列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６のいずれかに示されるとおりのポリペプチド配列に対して約７５パーセント、もしくは約８０パーセント、もしくは約８５パーセント、もしくは約９０パーセント、もしくは約９５、９６、９７、９８、もしくは９９パーセント同一であるポリペプチドをコードする。関連した核酸分子は、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの少なくとも１つの活性を保有するポリペプチドをコードする。

【００６５】

核酸配列における相違は、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列と比較して、アミノ酸配列の保存的および／または非保存的改変をもたらし得る。

【００６６】

配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列に対する保存的改変（およびコードするヌクレオチドに対する、対応する

改変）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能的特徴および化学的特徴と類似の機能的特徴および化学的特徴を有するポリペプチドを生じる。対照的に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能的特徴および／または化学的特徴における実質的な改変は、以下を維持することに対するその影響が顕著に異なる、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列における置換を選択することによって達成され得る：（ａ）例えば、シートもしくはヘリックスコンホメーションのような、置換領域における分子骨格の構造、（ｂ）標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または（ｃ）側鎖のかさ。

【００６７】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は、その位置でのアミノ酸残基の極性にも電荷にもほとんどまたは全く影響がないような、標準的残基によるネイティブなアミノ酸残基の置換を含み得る。さらに、ポリペプチド中の任意のネイティブな残基はまた、「アラニンスキャニング変異誘発」について以前に記載されたように、アラニンによって置換され得る。

【００６８】

保存的アミノ酸置換はまた、生物学的系における合成によるよりむしろ、化学的なペプチド合成によって代表的に組み込まれる、天然には存在しないアミノ酸残基を含む。これらとしては、ペプチド模倣物、およびアミノ酸部分の他の逆転形態または反転形態が挙げられる。

【００６９】

天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて、複数のクラスに分割され得る：

１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；

２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ；

３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；

４）塩基性：Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；

５）鎖の配向に影響を与える残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；および

６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【００７０】

例えば、非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーの、別のクラス由来のメンバーに対する交換を包含し得る。このような置換された残基は、非ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相同なヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの領域またはこの分子の非相同領域に導入され得る。

【００７１】

このような変化を行う際に、アミノ酸のヒドロパシー指数が考慮され得る。各アミノ酸は、その疎水性および電荷特性に基づいて、ヒドロパシー指数を割り当てられている。ヒドロパシー指数は、以下である：イソロイシン（＋４．５）；バリン（＋４．２）；ロイシン（＋３．８）；フェニルアラニン（＋２．８）；システイン／シスチン（＋２．５）；メチオニン（＋１．９）；アラニン（＋１．８）；グリシン（－０．４）；スレオニン（－０．７）；セリン（－０．８）；トリプトファン（－０．９）；チロシン（－１．３）；プロリン（－１．６）；ヒスチジン（－３．２）；グルタミン酸（－３．５）；グルタミン（－３．５）；アスパラギン酸（－３．５）；アスパラギン（－３．５）；リジン（－３．９）；およびアルギニン（－４．５）。

【００７２】

タンパク質に対する相互作用的な生物学的機能を確認する際の、ヒドロパシーアミノ酸指数の重要性は、当該分野において一般的に理解されている（Ｋｙｔｅら、１９８２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－３１）。特定のアミノ酸が類似のヒドロパシー指数またはスコアを有する他のアミノ酸の代わりに使用され得、そして依然として類似の生物学的活性を維持し得ることが、公知である。ヒドロパシー指数に基づいて変化を起こす際に、ヒドロパシー指数が±２以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±１以内であるものが特に好ましく、そして±０．５以内であるものが、なおより特に好ましい。

【００７３】

類似のアミノ酸の置換が親水性に基づいて効果的になされ得る（特に、これによって作製された生物学的機能的に等価なタンパク質またはペプチドが、この場合においてと同様に、免疫学的実施形態における使用に関して考慮される場合）こともまた、当該分野において理解されている。タンパク質の最も大きな局所的

平均親水性は、その隣接するアミノ酸の親水性によって支配される場合に、その免疫原性および抗原性、すなわち、そのタンパク質の生物学的特性に相関する。

【００７４】

以下の親水性の値が、これらのアミノ酸残基に割り当てられた：アルギニン（＋３．０）；リジン（＋３．０）；アスパラギン酸（＋３．０±１）；グルタミン酸（＋３．０±１）；セリン（＋０．３）；アスパラギン（＋０．２）；グルタミン（＋０．２）；グリシン（０）；スレオニン（－０．４）；プロリン（－０．５±１）；アラニン（－０．５）；ヒスチジン（－０．５）；システイン（－１．０）；メチオニン（－１．３）；バリン（－１．５）；ロイシン（－１．８）；イソロイシン（－１．８）；チロシン（－２．３）；フェニルアラニン（－２．５）；およびトリプトファン（－３．４）。類似の親水性の値に基づいて変化を行う際に、親水性値が±２以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±１以内であるものが特に好ましく、そして±０．５以内であるものが、なおより特に好ましい。一次アミノ酸配列から、エピトープをまた、親水性に基づいて同定し得る。これらの領域はまた、「エピトープコア領域」と呼ばれる。

【００７５】

所望のアミノ酸置換（保存的であれ非保存的であれ）は、当業者によって、このような置換が所望される時点で決定され得る。例えば、アミノ酸置換を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの重要な残基を同定し得るか、または本明細書中に記載されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの親和性を増加もしくは減少させ得る。例示的なアミノ酸置換は、表Ｉに記載される。

【００７６】

【表１】

表 I

アミノ酸置換

もとの残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 ジアミノ酪酸、Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

当業者は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの適切な改変体を、周知の技術を使用して、決定し得

る。生物学的活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を同定するために、当業者は、活性のために重要であるとは考えられない領域を標的化し得る。例えば、同じ種由来かまたは他の種由来の、類似の活性を有する類似のポリペプチドが既知である場合には、当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列を、このような類似のポリペプチドと比較し得る。このような比較を用いて、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を同定し得る。このような類似のポリペプチドに対して保存されていない、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の領域における変化が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性および／または構造にさほど不利に影響を与えるようではないことが、理解される。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸を、活性を維持ながら天然に存在する残基と置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。従って、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利に影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供され得る。

【００７７】

さらに、当業者は、活性または構造のために重要である、類似のポリペプチドにおける残基を同定する、構造－機能研究を再調査し得る。このような比較の観点において、類似のポリペプチドにおける活性または構造のために重要なアミノ酸残基に対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドにおける、アミノ酸残基の重要性を予測し得る。当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのこのような予測された重要なアミノ酸残基に対する化学的に類似のアミノ酸置換を、選択し得る。

【００７８】

当業者はまた、類似のポリペプチドにおける三次元構造に関して、三次元構造およびアミノ酸配列を分析し得る。このような情報の観点において、当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸残基のアライメントを、その三次元構造に関して予測し得る。当業者は、そのタンパク質の表面に存在すると予測されるアミノ酸残基に対する急激な変化を起こさないように、選択し得る。なぜなら、このような残基は、他の分子との重要な相互作用に関与し得るからである。さらに、当業者は、単一のアミノ酸置換を各アミノ酸残基に含む、試験改変体を生

成し得る。これらの改変体は、当業者に公知の活性アッセイを使用して、スクリーニングされ得る。このような改変体は、適切な改変体に関する情報を集めるために使用され得る。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変化が破壊を生じるか、所望でなく減少するか、または所望でない活性であることを発見した場合には、このような変化を有する改変体は、回避される。換言すれば、このような慣用的な実験から集めた情報に基づいて、当業者は、さらなる置換が、単独でかまたは他の変異と組み合わせてかのいずれかで回避されるべきであるアミノ酸を、容易に決定し得る。

【００７９】

多数の科学刊行物が、二次構造の推定に充てられてきた。Ｍｏｕｌｔ，１９９６，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７：４２２－２７；Ｃｈｏｕら、１９７４，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　１３：２２２－４５；Ｃｈｏｕら、１９７４，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　１１３：２１１－２２；Ｃｈｏｕら、１９７８，Ａｄｖ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．Ｒｅｌａｔ．Ａｒｅａｓ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４７：４５－４８；Ｃｈｏｕら、１９７８，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．４７：２５１－２７６；およびＣｈｏｕら、１９７９，Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｊ．２６：３６７－８４を参照のこと。さらに、コンピュータプログラムが、二次構造の推定を補助するために、現在利用可能である。二次構造を推定する１つの方法は、相同性モデリングに基づく。例えば、３０％より大きな配列同一性または４０％より大きな類似性を有する２つのポリペプチドまたはタンパク質は、しばしば、類似の構造トポロジーを有する。タンパク質構造データベース（ＰＤＢ）の近年の成長は、二次構造（ポリペプチドまたはタンパク質の構造における可能な折り畳みの数を含む）の増強された推定性を提供してきた。Ｈｏｌｍら、１９９９，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２７：２４４－４７を参照のこと。所定のポリペプチドまたはタンパク質において制限された数の折り畳みが存在すること、および一旦、重要な数の構造が解析されると、構造推定は劇的により正確となることが、示唆されてきた（Ｂｒｅｎｎｅｒら、１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．７：３６９－７６）。

【００８０】

二次構造を推定するさらなる方法は、「スレッディング（ｔｈｒｅａｄｉｎｇ）」（Ｊｏｎｅｓ，１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．７：３７７－８７；Ｓｉｐｐｌら、１９９６，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　４：１５－１９）、「プロフィール分析」（Ｂｏｗｉｅら、１９９１，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５３：１６４－７０；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、１９９０，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８３：１４６－５９；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、１９８７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８４：４３５５－５８）、および「進化学的連鎖」（Ｈｏｌｍら、前出、およびＢｒｅｎｎｅｒら、前出を参照のこと）を包含する。

【００８１】

好ましいＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体としては、グリコシル化部位の数および／または型が配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列と比較して変化している、グリコシル化改変体が挙げられる。１つの実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列より多いかまたはより少ない数のＮ連結グリコシル化部位を含む。Ｎ連結グリコシル化部位は、配列Ａｓｎ－Ｘ－ＳｅｒまたはＡｓｎ－Ｘ－Ｔｈｒによって特徴付けられ、ここで、Ｘと印されるアミノ酸残基は、プロリン以外の任意のアミノ酸残基であり得る。この配列を作製するためのアミノ酸残基の置換は、Ｎ連結炭水化物鎖の付加のための潜在的な新たな部位を提供する。あるいは、この配列を排除する置換は、存在するＮ連結炭水化物鎖を除去する。１つ以上のＮ連結グリコシル化部位（代表的に、天然に存在するグリコシル化部位）が排除され、そして１つ以上の新たなＮ連結部位が作製される、Ｎ連結炭水化物鎖の再配列もまた、提供される。さらなる好ましいＩＬ－１ｒａ－Ｒ改変体としては、１つ以上のシステイン残基が、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列と比較して欠失しているか、または別のアミノ酸（例えば、セリン）で置換されている、システイン改変体が挙げられる。システイン改変体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、例えば不溶性の封入体の単離の後に、生物学的に活性な配置にリフォールディングされ

なければならない場合に、有用である。システイン改変体は、一般に、ネイティブタンパク質より少ないシステイン残基を有し、そして代表的には同数のシステイン残基を有し、対合していないシステインから生じる相互作用を最小にする。

【００８２】

別の実施形態において、関連する核酸分子は、少なくとも１つのアミノ酸挿入を有し、そしてポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有するする、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むか、またはこの配列からなるか、あるいは少なくとも１つのアミノ酸欠失を有し、ここでポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、またた配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むか、またはこの配列からなる。関連する核酸分子はまた、ポリペプチドがカルボキシル末端および／またはアミノ末端の短縮を有し、そしてさらにここで、このポリペプチドが、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むか、またはこの配列からなる。関連する核酸分子はまた、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、カルボキシる末端短縮、およびアミノ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を含み、そしてここで、ポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むか、またはこの配列からなる。

【００８３】

さらに、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６、あるいは他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドは、同種ポリペプチドに融合してホモダイマーを形成し得るか、あるいは異

種ポリペプチドに融合してヘテロダイマーを形成し得る。異種のペプチドおよびポリペプチドとしては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：ＩＬ－１ｒａ－R融合ポリペプチドの検出および／または単離を可能にするエピトープ；膜貫通レセプタータンパク質またはその部分（例えば、細胞外ドメインまたは膜貫通ドメインおよび細胞内ドメイン）；膜貫通レセプタータンパク質に結合する、リガンドまたはその部分；触媒的に活性である、酵素またはその部分；オリゴマー化を促進するポリペプチドまたはペプチド（例えば、ロイシンジッパードメイン）；安定性を増加させるポリペプチドまたはペプチド（例えば、免疫グロブリン定常領域）；ならびに配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは別のＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドとは異なる治療活性を有するポリペプチド。

【００８４】

融合は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは他のＩＬ１ｒａ－Rポリペプチドの、アミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、なされ得る。融合は、リンカーもアダプター分子も用いずに直接であっても、リンカーもしくはアダプター分子を介してであってもよい。リンカーまたはアダプター分子は、１つ以上のアミノ酸残基であり得、代表的に、約２０～約５０アミノ酸残基である。リンカーまたはアダプター分子はまた、ＤＮＡ制限エンドヌクレアーゼまたはプロテアーゼに対する切断部位を有して設計されて、融合した部分の分離を可能にし得る。一旦構築されると、誘導ポリペプチドは、本明細書中に記載の方法に従って誘導体化され得ることが、理解される。

【００８５】

本発明のさらなる実施形態において、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは他のＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドは、ヒトＩｇGのＦｃ領域の１つ以上のドメインに融合する。抗体は、以下の２つの機能的に独立した部分を含む；抗原を結合する「Ｆａｂ」として公知の可変ドメイン、ならびに相補的活性化および食作用細胞による攻撃のようなエフェクター機能に関与する、「Ｆｃ」として公知の定

常ドメイン。Ｆｃは、長い血清半減期を有し、一方でＦａｂは、短寿命である。Ｃａｐｏｎら、１９８９，Ｎａｔｕｒｅ　３３７：５２５－３１。治療タンパク質と一緒に構築される場合には、Ｆｃドメインは、より長い半減期を提供し得るか、またはＦｃレセプター結合、プロテインＡ結合、補体結合、および恐らく、胎盤移入さえものような機能を組み込み得る。同書。表ＩＩは、当該分野において公知の特定のＦｃ融合物の使用を要約する。

【００８６】

【表２】

表II

治療タンパク質とのFc融合物

Fcの形態	融合パートナー	治療の影響	参考文献
IgG1	CD30-Lの N末端	ホジキン病；未分化リンパ腫；T細胞白血病	U.S. Patent No. 5,480,981
マウス Fcγ2a	IL-10	抗炎症；移植片拒絶	Zheng *et al.*, 1995, *J. Immunol.* 154:5590-600
IgG1	TNFレセプター	敗血症性ショック	Fisher *et al.*, 1996, *N. Engl. J. Med.* 334:1697-1702; Van Zee *et al.*, 1996, *J. Immunol.* 156:2221-30
IgG, IgA, IgM, またはIgE (最初のドメインも除く)	TNFレセプター	炎症、自己免疫障害	U.S. Patent No. 5,808,029
IgG1	CD4レセプター	AIDS	Capon *et al.*, 1989, *Nature* 337: 525-31
IgG1, IgG3	IL-2の N末端	抗癌、抗ウイルス	Harvill *et al.*, 1995, *Immunotech.* 1:95-105
IgG1	OPGの C末端	変形性関節症；骨密度	WO 97/23614
IgG1	レプチンの N末端	抗肥満	PCT/US 97/23183, filed December 11, 1997
ヒト IgCγ1	CTLA-4	自己免疫障害	Linsley, 1991, *J. Exp. Med.*, 174:561-69

一例において、ヒトＩｇＧのヒンジ領域、ＣＨ２領域、およびＣＨ３領域は、当業者に公知の方法を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、融合し得る。別の例において、ヒトＩｇＧのヒンジ領域、ＣＨ２領域、およびＣＨ３領域は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定細胞外部

分）のアミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、融合し得る。

【００８７】

得られるＩＬ－１ｒａ－R融合ポリペプチドは、プロテインAアフィニティーカラムの使用によって、精製され得る。Ｆｃ領域に融合したペプチドおよびタンパク質は、融合していない対応物より実質的に長いインビボでの半減期を示すことが見出された。また、Ｆｃ領域への融合は、融合ポリペプチドの二量化／多量体化を可能にする。Ｆｃ領域は、天然に存在するＦｃ領域であり得るか、または治療品質、循環時間、もしくは減少した凝集のような特定の品質を改善するよう変更され得る。

【００８８】

関連する核酸分子およびポリペプチドの同一性および類似性は、公知の方法によって容易に計算され得る。このような方法としては、Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（A. M. Ｌｅｓｋ編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ １９８８）；Ｂｉｏｃｏｍｐｕｔｉｎｇ：Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｅ Ｐｒｏｊｅｃｔｓ（D. W. Ｓｍｉｔｈ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９９３）；Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｄａｔａ（Ｐａｒｔ １，A. M. ＧｒｉｆｆｉｎおよびH. G. Ｇｒｉｆｆｉｎ編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ １９９４）；G. ｖｏｎ Ｈｅｉｎｌｅ，Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８７）；Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐｒｉｍｅｒ（M. ＧｒｉｂｓｋｏｖおよびJ. Ｄｅｖｅｒｅｕｘ編、M. Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ １９９１）；ならびにＣａｒｉｌｌｏら、１９８８，ＳＩＡＭ Ｊ．Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈ．，４８：１０７３に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【００８９】

同一性および／または類似性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間での最大の適合を与えるために、設計される。同一性および類似性を決定するための方法は、公共に利用可能なコンピュータプログラムにおいて記載されて

いる。２つの配列間の同一性および類似性を決定するための、好ましいコンピュータプログラム方法としては、ＧＣＧプログラムパッケージ（ＧＡＰ（Ｄｅｖｅｒｅｕｘら、１９８４, Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ. １２：３８７；Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）、ＢＬＡＳＴＰ、ＢＬＡＳＴＮ、およびＦＡＳＴＡ（Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９０, Ｊ. Ｍｏｌ. Ｂｉｏｌ. ２１５：４０３－１０）を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。ＢＬＡＳＴＸプログラムは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ＮＣＢＩ）および他の供給源（Ａｌｔｓｃｈｕｌら、ＢＬＡＳＴ Ｍａｎｕａｌ（ＮＣＢ ＮＬＭ ＮＩＨ, Ｂｅｔｈｅｓｄａ, ＭＤ）；Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９０、前出）から公共に利用可能である。周知のＳｍｉｔｈ Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムもまた、同一性を決定するために使用され得る。

【００９０】

２つのアミノ酸配列を整列させるための特定のアライメントスキームは、これら２つの配列の短い領域のみの適合を生じ得、そしてこの小さな整列領域は、２つの全長配列間に有意な関連がない場合でさえも、非常に高い配列同一性を有し得る。従って、好ましい実施形態において、選択された整列方法（ＧＡＰプログラム）は、特許請求されるポリペプチドの少なくとも５０の連続するアミノ酸にわたる整列を生じる。

【００９１】

例えば、コンピュータアルゴリズムＧＡＰ（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）を使用して、配列同一性の百分率が決定されるべき２つのポリペプチドが、それらのそれぞれのアミノ酸の最適な適合（アルゴリズムによって決定される「適合したスパン」）のために、整列される。ギャップオープニングペナルティー（ｇａｐ ｏｐｅｎｉｎｇ ｐｅｎａｌｔｙ）（これは、平均対角の３倍として計算される：「平均対角」とは、使用される比較行列（ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｍａｔｒｉｘ）の対角の平均である；「対角」とは、特定の比較行

列によって各完全なアミノ酸適合に対して割り当てられたスコアまたは数である）およびギャップエクステンションペナルティー（ｇａｐ　ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ　ｐｅｎａｌｔｙ）（これは通常、キャップオープニングペナルティーの０．１倍である）、ならびにＰＡＭ　２５０またはＢＬＯＳＵＭ　６２のような比較行列が、このアルゴリズムと組み合わせて使用される。標準的な比較行列もまた、このアルゴリズムによって使用される（Ｄａｙｈｏｆｆら、５　Ａｔｌａｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（補遺３　１９７８）（ＰＡＭ２５０比較行列）；Ｈｅｎｉｋｏｆｆら、１９９２，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８９：１０９１５－１９（ＢＬＯＳＵＭ　６２比較行列）を参照のこと）。

【００９２】

ポリペプチド配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

Ａｌｇｏｒｉｔｈｍ：Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，１９７０，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３－５３；

Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ　ｍａｔｒｉｘ：ＢＬＯＳＵＭ　６２（Ｈｅｎｉｋｏｆｆら、前出）；

Ｇａｐ　Ｐｅｎａｌｔｙ：１２

Ｇａｐ　Ｌｅｎｇｔｈ　Ｐｅｎａｌｔｙ：４

Ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ　ｏｆ　Ｓｉｍｉｌａｒｉｔｙ：０

このＧＡＰプログラムは、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、ＧＡＰアルゴリズムを用いるポリペプチド比較（末端ギャップに対してはペナルティーがないこととともに）のためのデフォルトパラメータである。

【００９３】

核酸分子配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

Ａｌｇｏｒｉｔｈｍ：Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，前出；

Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ　ｍａｔｒｉｘ：ｍａｔｃｈｅｓ＝＋１０，ｍｉｓｍａｔｃｈ＝０

Ｇａｐ　Ｐｅｎａｌｔｙ：５０

Ｇａｐ　Ｌｅｎｇｔｈ　Ｐｅｎａｌｔｙ：３

このＧＡＰプログラムはまた、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、核酸分子比較のためのデフォルトパラメータである。

【００９４】

Ｐｒｏｇｒａｍ Ｍａｎｕａｌ，Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ９，Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ，１９９７に記載されるものを含む、他の例示的なａｌｇｏｒｉｔｈｍ、ｇａｐ ｏｐｅｎｉｎｇ ｐｅｎａｌｔｙ、ｇａｐ ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ ｐｅｎａｌｔｙ、ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｍａｔｒｉｘ、およびｔｈｒｅｓｈｏｌｄ ｏｆ ｓｉｍｉｌａｒｉｔｙが使用され得る。なされるべき特定の選択は、当業者に明らかであり、そしてなされるべき特定の比較（例えば、ＤＮＡ対ＤＮＡ、タンパク質対タンパク質、タンパク質対ＤＮＡ）；ならびにさらに、その比較が所定の対の配列間（この場合には、ＧＡＰまたはＢｅｓｔＦｉｔが一般的に好ましい）であるか、１つの配列と大きなデータベースの配列との間（この場合には、ＦＡＳＴＡまたはＢＬＡＳＴＡが好ましい）であるかに依存する。

【００９５】

（核酸分子）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸分子は、種々の様式（化学合成、ｃＤＮＡもしくはゲノムのライブラリーのスクリーニング、発現ライブラリースクリーニング、および／またはｃＤＮＡのＰＣＲ増幅が挙げられるが、これらに限定されない）で容易に得られ得る。

【００９６】

本明細書中において使用される組換えＤＮＡ法は、一般に、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９８９）および／またはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ．およびＷｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ １９９４）に記載されている。本発明は、本明細書中に記載され得るような核酸分子、およびこのような分子を得るための方法を提供する。

【００９７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子が１つの種から同定された場合には、この遺伝子の全てまたは一部を、同じ種由来のオーソログまたは関連する遺伝子を同定するためのプローブとして使用し得る。このプローブまたはプライマーを使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現すると考えられる種々の組織供給源由来のｃＤＮＡをスクリーニングし得る。さらに、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに記載されるような配列を有する核酸分子の部分または全てを使用して、ゲノムライブラリーをスクリーニングし、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子を同定および単離し得る。代表的に、中程度または高いストリンジェンシーの条件が、スクリーニングのために使用されて、このスクリーニングから得られる誤った陽性の数を最小にする。

【００９８】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子もまた、発現されたタンパク質の特性に基づいて陽性クローンの検出を使用する発現クローニングによって、同定され得る。代表的に、核酸ライブラリーは、抗体または他の結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）を、宿主細胞表面において発現および提示されたクローンタンパク質に結合させることによって、スクリーニングされる。抗体または結合パートナーは、所望のクローンを発現する細胞を同定するために、検出可能な標識で改変される。

【００９９】

以下に記載される説明に従って実施される組換え発現技術に従って、これらのポリヌクレオチドを産生し得、そしてコードされたポリペプチドを発現し得る。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸配列を適切なベクターに挿入することによって、当業者は、多量の所望のヌクレオチド配列を容易に生成し得る。次いで、これらの配列を使用して、検出プローブまたは増幅プライマーを生成し得る。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを、発現ベクターに挿入し得る。発現ベクターを適切な宿主に導入することによって、コードされたＩＬ－１ｒａ－Ｒ

ポリペプチドが、多量に生成され得る。

【０１００】

適切な核酸配列を得るための別の方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）である。この方法において、ｃＤＮＡは、酵素逆転写酵素を使用して、ｐｏｌｙ（Ａ）＋ＲＮＡまたは全ＲＮＡから調製される。次いで、２つのプライマー（代表的には、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするｃＤＮＡの２つの別個の領域に対して相補的である）が、ＴａｑポリメラーゼのようなポリメラーゼとともにこのｃＤＮＡに付加され、そしてこのポリメラーゼが、このｃＤＮＡのこれら２つのプライマー間の領域を増幅する。

【０１０１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を調製する別の手段は、Ｅｎｇｅｌｓら、１９８９，Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．２８：７１６－３４によって記載されるもののような、当業者に周知の方法を使用する、化学合成である。これらの方法としては、とりわけ、核酸合成のためのリン酸トリエステル、ホスホルアミダイト、およびＨ－ホスホネート方法が挙げられる。このような化学合成のために好ましい方法は、標準的なホスホルアミダイト化学を使用する、ポリマーにより支持される合成である。代表的に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするＤＮＡは、数百ヌクレオチド長である。約１００ヌクレオチドより長い核酸は、これらの方法を使用して、いくつかのフラグメントとして合成され得る。次いで、これらのフラグメントが一緒に連結されて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の全長ヌクレオチド配列を形成し得る。通常、このポリペプチドのアミノ末端をコードするＤＮＡフラグメントは、ＡＴＧを有し、これは、メチオニン残基をコードする。このメチオニンは、宿主細胞において産生されたポリペプチドがその細胞から分泌されるよう設計されるか否かに依存して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの成熟形態で存在してもそうでなくてもよい。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【０１０２】

特定の実施形態において、核酸改変体は、所定の宿主細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの最適な発現のために変更されたコドンを含む。特定のコド

ン変更は、発現のために選択される宿主細胞およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに依存する。このような「コドン最適化」は、種々の方法によって（例えば、所定の宿主細胞において高度に発現される遺伝子における使用に好ましいコドンを選択することによって）実施され得る。高度に発現された細菌遺伝子のコドン優先性のための「Ｅｃｏ＿ｈｉｇｈ．Ｃｏｄ」のようなコドン度数表を組み込むコンピュータアルゴリズムが使用され得、そしてＵｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ ９．０（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）によって提供される。他の有用なコドン度数表としては、「Ｃｅｌｅｇａｎｓ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｃｅｌｅｇａｎｓ＿ｌｏｗ．ｃｏｄ」、「Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｈｕｍａｎ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｍａｉｚｅ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、および「Ｙｅａｓｔ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ．」が挙げられる。

【０１０３】

いくつかの場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体をコードする核酸分子を調製することが所望であり得る。改変体をコードする核酸分子は、プライマーが所望の点変異を有する部位特異的変異誘発、ＰＣＲ増幅、または他の適切な方法を使用して生成し得る（変異誘発技術の記載に関しては、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、前出、およびＡｕｓｕｂｅｌら、前出を参照のこと）。Ｅｎｇｅｌｓら、前出によって記載される方法を使用する化学合成もまた、このような改変体を調製するために使用され得る。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【０１０４】

（ベクターおよび宿主細胞）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を、標準的な連結技術を使用して適切な発現ベクターに挿入する。ベクターは、代表的に、使用される特定の宿主細胞において機能的であるように選択される（すなわち、ベクターは、遺伝子の増幅および／または遺伝子の発現が生じるように、宿主細胞機構と適合性である）。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子は、原核生物宿主細胞、酵母宿主細胞、昆虫（バキュロウイル

ス系）宿主細胞および／または真核生物宿主細胞において増幅／発現され得る。宿主細胞の選択は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが翻訳後修飾（例えば、グリコシル化および／またはホスホリル化）されるか否かに一部依存する。そうである場合、酵母宿主細胞、昆虫宿主細胞、または哺乳動物宿主細胞が好ましい。発現ベクターの総説について、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．，ｖｏｌ．１８５（Ｄ．Ｖ．Ｇｏｅｄｄｅｌ，ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ　１９９０）を参照のこと。

【０１０５】

代表的に、任意の宿主細胞に使用される発現ベクターは、プラスミド維持のためならびに外来性ヌクレオチド配列のクローニングおよび発現のために配列を含む。このような配列（集合的に、「隣接配列」と呼ばれる）は、特定の実施形態において、代表的に、以下のヌクレオチド配列の１つ以上を含む：プロモーター、１つ以上のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタースプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択マーカーエレメント。これらの配列のそれぞれが、以下に議論される。

【０１０６】

必要に応じて、ベクターは、「タグ」コード配列（すなわち、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード配列の５’末端または３’末端に配置されるオリゴヌクレオチド分子）を含み得；オリゴヌクレオチド配列は、ｐｏｌｙＨｉｓ（例えば、ｈｅｘａＨｉｓ）、別の「タグ」（例えば、ＦＬＡＧ、ＨＡ（赤血球凝集素インフルエンザウイルス））または市販の抗体が存在するｍｙｃをコードする。このタグは、代表的には、ポリペプチドの発現の際にポリペプチドに融合され、宿主細胞からの、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアフィニティー精製のための手段として役立ち得る。アフィニティー精製は、例えば、アフィニティーマトリクスとしてタグに対して抗体を使用するカラムクロマトグラフィーによって達成され得る。必要に応じて、タグは、続いて、切断のために特定のペプチダーゼを使用

するような種々の手段によって、精製されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドから除去される。

【０１０７】

隣接配列は、同種（すなわち、宿主細胞と同じ種および／または系統由来）であり得るか、異種（すなわち、宿主細胞種または系統以外の種由来）であり得るか、ハイブリッド（すなわち、１つより多くの供給源由来の隣接配列の組み合わせ）であり得るか、または合成であり得るか、あるいは隣接配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を調節するために正常に機能するネイティブな配列であり得る。このように、隣接配列の供給源は、任意の原核生物または真核生物、任意の脊椎生物または無脊椎生物、あるいは任意の植物であり得、但し、隣接配列は、宿主細胞の機構において機能的であり、そして宿主細胞の機構によって活性化され得る。

【０１０８】

本発明のベクターに有用な隣接配列は、当該分野において周知である任意のいくつかの方法によって得られ得る。代表的には、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子隣接配列以外の、本明細書中で有用な隣接配列は、マッピングおよび／または制限エンドヌクレアーゼ消化によって以前に同定されており、従って、適切な制限エンドヌクレアーゼを使用して、適切な組織供給源から単離され得る。いくつかの場合において、隣接配列の全長ヌクレオチド配列は公知であり得る。ここで、隣接配列は、核酸合成またはクローニングのために本明細書中で記載される方法を使用して合成され得る。

【０１０９】

隣接配列の全てまたは一部のみが公知である場合、ＰＣＲを使用して、そして／あるいは適切なオリゴヌクレオチドならびに／または同じもしくは別の種由来の隣接配列フラグメントを用いてゲノムライブラリーをスクリーニングすることによって得られ得る。隣接配列が公知でない場合、隣接配列を含むＤＮＡのフラグメントは、例えば、コード配列または別の遺伝子を含み得る大きな片のＤＮＡから単離され得る。単離は、適切なＤＮＡフラグメントを生成するための制限エンドヌクレアーゼ消化、続くアガロースゲル精製を使用する単離、Ｑｉａｇｅｎ

（登録商標）カラムクロマトグラフィー（Ｃｈａｔｓｗｏｒｔｈ、ＣＡ）、または当業者に公知の他の方法によって達成され得る。この目的を達成するための適切な酵素の選択は、当業者に容易に明かである。

【０１１０】

複製起点は、代表的に、市販から購入された原核生物発現ベクターの一部であり、この起点は、宿主細胞においてベクターの増幅に役立つ。特定のコピー数に対するベクターの増幅は、いくつかの場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの最適な発現に重要であり得る。選択されたベクターが複製起点部位を含まない場合、公知の配列に基づいて化学的に合成され得、そしてベクターに連結され得る。例えば、プラスミドｐＢＲ３２２（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ，Ｂｅｖｅｒｌｙ，ＭＡ）からの複製起点は、大部分のグラム陰性細菌に適切であり、そして種々の起点（例えば、ＳＶ４０、ポリオーマ、アデノウイルス、水疱性口内炎ウイルス（ＶＳＶ）、またはＨＰＶまたはＢＰＶのようなパピローマウイルス）は、哺乳動物細胞におけるベクターのクローニングのために有用である。一般的に、複製起点の成分は、哺乳動物発現ベクター（例えば、ＳＶ４０起点は、ただそれが初期プロモーターを含むので、しばしば、使用される）。

【０１１１】

転写終結配列は、代表的にポリペプチドコード領域の末端の３’側に配置され、そして転写を終結させるのに役立つ。通常、原核生物細胞における転写終結配列は、Ｇ－Ｃリッチフラグメント、続いてポリ－Ｔ配列である。この配列はライブラリーから容易にクローン化され得るか、またはベクターの一部として市販で購入され、これは、本明細書中上記のような核酸合成のための方法を使用して容易に合成され得る。

【０１１２】

選択マーカー遺伝子エレメントは、選択培養培地において増殖される宿主細胞の生存および増殖に必要なタンパク質をコードする。代表的な選択マーカー遺伝子は、（ａ）原核生物細胞に対して、抗生物質または他の毒素（例えば、アンピシリン、テトラサイクリン、またはカナマイシン）に対する耐性を与えるか；細

胞の栄養要求性の欠損を補うか；あるいは複合培地から入手可能でない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。好ましい選択マーカーは、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、およびテトラサイクリン耐性遺伝子である。ネオマイシン耐性遺伝子もまた、原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞における選択のために使用され得る。

【０１１３】

他の選択遺伝子は、発現される遺伝子を増幅するために使用され得る。増幅は、増殖に重要なタンパク質の産生により大きく要求される遺伝子が、組換え細胞の連続的な生成の染色体内でタンデムに反復されるプロセスである。哺乳動物細胞に対する適切な選択マーカーの例としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）およびチミジンキナーゼが挙げられる。哺乳動物細胞形質転換体は、選択圧下に置かれ、ここで、形質転換体のみが、ベクターに存在する選択遺伝子によって生存するように独特に適合される。選択圧は、培地中の選択因子の濃度が連続的に変化し、それによって選択遺伝子とＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡとの両方の増幅を導く条件下で、形質転換された細胞を培養することによって課される。結果として、増加した量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、増幅されたＤＮＡから合成される。

【０１１４】

リボソーム結合部位は、通常、ｍＲＮＡの翻訳開始に必要であり、そしてＳｈｉｎｅ－Ｄａｌｇａｒｎｏ配列（原核性物）またはＫｏｚａｋ配列（真核生物）によって特徴付けられる。このエレメントは、代表的に、発現されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのプロモーターの３’側およびコード配列の５’側に配置される。Ｓｈｉｎｅ－Ｄａｌｇａｒｎｏ配列は、可変であるが、代表的には、ポリプリン（すなわち、高いＡ－Ｇ含有量）である。多くのＳｈｉｎｅ－Ｄａｌｇａｒｎｏ配列は、同定されており、それぞれが、本明細書中に記載の方法を使用して、原核生物ベクターを使用して容易に合成され得る。

【０１１５】

リーダー配列、またはシグナル配列は、宿主細胞からＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを指向させるために使用され得る。代表的には、シグナル配列をコードす

るヌクレオチド配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子のコード領域に位置するか、または直接ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域の５’側に位置する。多くのシグナル配列が同定されており、選択された宿主細胞において機能性であるシグナル配列の任意が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子と組み合わせて使用され得る。従って、シグナル配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子に対して同種（天然）または異種であり得る。さらに、シグナル配列は、本明細書中に記載される方法を使用して化学的に合成され得る。大部分において、シグナルペプチドの存在によって宿主細胞からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの分泌は、分泌されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドからのシグナルペプチドの除去を生じる。シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、またはベクターに挿入されたＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の一部であり得る。

【０１１６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域に結合されたネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列をコードするヌクレオチド配列またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域に結合された異種シグナル配列をコードするヌクレオチド配列のいずれかの使用が本発明の範囲内である。選択された異種シグナル配列は、宿主細胞によって認識され、プロセスされる（すなわち、シグナルペプチダーゼによって切断される）ものであるべきである。ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列を認識せず、プロセスしない原核生物宿主細胞について、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、または熱安定エンテロトキシンＩＩリーダーのグループから選択される原核生物シグナル配列によって置換される。酵母分泌について、ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列は、酵母インベルターゼ、α因子、または酸ホスファターゼリーダーによって置換され得る。哺乳動物細胞発現において、ネイティブなシグナル配列が満足であるが、他の哺乳動物シグナル配列が適切であり得る。

【０１１７】

グリコシル化が真核生物宿主細胞発現系において望ましい、いくつかの場合において、グリコシル化または収量を改善するために種々のシグナルペプチド（ｐ

ｒｅｓｅｑｕｅｎｃｅ）が操作され得る。例えば、特定のシグナルペプチドのペプチダーゼ切断部位を変更し得るかまたはプロ配列（ｐｒｏ－ｓｅｑｕｅｎｃｅ）を加え得、これはまた、グリコシル化に影響し得る。最後のタンパク質産物は、１位に（成熟タンパク質の最初のアミノ酸に対して）、発現に付随して１つ以上のさらなるアミノ酸を有し得、これは、完全に除去されないかもしれない。例えば、最終のタンパク質産物は、アミノ末端に結合される、ペプチダーゼ切断部位において見出される１つまたは２つのアミノ酸残基を有し得る。あるいは、いくつかの酵素切断部位は、酵素が成熟ポリペプチド内のこのような領域で切断される場合、所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少し短縮した形態を生じ得る。

【０１１８】

多くの場合において、核酸分子の転写は、ベクター内の１つ以上のイントロンの存在によって増加する；これは、ポリペプチドが真核生物宿主細胞（特に、哺乳動物宿主細胞）において産生される場合、特に当てはまる。使用されるイントロンは、特に使用される遺伝子が全長ゲノム配列またはそのフラグメントである場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子内に天然に存在し得る。イントロンが遺伝子内に天然に存在しない（大部分のｃＤＮＡについて）場合、イントロンは、別の供給源から得られ得る。隣接配列およびＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子に関してイントロンの位置は、イントロンが効果的に転写されなければならないので、一般的に重要である。従って、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｃＤＮＡ分子が転写される場合、イントロンの好ましい位置は、転写開始部位の３’側で、ｐｏｌｙ－Ａ転写終止配列の５’側である。好ましくは、イントロンは、コード配列を妨害しないように、ｃＤＮＡの１つの側面または他の側面（すなわち、５’側または３’側）に配置される。任意の供給源（ウイルス、原核生物および真核生物（植物または動物）を含む）由来のイントロンを使用して本発明を実行し得るが、但し、このイントロンは、挿入される宿主細胞に適合性である。合成イントロンもまたここに含まれる。必要に応じて、１つより多くのイントロンがベクター内で使用され得る。

【０１１９】

本発明の発現ベクターおよびクローニングベクターは、代表的には、宿主生物

によって認識され、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする分子に作動可能に連結されたプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の転写を制御する構造遺伝子（一般的に、約１００～１０００ｂｐ）の開始コドンに対して上流（すなわち、５’側）に配置される非転写配列である。プロモーターは、通常、２つのクラス（誘導プロモーターおよび構成プロモーター）の１つにグループ化される。誘導プロモーターは、培養条件におけるいくらかの変化（例えば、栄養の存在または非存在、あるいは温度の変化）に応答してそれらの制御下で、ＤＮＡからの転写の増加したレベルを開始する。他方、構成プロモーターは、連続的な遺伝子産物の産生を開始する；すなわち、遺伝子発現に対して遺伝子をほとんど制御しないかまたは制御しない。多数のプロモーター（種々の潜在的な宿主細胞によって認識される）が周知である。適切なプロモーターは、供給源のＤＮＡからプロモーターを制限酵素消化によって取り出し、そして所望のプロモーター配列をベクターに挿入することによって、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡに作動可能に連結される。ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒプロモーター配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の増幅および／または発現に指向させるために使用され得る。しかし、ネイティブなプロモーターと比較して大きい転写および発現タンパク質のより高い産生が可能であり、そして使用のために選択された宿主細胞系と適合性である場合、異種プロモーターが好ましい。

【０１２０】

原核性物宿主との使用に適切なプロモーターとしては、β－ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系；アルカリホスファターゼ；トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系；およびハイブリッドプロモーター（例えば、ｔａｃプロモーター）が挙げられる。他の公知の細菌プロモーターもまた、適切である。これらの配列は、公開されており、その結果、当業者は、任意の有用な制限部位を供給するのに必要とされるリンカーまたはアダプターを使用して、所望のＤＮＡにそれらの配列を連結し得る。

【０１２１】

酵母宿主との使用に適切なプロモーターはまた、当該分野において周知である。酵母エンハンサーは、酵母プロモーターとの使用に有利に使用される。哺乳動

物宿主細胞との使用に適切なプロモーターは周知であり、限定しないが、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（例えば、Ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓ２）、ウシパピローマウイルス、鳥類肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、Ｂ型肝炎ウイルスおよび最も好ましいシミアンウイルス４０（ＳＶ４０）のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーターが挙げられる。他の適切な哺乳動物プロモーターとしては、異種哺乳動物プロモーター（例えば、熱ショックプロモーターおよびアクチンプロモーター）が挙げられる。

【０１２２】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子発現を制御する際に関心があり得るさらなるプロモーターとしては、限定しないが、以下が挙げられる：ＳＶ４０初期プロモータ領域（Ｂｅｒｎｏｉｓｔ ａｎｄ Ｃｈａｍｂｏｎ, １９８１, Ｎａｔｕｒｅ ２９０：３０４－１０）；CMVプロモーター；ラウス肉腫ウイルスの３’側の長い終末反復に含まれるプロモーター（Ｙａｍａｍｏｔｏ, ｅｔ ａｌ., １９８０, Ｃｅｌｌ ２２ ：７８７－９７）；ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター（Ｗａｇｎｅｒ ｅｔ ａｌ., １９８１, Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. Ｕ. Ｓ. Ａ. ７８：１４４４－４５）；メタロチオネイン遺伝子の調節配列（Ｂｒｉｎｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ., １９８２, Ｎａｔｕｒｅ ２９６：３９－４２）；β－ラクタマーゼプロモーターのような原核生物発現ベクター（Ｖｉｌｌａ－Ｋａｍａｒｏｆｆ ｅｔ ａｌ., １９７８, Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. Ｕ. Ｓ. Ａ., ７５：３７２７－３１）；またはｔａｃプロモーター（ＤｅＢｏｅｒ ｅｔ ａｌ., １９８３, Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. Ｕ. Ｓ. Ａ., ８０：２１－２５）。組織特異性を示し、そしてトランスジェニック動物において利用されている以下の動物転写制御領域もまた関心がある：膵臓腺房細胞において活性なエラスターゼＩ遺伝子制御領域（Ｓｗｉｆｔ ｅｔ ａｌ., １９８４, Ｃｅｌｌ ３８：６３９－４６；Ｏｒｎｉｔｚ ｅｔ ａｌ., １９８６, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｓｙｍｐ. Ｑｕａｎｔ. Ｂｉｏｌ. ５０：３９９－４０９（１９８６）；MacDonald, １９８７, Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ７：４２５－５１５）；膵臓β細胞において活性なインシュリン遺伝子制御領域（Ｈａｎａｈａｎ, １９８５, Ｎａｔ

ｕｒｅ ３１５：１１５－２２）；リンパ球において活性な免疫グロブリン遺伝子制御領域（Ｇｒｏｓｓｃｈｅｄｌ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｃｅｌｌ ３８：６４７－５８；Ａｄａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１８：５３３－３８；Ａｌｅｘａｎｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，７：１４３６－４４）；精巣、乳房、リンパ球、および肥満細胞において活性なマウス哺乳動物腫瘍ウイルス制御領域（Ｌｅｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｃｅｌｌ ４５：４８５－９５）；肝臓において活性なアルブミン遺伝子制御領域（Ｐｉｎｋｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌ．１：２６８－７６）；肝臓において活性なα－フェトプロテイン遺伝子制御領域（Ｋｒｕｍｌａｕｆ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，５：１６３９－４８；Ｈａｍｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３５：５３－５８）；肝臓において活性なα１－抗トリプシン遺伝子制御領域（Ｋｅｌｓｅｙ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌ．１：１６１－７１）；骨髄性細胞において活性なβ－グロビン遺伝子制御領域（Ｍｏｇｒａｍ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１５：３３８－４０；Ｋｏｌｌｉａｓ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｃｅｌｌ ４６：８９－９４）；脳の稀突起神経膠細胞において活性なミエリンベースのタンパク質遺伝子制御領域（Ｒｅａｄｈｅａｄ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｃｅｌｌ ４８：７０３－１２）；骨格筋において活性なミオシン軽鎖－２遺伝子制御領域（Ｓａｎｉ，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１４：２８３－８６）；ならびに視床下部において活性なゴナドトロピン放出ホルモン遺伝子制御領域（Ｍａｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３４：１３７２－７８）。

【０１２３】

エンハンサー配列は、より高等な真核生物によって本発明のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡの転写を増加するように、ベクターに挿入され得る。エンハンサーは、転写を増加させるためにプロモーターに作用する、通常約１０～３００ｂｐの長さのＤＮＡのシスに作用するエレメントである。エンハンサーは、相対的な方向および位置に独立する。これらは、転写ユニットに対し

て５’側および３’側に見出された。哺乳動物遺伝子から入手可能ないくつかのエンハンサー配列が公知である（例えば、グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトプロテインおよびインシュリン）。しかし、代表的には、ウイルス由来のエンハンサーが、使用される。ＳＶ４０エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、ポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーは、真核生物プロモーターの活性化について例示的に増強するエレメントである。エンハンサーは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子に対して５’位または３’位でベクターにスプライシングされ得るが、代表的には、プロモーターから５’位側に配置される。

【０１２４】

本発明の発現ベクターは、市販のベクターのような開始ベクターから構築され得る。このようなベクターは、全ての所望な隣接配列を含んでも良いし、含まなくても良い。本明細書中に記載される隣接配列の１つ以上がすでにベクター内にない場合、これらは、個々に得られ得、ベクターに連結され得る。隣接配列のそれぞれを得るために使用される方法は、当業者に周知である。

【０１２５】

本発明を実行するために好ましいベクターは、細菌宿主細胞、昆虫宿主細胞、および哺乳動物宿主細胞と適合性のベクターである。このようなベクターとしては、特に、ｐＣＲＩＩ、ｐＣＲ３、およびｐｃＤＮＡ３．１（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）、ｐＢＳＩＩ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ、Ｌａ Ｊｏｌｌａ、ＣＡ）、ｐＥＴ１５（Ｎｏｖａｇｅｎ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）、ｐＧＥＸ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）、ｐＥＧＦＰ－Ｎ２（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）、ｐＥＴＬ（ＢｌｕｅＢａｃＩＩ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＤＳＲ－ａｌｐｈａ（ＰＣＴ公開番号ＷＯ ９０／１４３６３）ならびにｐＦａｓｔＢａｃＤｕａｌ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）が挙げられる。

【０１２６】

さらなる適切なベクターとしては、限定しないが、コスミド、プラスミド、または改変ウイルスが挙げられるが、これらのベクター系は、選択された宿主細胞

と適合性でなければならないことが理解される。このようなベクターとしては、限定しないが、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（登録商標）プラスミド誘導体（高コピー数ＣｏｌＥｌ－ベースのファージミド、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ ＣＡ）、Ｔａｑ増幅ＰＣＲ産物をクローニングするために設計されたＰＣＲクローニングプラスミド（例えば、ＴＯＰＯ™ ＴＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ（登録商標）Ｋｉｔ、ＰＣＲ２．１（登録商標）プラスミド誘導体、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）、ならびにバキュロウイルス発現系のような哺乳動物ベクター、酵母ベクターまたはウイルスベクター（ｐＢａｃＰＡＫプラスミド誘導体、Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）が挙げられる。

【０１２７】

ベクターが構築され、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子がベクターの適切な部位に挿入された後に、完全なベクターが増幅発現および／またはポリペプチド発現に適切な宿主細胞に挿入され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する発現ベクターの選択された宿主細胞への形質転換は、トランスフェクション、感染、塩化カルシウム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リポフェクチン、ＤＥＡＥ－デキストラン法、または他の公知の技術のような方法を含む周知の方法によって達成され得る。選択される方法は、一部、使用される宿主細胞の種類の機能である。これらの方法および他の適切な方法は、当業者に周知であり、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記に記載される。

【０１２８】

宿主細胞は、原核生物宿主細胞（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）または真核生物宿主細胞（例えば、酵母細胞、昆虫細胞、または脊椎動物細胞）であり得る。宿主細胞は、適切な条件下で培養される場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを合成し、これは、続いて、培養培地から（宿主細胞がそのポリペプチドを培地に分泌する場合）収集され得るか、直接そのポリペプチドを産生する宿主細胞から収集される（そのポリペプチドが分泌されない場合）。適切な宿主細胞の選択は、所望の発現レベル、活性（例えば、グリコシル化またはホスホリル化）に望ましいか

または必要なポリペプチド修飾、および生物学的に活性な分子に折り畳まれる容易さなどの種々の因子に依存する。

【０１２９】

多くの適切な宿主細胞が当該分野において公知であり、多くが、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ），Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡから入手可能である。例としては、限定しないが、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）、ＣＨＯ ＤＨＦＲ（－）細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳ．Ａ．９７：４２１６－２０）、ヒト胚性腎臓（ＨＥＫ）２９３または２９３Ｔ細胞、あるいは３Ｔ３細胞のような哺乳動物細胞が挙げられる。適切な哺乳動物宿主細胞の選択および形質転換、培養、増幅、スクリーニング、産物生成、および精製のための方法が当該分野において公知である。他の適切な哺乳動物細胞株は、サルＣＯＳ－１およびＣＯＳ－７細胞株、およびＣＶ－１細胞株である。さらなる例示的な哺乳動物宿主細胞としては、霊長動物細胞株およびゲッ歯類動物細胞株（形質転換細胞株を含む）が挙げられる。正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロ培養物から誘導される細胞菌株、ならびに初代外植片もまた適切である。候補細胞は、選択遺伝子を遺伝子型的に欠き得るか、または優先的に作用する選択遺伝子を含み得る。他の適切な哺乳動物細胞株としては、限定しないが、マウス神経芽細胞腫Ｎ２Ａ細胞、ＨｅＬａ、マウスＬ－９２９細胞、Ｓｗｉｓｓから誘導された３Ｔ３株、Ｂａｌｂ－ｃまたは ＮＩＨマウス、ＢＨＫまたはＨａｋハムスター細胞株が挙げられる。これらの細胞株のそれぞれは、タンパク質発現の当業者によって公知であり入手可能である。

【０１３０】

同様に、細菌細胞が、本発明に適切な宿主細胞として有用である。例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ（例えば、ＨＢ１０１、ＤＨ５α、ＤＨ１０、およびＭＣ１０６１）の種々の菌株は、生物工学の分野において宿主細胞として周知である。Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｓｐｐ．，他のＢａｃｉｌｌｕｓ ｓｐｐ．、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｓｐｐ．などの種々の菌株がまた本方法において使用され得る。

【０１３１】

当業者に公知の酵母細胞の多くの菌株はまた、本発明のポリペプチドの発現のため宿主細胞として入手可能である。好ましい酵母細胞としては、例えば、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｉｖｉｓａｅおよびＰｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓが挙げられる。

【０１３２】

さらに、望ましい場合、昆虫細胞系が、本発明の方法において利用され得る。このような系は、例えば、Ｋｉｔｔｓ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，１４：８１０－１７；Ｌｕｃｋｌｏｗ，１９９３，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４：５６４－７２；およびＬｕｃｋｌｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，６７：４５６６－７９に記載される。好ましい昆虫細胞は、Ｓｆ－９およびＨｉ５（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）である。

【０１３３】

グリコシル化ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現するためにトランスジェニック動物もまた使用し得る。例えば、トランスジェニック乳産生動物（例えば、雌ウシまたはヤギ）を使用し、本発明のグルコシル化ポリペプチドを動物の乳に得ることができる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するために植物もまた使用し得るが、しかし、一般的に、植物において生じるグリコシル化は、哺乳動物細胞において産生されるものとは異なり、ヒト治療に適切ではないグリコシル化産物を生じ得る。

【０１３４】

（ポリペプチド産生）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ベクターを含む宿主細胞は、当業者に周知の標準的な培地を使用して培養され得る。この培地は、通常、細胞の増殖および生存に必要な全ての栄養分を含む。Ｅ．ｃｏｌｉ細胞を培養するための適切な培地としては、例えば、Ｌｕｒｉａ　Ｂｒｏｔｈ（ＬＢ）および／またはＴｅｒｒｉｆｉｃ　Ｂｒｏｔｈ（ＴＢ）が挙げられる。真核生物細胞を培養するための適切な培地としては、Ｒｏｓｗｅｌｌ　Ｐａｒｋ　Ｍｅｍｏｒｉａｌ　Ｉｎｓｔｉ

ｔｕｔｅ ｍｅｄｉｕｍ １６４０（ＲＰＭＩ １６４０）、Ｍｉｎｉｍａｌ Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ Ｍｅｄｉｕｍ（ＭＥＭ）および／またはＤｕｌｂｅｃｃｏ’ｓ Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｅａｇｌｅ Ｍｅｄｉｕｍ（ＤＭＥＭ）が挙げられ、これらの全ては、培養される特定の細胞株に必要な血清および／または増殖因子を補充され得る。昆虫細胞についての適切な培地は、必要に応じて、イーストレート（ｙｅａｔｏｌａｔｅ）、ラクトアルブミン加水分解産物、および／または胎仔ウシ血清を補充したグレース培地である。

【０１３５】

代表的に、トランスフェクトされた細胞または形質転換された細胞の選択的な増殖に有用な構成物質または他の化合物が、培地に補充物質として加えられる。使用される化合物は、宿主細胞が形質転換されるプラスミドに存在する選択マーカーエレメントによって検出可能である。例えば、選択マーカーエレメントがカナマイシン耐性である場合、培養倍地に加えられる化合物は、カナマイシンである。選択的増殖のための他の化合物としては、アンピシリン、テトラサイクリン、およびネオマイシンが挙げられる。

【０１３６】

宿主細胞によって産生されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量は、当該分野において公知の標準的な方法を使用して評価され得る。このような方法としては、限定しないが、ウェスタンブロット分析、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動、非変性ゲル電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）分離、免疫沈降、および／またはＤＮＡ結合ゲル移動アッセイのような活性アッセイが挙げられる。

【０１３７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが宿主細胞から分泌されるように設計される場合、ポリペプチドの大部分は、細胞培養培地中で見出され得る。しかし、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが宿主細胞から分泌されない場合、細胞質および／または核（真核宿主細胞について）に、あるいは、細胞質ゾル（グラム陽性細菌宿主細胞について）に存在する。

【０１３８】

宿主細胞細胞質および／または核（真核生物宿主細胞について）に位置するかまたは細胞質ゾル（細菌宿主細胞について）に位置するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについて、細胞内物質（グラム陽性細菌についての封入体を含む）は、当業者に公知の任意の標準的な技術を使用して宿主細胞から抽出され得る。例えば、宿主細胞は、フレンチプレス、均質化、および／または超音波処理、続く遠心分離によって、ペリプラズム／細胞質の含有量を放出するように溶解され得る。

【０１３９】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが細胞質ゾル内に封入体を形成した場合、この封入体は、しばしば、内部および／または外部細胞膜に結合され得、従って、主に、遠心分離後にペレット材料において見出される。次いで、ペレット材料は、ｐＨ極限値で処理され得るか、あるいはジチオトレイトールのような還元剤の存在下アルカリ性のｐＨで、またはトリスカルボキシエチルホスフィンの存在下酸性のｐＨで、界面活性剤、グアニジン、グアニジン誘導体、尿素、または尿素誘導体のようなカオトロピック剤で処理して、封入体を放出させ、分断させ、そして溶解させ得る。次いで、溶解されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ゲル電気泳動、免疫沈降などを使用して分析され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを単離することが望ましい場合、単離は、本明細書中およびＭａｒｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９０，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．，１８２：２６４－７５に記載される方法のような標準的な方法を使用して達成され得る。

【０１４０】

いくつかの場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、単離の際、生物学的に活性でなくても良い。「再折り畳みする」、つまり、ポリペプチドをその三次構造に変換し、ジスルフィド連結を生成するための種々の方法を使用して、生物学的活性を回複し得る。このような方法は、溶解されたポリペプチドをあるｐＨ（通常７より上）および特定の濃度のカオトロピック剤（ｃｈａｏｔｒｏｐｅ）の存在に曝露する工程を包含する。カオトロピック剤の選択は、封入体溶解に使用される選択肢に非常に類似するが、通常、カオトロピック剤は低い濃度で使用され、溶解に使用されるカオトロピック剤と必ずしも同一ではない。多くの場合、再折り畳み／酸化溶液はまた、還元剤、または特定の比の還元剤およびその酸化形

態を含んで、特定の酸化還元電位を生成し、タンパク質のシステイン架橋の形成を生じるジスルフィドシャフリングを可能にする。通常使用される酸化還元対のいくつかとしては、システイン／シスタミン、グルタチオン（ＧＳＨ）／ジチオビスＧＳＨ、塩化銅（ＩＩ）、ジチオトレイトール（ＤＴＴ）／ジチアンＤＴＴ、および２，２－メルカプトエタノール（ｂＭＥ）／ジチオ－ｂ（ＭＥ）が挙げられる。多くの場合において、共溶媒が使用され得るか、または再折り畳みの効率を増加するのに必要であり得、この目的のために使用されるより一般的な試薬としては、グリセロール、種々の分子量のポリエチレングリコール、アルギニンなどが挙げられる。

【０１４１】

封入体がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現において有意な程度まで形成されない場合、ポリペプチドは、主に、細胞ホモジネートの遠心分離後に上清中に見出される。ポリペプチドは、さらに、本明細書中に記載されるような方法を使用して上清から単離され得る。

【０１４２】

溶液からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの精製は、種々の技術を使用して達成され得る。ポリペプチドが、ヘキサヒスチジン（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／ｈｅｘａＨｉｓ）のようなタグまたは他の小さなペプチド（例えば、ＦＬＡＧ（Ｅａｓｔｍａｎ Ｋｏｄａｋ Ｃｏ．，Ｎｅｗ Ｈａｖｅｎ，ＣＴ）またはｍｙｃ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ））をそのカルボキシ末端またはアミノ末端のいずれかにおいて含むように合成された場合、カラムマトリクスがタグについて高い親和性を有するアフィニティーカラムに溶液を通すことによって一工程で精製され得る。

【０１４３】

例えば、ポリヒスチジンは、ニッケルに対して大きな親和性および特異性を有して結合する。従って、ニッケルのアフィニティーカラム（例えば、Ｑｉａｇｅｎ（登録商標）ニッケルカラム）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／ｐｏｌｙＨｉｓの精製のために使用され得る。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ § １０．１１．８（Ａｕ

ｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ． ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ １９９３）を参照のこと。

【０１４４】

さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを特異的に認識し得、そして結合し得るモノクローナル抗体の使用によって精製され得る。

【０１４５】

精製のための他の適切な手段はとしては、限定しないが、アフィニティークロマトグラフィー、免疫親和性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、モレキュラーシーブクロマトグラフィー、ＨＰＬＣ、電気泳動（ネイティブな電気泳動を含む）、続くゲル溶出、および分取用等電集束法（「Ｉｓｏｐｒｉｍｅ」ｍａｃｈｉｎｅ／ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ，Ｈｏｅｆｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，ＣＡ）が挙げられる。いくつかの場合において、２つ以上の精製技術を、増加した純度を達成するために組み合わせられ得る。

【０１４６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ ｅｔ ａｌ．，１９６３，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．８５：２１４９；Ｈｏｕｇｈｔｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：５１３２；およびＳｔｅｗａｒｔ ａｎｄ Ｙｏｕｎｇ，Ｓｏｌｉｄ Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．１９８４）に記載されるような当該分野で公知の技術を使用する、化学合成法（例えば、固相ペプチド合成）によって調製され得る。このようなポリペプチドは、アミノ末端にメチオニンを有するかまたは有さないで合成され得る。化学的に合成されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、これらに記載される方法を使用して酸化され得て、ジスルフィド結合を形成し得る。化学的に合成されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、組換え的に産生されるかまたは天然の供給源から精製される対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに匹敵する生物学的活性を有すると期待され、従って、組換えまたは天然のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペ

プチドと相互交換可能に使用され得る。

【０１４７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを得る別の手段は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが天然に見出される供給源の組織および／または流体のような生物学的サンプルからの精製による。このような精製は、本明細書中に記載されるようなタンパク質精製のための方法を使用して行われ得る。精製の間、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの存在が、例えば、組換え的に産生されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはそのペプチドフラグメントに対して調製される抗体を使用してモニターされ得る。

【０１４８】

核酸およびポリペプチドを産生するための多くのさらなる方法は、当該分野において公知であり、この方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対して特異性を有するポリペプチドを産生するために使用され得る。例えば、Ｒｏｂｅｒｔｓ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９４：１２２９７－３０３を参照のこと。これは、mRNAとそのコードされるペプチドとの間の融合タンパク質の産生を記載する。Ｒｏｂｅｒｔｓ，１９９９，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｚ．ｂｏｌ　３：２６８－７３もまた参照のこと。さらに、米国特許第５，８２４，４６９号は、特定の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドを得るための方法を記載する。この手順は、異種プールのオリゴヌクレオチドを生成する工程を包含し、それぞれが、５’無作為化配列、中心予備選択配列、および３’ランダム化配列を有する。得られる異種プールは、所望の生物学的活性を示さない細胞の集団に導入される。次いで、細胞の亜集団を、所定の生物学的機能を示すものについてスクリーニングする。その亜集団から、所望の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドが単離される。

【０１４９】

米国特許第５，７６３，１９２号；同第５，８１４，４７６号；同第５，７２３，３２３号；および同第５，８１７，４８３号は、ペプチドまたはポリペプチドを産生するためのプロセスを記載する。これは、確率論的遺伝子またはそのフラグメントを産生し、次いで、確率論的遺伝子によってコードされた１以上のタ

ンパク質を産生する宿主細胞にこれらの遺伝子を導入することによって達成される。次いで、この宿主は、所望の活性を有するペプチドまたはポリペプチドを産生する、これらのクローンを同定するためにスクリーニングされる。

【０１５０】

ペプチドまたはポリペプチドの産生するための別の方法は、Ａｔｈｅｒｓｙｓ，Ｉｎｃ．によって出願されたＰＣＴ／ＵＳ９８／２００９４（ＷＯ９９／１５６５０）（「Ｒａｎｄｏｍ　Ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ　ｏｆ　Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　ｆｏｒ　Ｇｅｎｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ」（ＲＡＧＥ－ＧＤ）として知られている）に記載されており、このプロセスは、インサイチュ組換え方法によって、内因性遺伝子の発現または遺伝子の過剰発現の活性化を含む。例えば、内因性遺伝子の発現は、非相同性組換えまたは異常な組換えによって、遺伝子の発現を活性化し得る標的細胞中に、調節配列を組み込むことによって、活性化または増加される。この標的ＤＮＡは、まず、放射線に供せられ、そして遺伝子プロモーターに挿入される。このプロモーターは、遺伝子の前方に最終的に配置され、遺伝子の転写を開始する。これは、所望のペプチドまたはポリペプチドの発現より生じる。

【０１５１】

これらの方法は、包括的なＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ライブラリーを作製するために使用され得、これは、続いて、種々のアッセイ（例えば、生化学的アッセイ、細胞アセイおよび全生物アッセイ（例えば、植物、マウスなど））において、ハイスループット表現型スクリーニングのために使用され得る。

【０１５２】

（合成）

本明細書中に記載される核酸およびポリペプチド分子は、組換えおよび他の手段によって産生され得ることは、当業者によって理解される。

【０１５３】

（選択的結合アッセイ）

用語「選択的結合因子」は、１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対して特異性を有する分子を言及する。適切な選択的結合因子としては、抗体およびそ

の誘導体、ポリペプチド、ならびに小分子が挙げられるが、これらに限定されない。適切な選択的結合因子は、当該分野で公知の方法を使用して調製され得る。本発明の例示的なＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチド選択的結合因子は、ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチドの特定の部分を結合し得、これにより、ポリペプチドのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターへの結合を阻害する。

【０１５４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントのような選択的結合因子は、本発明の範囲内である。この抗体は、単一特異的なポリクローナルを含むポリクローナル；モノクローナル（ＭＡｂ）；組換え；キメラ；ヒト化（例えば、ＣＤＲ移植化）；ヒト；単鎖；および／または二特異的；ならびにフラグメント；改変体；またはそれらの誘導体であり得る。抗体フラグメントとしては、ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチド上のエピトープに結合する抗体のこれらの一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素学的切断によって産生されたＦａｂおよびＦ（ａｂ’）フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えＤＮＡ技術（例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現）によって産生されたフラグメントが挙げられる。

【０１５５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的なポリクローナル抗体は、一般に、ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチドおよびアジュバンドの複数回の皮下注射または腹腔内注射によって動物（例えば、ウサギまたはマウス）において産生される。ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチドをキャリアタンパク質に結合させることは、有用であり得、このタンパク質は、キーホールリンペットヘモシアニン、血清、アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリプシンインヒビターのように、免疫化される種において免疫原性である。また、ミョウバンのような凝集剤は、免疫応答を増強させるために使用される。免疫化後、この動物は採血され、そして血清を、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体タイターについてアッセイする。

【０１５６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的なモノクローナル抗体は、培地中の連

続的細胞株によって抗体分子を産生するために提供される、任意の方法を使用して産生される。モノクローナル抗体を調製するために適切な方法の例は、Ｋｏｈｌｅｒら、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５－９７のハイブリドーマ法、およびヒトB細胞ハイブリドーマ法（Ｋｏｚｂｏｒ、１９８４、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３３：３００１；Ｂｒｏｄｅｕｒら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，１９８７））が挙げられる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと反応する、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株がまた、本発明によって提供される。

【０１５７】

本発明のモノクローナル抗体は、治療剤として使用するために、改変され得る。１実施形態は、「キメラ」抗体であり、この重鎖（Ｈ）および／または軽鎖（Ｌ）の一部が、特定の種から誘導されるか、または特定の抗体のクラスもしくはサブクラスの属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である一方で、この鎖の残りは、別の種から誘導されるか、または特定の抗体のクラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である。抗体のフラグメントが所望の生物学的活性を示す限り、これらの抗体のフラグメントも含まれる。Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、１９８５、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８１：６８５１－５５の米国特許第４，８１６，５６７号を参照のこと。

【０１５８】

別の実施形態において、本発明のモノクローナル抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当該分野で周知である。米国特許第５，５８５，０８９号および５，６９３，７６２号を参照のこと。一般に、ヒト化した抗体は、非ヒトである供給源から導入された１以上のアミノ酸残基有する。ヒト化は、例えば、当該分野（Ｊｏｎｅｓら、１９８６、Ｎａｔｕｒｅ３２１：５２２－２５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、１９９８、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－２７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら、１９８８、Ｓｃｉｅｎｃｅ２３９：１５３４－３６）で記載される方法を使用して、鋸状相補的決定領域（ＣＤＲ）の少な

くとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施される。

【０１５９】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合するヒト抗体がまた、本発明によって包含される。内因性の免疫グロブリンの産物の非存在下で、ヒト抗体のレパートリーを産生し得る、トランスジェニック動物（例えば、マウス）を使用して、このような抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗原（すなわち、少なくとも６個の連続アミノ酸を有する）を用いて免疫化することによって産生され、必要に応じて、キャリアに結合される。例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ　Ｓｃｉ．９０：２５５１－５５；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら，１９９３，Ｎａｔｕｒｅ　３６２：２５５－５８；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎら，１９９３，Ｙｅａｒ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏ．７：３３を参照のこと。１つの方法において、このようなトランスジェニック動物は、本明細書中の重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする内因性遺伝子座を無能にし、そしてヒトの重鎖および軽鎖タンパク質をそのゲノムに挿入することによって産生される。次いで、部分的に改変された動物（この動物は、改変体の完全相補体未満を有する）は、所望の免疫系の改変体の全てを得るためにクロスブレッドされる。免疫原が投与される場合、これらのトランスジェニック動物が、ヒト（例えば、マウスではない）アミノ酸配列（このアミノ酸配列は、これらの抗原に対して免疫特異性である改変領域を含む）を有する抗体を産生する。例えば、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９６／０５９２８およびＰＣＴ／ＵＳ９３／０６９２６を参照のこと。さらなる方法は、米国特許第５，５４５，８０７、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９１／２４５およびＰＣＴ／ＧＢ８９／０１２０７、ならびに欧州特許第５４６０７３Ｂ１および５４６０７３Ａ１に記載される。ヒト抗体はまた、宿主細胞中の組換えＤＮＡの発現または本明細書中に記載されるようなハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【０１６０】

代替の実施形態において、ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリから産生され得る（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．２２７：３８１；Ｍａｒｋｓら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：５

８１）。これらにより、糸状のバクテリオファージの表面上の抗体レパートリーのディスプレイを介した模倣免疫選択、および選択した抗原への結合によるファージの続く選択を処理する。１つのこのような技術は、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９８／１７３６４に記載されており、これには、このようなアプローチを使用して、ＭＰＬ－およびｍｓｋ－レポーターについて、高い親和性および機能的なアンタゴニスト抗体の単離が記載される。

【０１６１】

キメラ、ＣＤＲ移植化抗体、およびヒト化抗体は、代表的に組換え方法によって産生される。抗体をコードする核酸は、宿主細胞中に導入され、そして本明細書中に記載される物質および手順を使用して発現される。好ましい実施形態において、この抗体は、哺乳動物宿主細胞（例えば、ＣＨＯ細胞）中で処理される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、本明細書中に記載されるように、宿主細胞中での組換えＤＮＡの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【０１６２】

本発明の抗－ＩＬ－１ｒａ－R抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの検出および定量のために、任意の公知のアッセイ方法（例えば、競合結合アッセイ、直接的および間接的サンドイッチアッセイ、および免疫沈降アッセイ）において使用され得る（Ｓｏｌａ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ　ｏｆ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１４７－１５８（ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，１９８７））。この抗体は、使用されるアッセイ方法に対して、適切である親和性でＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドと結合する。

【０１６３】

診断適用のために、特定の実施形態において、抗－ＩＬ－１ｒａ－R抗体は、検出可能な部分で標識され得る。この検出可能な部分は、直接的または間接的のいずれかで、検出可能なシグナルを産生し得る任意の部分であり得る。例えば、検出可能な部分は、放射性同位体（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{125}Ｉ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、または^{67}Ｇａ）；蛍光化合物または化学的蛍光化合物（フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、もしくはルシフェ

リン）、または酵素（アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、もしくはホースラディシュペルオキシダーゼ）であり得る（Ｂａｙｅｒら，１９９０，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．１８４：１３８－６３）。

【０１６４】

競合結合アッセイは、標識した標準（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、またはその免疫学的に活性な部分）の能力に依存し、限定された量の抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体との結合に関して、試験サンプル検体（ＩＬ－１ｒａ－Ｒペプチド）と競合する。試験サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量は、抗体と結合する標準の量と反比例する。結合する標準の量を決定するのを容易にするために、この抗体は、競合前または後に、代表的に免疫化され、この抗体と結合する標準および検体は、結合しないままの標準および検体から好都合に分離され得る。

【０１６５】

サンドイッチアッセイは、２つの抗体の使用に代表的に関連し、各々は、決定および／または定量されるべきタンパク質の異なる免疫部分またはエピトープに結合し得る。サンドイッチアッセイにおいて、この試験サンプル検体は、固体支持体上に免疫化される第１抗体によって代表的に結合され、その後、第２抗体が、この検体に結合され、可溶の３部の複合体を形成する。例えば、米国特許第４，３７６，１１０を参照のこと。第２抗体自体は、検出可能な部分で標識されるか（直接的なサンドイッチアッセイ）、または検出可能な部分で標識される抗－免疫グロブリン抗体を使用して測定され得る。例えば、サンドイッチアセイの１つの型は、酵素結合イムノソルベント検定法（ＥＬＩＳＡ）（この場合、検出可能な部分は、酵素である）である。

【０１６６】

抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体を含む、選択的結合因子はまた、インビボイメージングのために有用である。検出可能な部分で標識した抗体は、動物に、好ましくは、血流に投与され得、宿主中で標識した抗体の存在および位置がアッセイされる。この抗体は、核磁気共鳴、放射線学、または当該分野で公知の他の検出手段のいずれかによって、動物中で検出可能である任意の部分で標識され得る。

【０１６７】

抗体を含む、本発明の選択的結合因子は、治療剤として使用され得る。これらの治療剤は、一般に、アゴニストまたはアンタゴニストであり、これらは、少なくとも１つのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性を、それぞれ増強または減少させるかのいずれかである。１実施形態中で、本発明のアンタゴニスト抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的に結合し得、そしてインビボまたはインビトロでＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能活性を阻害または排除し得る、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと特異的に結合し得る抗体またはその結合フラグメントである。好ましい実施形態において、選択的結合因子（例えば、アンタゴニスト抗体）は、少なくとも約５０％、および好ましくは、少なくとも約８０％によって、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能活性を阻害する。別の実施形態において、選択的結合アッセイは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（リガンドまたはレセプター）と相互作用し得る抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドであり、これにより、インビトロまたはインビボにおいてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を阻害または排除する。アゴニストおよびアンタゴニスト抗体－ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体を含む、選択的結合因子は、当該分野で周知であるスクリーニングアッセイによって同定される。

【０１６８】

本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ選択的結合因子（例えば、抗体）を含むキットおよび生物学的サンプル中でＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレベルを検出するために有用である他の薬剤に関する。このような薬剤はまた、血清を遮断する検出可能な標識、ポジティブおよびネガティブコントロールサンプル、および検出薬剤を含み得る。

【０１６９】

（マイクロアレイ）

ＤＮＡマイクロアレイ技術は、本発明に従って利用され得る。ＤＮＡマイクロアレイは、固体支持体（例えば、ガラス）上に配置された核酸の小型高密度アレイである。このアレイ内の各細胞またはエレメントは、相補的核酸配列（ｍＲＮＡ）とハイブリダイゼーションするための標識として作用する、単一の核酸種の

複数のコピーを含む。ＤＮＡマイクロアレイ技術を使用する発現プロフィールにおいて、ｍＲＮＡは、細胞または組織から抽出され、次いで、酵素標識されたｃＤＮＡを蛍光標識されたｃＤＮＡに変換される。この材料は、マイクロアレイにハイブリダイズされ、そして未結合のｃＤＮＡは、洗浄により除去される。次いで、このアレイ上に示された個々の遺伝子の発現は、各々核酸分子を標的するために特異的に結合される、標識されたｃＤＮＡの量を定量することによって視覚化される。この方法において、数千の遺伝子の発現が、生物学的材料の単一サンプルから、ハイスループットの並行様式で定量され得る。

【０１７０】

このハイスループット発現プロフィールは、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子に関連して広範の適用を有し、これには、以下が挙げられるが、これに限定されない：治療のための標的として、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ疾患関連遺伝子の同定および確認；関連するＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子およびそのインヒビターの分子毒性；臨床試験のための代替標識の集団および産生の階層化；およびハイスループットスクリーニングにおいて、選択化合物の同定を援助することによって、関連するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド小分子薬物発見を増強すること。

【０１７１】

（化学的誘導体）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの化学的に改変された誘導体は、この開示が、本明細書中に記載された場合、当業者によって調製され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、このポリペプチドに天然で結合した分子の型または位置のいずれかで、異なる様式で改変される。誘導体は、１以上の天然で結合した化学的な基の除去によって形成される分子を含み得る。配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６、または他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドは、１以上のポリマーの共有結合によって改変され得る。例えば、選択されたポリマーは、代表的に水溶性であり、その結果、結合するタンパク質は、水環境（例えば、生理学的な環境）下で沈殿しない。ポリマーの混合物が、適切なポリマーの範囲内に含まれる。好ましくは、目的産物の調製の治療学的使用のために、このポリマーは、薬学的に受容可

能である。

【０１７２】

このポリマーの各々は、任意の分子量を有し得、そして分枝または非分枝であり得る。このポリマーの各々は、代表的に、約２ｋＤａと約１００ｋＤａとの間の平均分子量を有する（この用語「約（およそ）」は、水溶性ポリマーの調製の際に、上記の分子量より多い、いくらか少ない重量を有することを示す）。各ポリマーの平均分子量は、好ましくは、約５ｋＤａと約５０ｋＤａの間、より好ましくは、約１２ｋＤａと約４０ｋＤａとの間、そして最も好ましくは、約２０ｋＤａと約３５Ｄａとの間である。

【０１７３】

適切な水溶性ポリマーまたはその混合物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：Ｎ－連結またはＯ－連結炭水化物、糖、リン酸、ポリエチレン、グリコール（ＰＥＧ）（これは、モノ－（C_1－C_{10}）、アルコキシ－、またはアリールオキシ－ポリエチレングリコールを含む、タンパク質を誘導するために使用されたＰＥＧの形態を含む）、モノメトキシ－ポリエチレングリコール、デキストラン（例えば、低分子量（例えば、約６ｋＤのデキストラン））、セルロース、または他の炭水化物ベースのポリマー、ポリ－（Ｎ－ビニルピロリジン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシ／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、およびビニルアルコール。共有結合したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドマルチマーを調製するために使用され得る、二官能性架橋分子もまた、本発明に含まれる。

【０１７４】

一般に、化学的誘導は、活性化したポリマー分子とタンパク質を反応させるために使用される任意の適切な条件下で、実施され得る。ポリペプチドの化学的誘導体を調製するための方法は、以下の工程を包含する：（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６、または他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドが、１以上のポリマー分子に結合する条件下で、活性化したポリマー分子（例えば、ポリマー分子の反応

性エステルまたはアルデヒド誘導体）とポリペプチドを反応させる工程、ならびに（ｂ）反応生成物を得る工程。最適の反応条件は、既知のパラメータおよび所望の結果に基づいて決定される。例えば、ポリマー分子のタンパク質に対する比が大きくなるほど、結合したポリマー分子の割合も大きくなる。１実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、アミノ末端の単一ポリマー分子部分を有する。例えば、米国特許第５，２３４，７８４号を参照のこと。

【０１７５】

ポリペプチドのペギル化（ｐｅｇｙｌａｔｉｏｎ）は、当該分野で公知の任意のペギル化反応を使用して特異的に実施され得る。このような反応は、例えば、以下の参考文献に記載されている：Ｆｒａｎｃｉｓら，１９９２，Ｆｏｃｕｓ ｏｎ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒｓ ３：４－１０；欧州特許第０１５４３１６号および０４０１３８４号；ならびに米国特許第４，１７９，３３７号。例えば、ペギル化は、本明細書中に記載されるように、反応性ポリエチレングリコール分子（または、類似の反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施され得る。アシル化反応のために、選択されたポリマーは、単一の反応性エステル基を有する。還元的アルキル化について、選択されたポリマーは、単一の反応性アルデヒド基を有する。例えば、反応性アルデヒド、ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドであり、これは、水溶性、またはモノC_1－C_{10}アルコキシもしくはそのアリールオキシ誘導体である（米国特許第５，２５２，７１４号を参照のこと）。

【０１７６】

別の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ビオチンに化学的に連結され得る。次いで、このビオチン／ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド分子は、アビジンに結合され得、その結果、４価のアビジン／ビオチン／ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド分子が得られる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、ジニトロフェノール（ＤＮＰ）またはチリニトロフェノール（ＴＮＰ）に共有結合され得、そして得られた結合体は、抗－ＤＮＰまたは抗－ＴＮＰ－ＩｇＭと共に沈殿し、１０価の十量体の結合体を形成する。

【０１７７】

一般に、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体の投与によって、緩和または調節され得る条件は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについて本明細書中に記載されたものを含む。しかし、本明細書中に開示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、非誘導体化分子と比較した場合、さらなる活性、増強または減少した生物学的活性、または他の特性（例えば、増加または減少した半減期）を有し得る。

【０１７８】

（遺伝子操作した非ヒト動物）

マウス、ラット、または他のげっ歯類；ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物が、さらに本発明の範囲内に含まれ、ここで、天然のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子は分裂（すなわち「ノックアウト」）され、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現レベルは、有意に減少するか、または完全に破壊される。このような動物は、米国特許第５，５５７，０３２号に記載されるような技術および方法を使用して調製され得る。

【０１７９】

本発明は、マウス、ラット、または他のげっ歯類；ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物をさらに含み、この動物のＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の天然の形態または非相同性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のいずれかが、動物によって過剰発現され、これによって、「トランスジェニック」動物を作製する。このようなトランスジェニック動物は、米国特許第５，４８９，７４３号およびＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／２８１２２号に記載されるような周知の方法を使用して調製され得る。

【０１８０】

本発明は、非ヒト動物をさらに含み、ここで、本発明の１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのプロモーターは、（例えば、相同的な組換え方法を使用することによって）活性化されるか、または活性化されず、１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現のレベルを改変する。

【０１８１】

これらの非ヒト動物は、薬物候補物スクリーニングのために使用され得る。こ

のようなスクリーニングにおいて、動物での薬物候補物の影響が測定され得る。例えば、薬物候補物は、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、産生されるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの量は、動物を薬物候補物に曝露した後に測定され得る。さらに、特定の実施形態において、動物での薬物候補物の実際の影響を検出し得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、遺伝子の発現を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。別の例において、ポリペプチドのフラグメントのような、特定の代謝産物の産生により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、このような代謝産物の産生を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。

【０１８２】

（ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド活性の他の修飾因子についてのアッセイ）

いくつかの状態において、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの活性の修飾因子である分子（例えば、アゴニストまたはアンタゴニスト）を同定することが所望され得る。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを調節する天然または合成分子は、本明細書中に記載されるように、１以上のスクリーニングアッセイを使用して同定され得る。このような分子は、インビボ様式またはインビトロ様式のいずれかで、注射、または経口送達、移植デバイスなどによって投与され得る。

【０１８３】

「試験分子」とは、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの活性を調節する（すなわち、増加または減少させる）ための能力について評価する分子を言う。最も一般的に、試験分子は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドと直接的に相互作用する。しかし、試験分子はまた、例えば、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子発現に影響を与えることによって、またはＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）に結合することによって、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド活性を直接的に調節し得る。１実施形態において、試験分子は、少なくとも約10^{-6}M、好ましくは、約10^{-8}M、より好ましくは、約10^{-9}M、そ

してさらにより好ましくは約１０$^{-10}$Mの親和性定数（ａｆｆｉｎｉｔｙ　ｃｏｎｓｔａｎｔ）でＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合する。

【０１８４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用する化合物を同定するための方法は、本発明によって包含される。特定の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用が可能な条件下で、試験分子と共にインキュベートされ、そして相互作用の範囲が測定される。試験分子は、実質的に精製された形態または粗製の混合物中でスクリーニングされ得る。

【０１８５】

特定の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または小分子量の分子であり得、これは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用して、その活性を調節する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調節する分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸と相補的であるか、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を指向または制御する核酸配列に対して相補的である核酸分子、および発現のアンチセンス制御因子として作用する核酸分子を含む。

【０１８６】

一旦、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用する場合に、試験化合物が、同定されると、この分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を増加または減少させる能力についてさらに評価され得る。試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用の測定は、いくつかの形態で実施され得、これには、細胞ベースの結合アッセイ、膜結合アッセイ、液相アッセイ、および免疫アッセイが挙げられる。一般に、試験分子は、特定の期間、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと共にインキュベートされ、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性が、生物学的活性を測定するために１以上のアッセイによって決定される。

【０１８７】

試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用はまた、免疫アッセイにおいて、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を使用して直接的にアッセ

イされ得る。あるいは、本明細書中に記載されるようなエピトープタグを含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの改変形態は、溶液および免疫アッセイ中で使用され得る。

【０１８８】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）との相互作用を介して、生物学的活性を示す場合において、種々のインビトロアッセイが、対応する結合パートナー（選択的結合因子、レセプター、またはリガンド）へのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合を測定するために使用され得る。これらのアッセイは、結合パートナーに対するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合の速度および／または速度を増加または減少させるために、試験分子をスクリーニングするために使用され得る。１アッセイにおいて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、マイクロタイタープレートのウェル中で免疫化される。次いで、放射標識したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（例えば、ヨウ素化したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー）および試験化合物は、このウェルに、一時に一方を（いずれかの順序で）または同時に添加され得る。インキュベーション後に、この壁を洗浄し、そしてシンチレーション計数器を使用して、放射活性を計数し、結合パートナーがＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する範囲を決定する。代表的に、分子は、濃度範囲にわたって試験され、そして試験アッセイの１以上を欠く一連のコントロールウェルは、結果の評価の正確性のために使用され得る。この方法の代わりは、タンパク質の「位置」を逆にする工程を逆にする工程（すなわち、マイクロタイタープレートウェルに対してＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーを免疫化し、試験分子および放射標識したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをインキュベートし、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合の範囲を決定する工程）を包含する。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、第１８章（Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｇｒｅｅｎ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ　Ｉｎｃ．ならびにＷｉｌｅｙおよびＳｏｎｓ１９９５）を参照のこと。

【０１８９】

放射性標識に対する代替として、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはその結

合パートナーは、ビオチンと結合体化され得、そしてビオチン化されたタンパク質の存在が、次いで、酵素（例えば、わさびペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）またはアルカリホスファターゼ（ＡＰ））（これらは、比色定量的に検出される）に結合したストレプトアビジンを使用して検出され得るか、またはストレプトアビジンの蛍光タグ化によって検出され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたは ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（これらは、ビオチンに結合されている）に対する抗体はまた、ＡＰまたはＨＲＰに連結した酵素連結ストレプトアビジンとの複合体のインキュベーションに続いて、検出の目的のために使用され得る。

【０１９０】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーは、アガロースビーズ、アクリルビーズ、または他の型のこのような不活性な固体相基材への付着によって固定化され得る。基材－タンパク質複合体は、相補タンパク質および試験化合物を含む溶液内に配置され得る。インキュベーション後、これらのビーズは、遠心分離によって沈澱され得、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとその結合パートナーとの間の結合の量が、本明細書中に記載の方法を使用して評価され得る。あるいは、基材－タンパク質複合体は、カラムを通過する、試験分子および相補タンパク質を用いてカラム内に固定化され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドトその結合パートナーとの間の複合体の形成が、次いで、本明細書中に記載の技術（例えば、放射性標識または抗体結合）のいずれかを使用して評価され得る。

【０１９１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合タンパク質とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させる試験分子を同定するために有用な別のインビトロアッセイは、表面プラズモン共鳴検出器システム（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅアッセイシステム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ））である。ＢＩＡｃｏｒｅシステムは、製造業者によって特定されるように利用される。このアッセイは、本質的に、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーのいずれかの、

デキストランでコートされたセンサーチップ（これは、検出器に存在する）への共有結合を含む。次いで、この試験化合物および他の相補タンパク質が、同時にかまたは連続的にかのいずれかで、センサーチップを含むチャンバーに注入され得る。結合する相補タンパク質の量は、センサーチップのデキストランコート側面に物理的に関係する分子の質量の変化に基づいて評価され得、この分子の質量の変化は、検出器システムによって測定される。

【０１９２】

いくつかの場合において、２つ以上の試験化合物を一緒に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させるそれらの能力について評価することが所望され得る。これらの場合において、本明細書中に記載のアッセイは、第一の試験化合物と同時にか、またはそれに続いてのいずれかで、このようなさらなる試験化合物を添加することによって容易に改変され得る。このアッセイにおける工程の残りは、本明細書中に記載される。

【０１９３】

インビトロアッセイ（例えば、本明細書中に記載されるもの）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成に対する効果について、多数の化合物をスクリーニングするために、有利に使用され得る。これらのアッセイは、ファージディスプレイ、合成ペプチド、および化学合成ライブラリーにおいて生成された化合物をスクリーニングするために、自動化され得る。

【０１９４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少される化合物はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたは ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーＦのいずれかを発現する細胞および細胞系列を使用して、細胞培養物においてスクリーニングされ得る。細胞および細胞系列は、任意の哺乳動物から得られ得るが、好ましくは、ヒト、または他の霊長類、イヌ類またはげっ歯類の供給源由来である。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー

を発現する細胞への、その表面での結合は、試験化合物の存在または非存在下で評価され、そして結合の程度が、例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーに対するビオチン化抗体を使用するフローサイトメトリーによって決定され得る。細胞培養アッセイは、本明細書中に記載されるタンパク質結合アッセイにおいて、陽性であるとスコア付けされる化合物をさらに特徴付けするために有利に使用され得る。

【０１９５】

細胞培養物はまた、薬物候補の影響をスクリーニングするために使用され得る。例えば、薬物候補は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、生成されるＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメントの量は、細胞培養物の薬物候補への曝露の後に測定され得る。特定の実施形態において、細胞培養物への薬物候補の実質的な影響が検出され得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現は、細胞培養物への特定の影響を有し得る。このような場合に、遺伝子の発現を増加または減少させる薬物候補の能力、または細胞培養物に対する特定の影響を予防または阻害するその能力が試験され得る。他の例において、特定の代謝産物（例えば、ポリペプチドのフラグメントなど）の生成が、疾患または病的状態を生じ得るか、またはそれらと関連し得る。このような場合、細胞培養物におけるこのような代謝産物の生成を減少する薬物候補の能力が試験され得る。

【０１９６】

（内部移行タンパク質）

ｔａｔタンパク質配列（ＨＩＶ由来）が、タンパク質を細胞内に内部移行させるために、使用され得る。例えば、Ｆａｌｗｅｌｌら、１９９４、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９１：６６４－６８を参照のこと。例えば、ＨＩＶ　ｔａｔタンパク質の１１アミノ酸の配列（Ｙ－Ｇ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｒ－Ｑ－Ｒ－Ｒ－Ｒ；配列番号１８）（「タンパク質形質導入ドメイン」、またはＴＡＴ　ＰＤＴを称される）は、細胞の細胞質膜および核膜を横切る送達を媒介するとして記載されている。Ｓｃｈｗａｒｚｅら，１９９９，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８５：１５６９－７２；およびＮａｇａｈａｒａら，１９９８，Ｎａｔ

．Ｍｅｄ．４：１４４９－５２を参照のこと。これらの手順において、ＦＩＴＣ構築物（ＦＩＴＣ標識Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｙ－Ｇ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｒ－Ｑ－Ｒ－Ｒ－Ｒ；配列番号１９）（これは、腹腔内投与に続いて組織を貫通する）が調製され、そしてこのような構築物の細胞への結合が、蛍光細胞分析分離（ＦＡＣＳ）分析によって検出される。ｔａｔ－β－ｇａｌ融合タンパク質で処置された細胞は、β－ｇａｌ活性を示す。注入に続いて、このような構築物の発現が、多くの組織（肝臓、腎臓、肺、心臓および脳組織）において検出され得る。このような構築物は、細胞に入るためにある程度の変性を受け、そしてそれ自体、細胞内への移入に続いて、再折り畳みを必要とし得ると考えられる。

【０１９７】

従って、ｔａｔタンパク質配列は、所望のポリペプチドを細胞に内部移入させるために使用され得ることが理解される。例えば、ｔａｔタンパク質配列を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒアンタゴニスト（例えば、抗ＩＬ－ｌｒａ－Ｒ選択的結合因子、低分子、可溶性レセプター、またはアンチセンスオリゴヌクレオチド）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の活性を阻害するために、細胞内投与され得る。本明細書中で使用される場合、用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子」は、本明細書中に記載されるような、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの両方をいう。所望ならば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒタンパク質自体はまた、これらの手順を使用して、細胞に内部投与され得る。Ｓｔｒａｕｓ，１９９９，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８５：１４６６－６７をまた参照のこと。

【０１９８】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを使用する細胞供給源の同定）

本発明の特定の実施形態に従って、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと関連する特定の細胞型の供給源を決定することを可能することが有用であり得る。例えば、適切な治療を選択する際の補助として疾患または病的状態の起源を決定することが有用であり得る。特定に実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸は、プローブとして使用されて、このようなプローブを用いて細胞の核酸をスクリーニングすることによって、本明細書中に記載の細胞を同定し得る。他の実施形態において、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体を使用し

て、細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの存在について試験し得、従って、このような細胞が本明細書中に記載される型の細胞か否かを決定し得る。

【０１９９】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド組成物および投与）

治療組成物は、本発明の範囲内である。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド薬学的組成物は、治療有効量のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。薬学的組成物は、治療有効量の１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド選択的結合因子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。

【０２００】

受容可能な処方物材料は、好ましくは、使用される投薬量および濃度で、レシピエントに対して非毒性である。

【０２０１】

薬学的組成物は、例えば、ｐＨ、浸透圧、粘度、清澄性、色、等張性、におい、無菌性、安定性、解離または放出の速度、吸着、または組成物の浸透を改変、維持または保存するための処方物材料を含み得る。適切な処方物材料としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジン）、抗菌剤、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウム（ｓｏｄｉｕｍ　ｈｙｄｒｏｇｅｎ－ｓｕｌｆｉｔｅ））、緩衝液（例えば、ホウ酸塩、炭酸水素塩、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、クエン酸塩、リン酸塩、または他の有機酸）、バルキング剤（例えば、マンニトールまたはグリシン）、キレート化剤（エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ））、複合体化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、β－シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン）、フィラー、単糖類、二糖類、および他の炭水化物（例えば、グルコース、マンノースまたはデキストリン）、タンパク質（例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン）、着色剤、味付け剤および希釈剤

、乳化剤、親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）、低分子量ポリペプチド、塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）、保存剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、または過酸化水素）、溶媒（例えば、グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコール）、糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）、懸濁剤、表面活性剤または湿潤剤（例えば、プルオニック（ｐｌｕｒｏｎｉｃ）；ＰＥＧ；ソルビタンエステル；ポリソルビテート（例えば、ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ　２０またはｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ　８０）；トリトン；トロメタミン；レシチン；コレステロールまたはチロキサポール（ｔｙｌｏｘａｐａｌ））、安定性増強剤（例えば、スクロースまたはソルビトール）、張度増強剤（例えば、ハロゲン化アルカリ金属（好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム）、またはマンニトール、ソルビトール）、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または薬学的なアジュバント。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（第１８版，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，編，Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏｍｐａｎｙ　１９９０を参照のこと。

【０２０２】

最適な薬学的組成物は、当業者によって、例えば、意図される投与経路、送達形式、および所望の投薬量に依存して決定される。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，前出を参照のこと。このような組成物は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の、物理的な状態、安定性、インビボ放出の速度、およびインビボクリアランスの速度に影響し得る。

【０２０３】

薬学的組成物における主要なビヒクルまたはキャリアは、本来水性または非水性のいずれかであり得る。例えば、注入のための適切なビヒクルまたはキャリアは、水、生理学的な生理食塩水溶液、または人工脳脊髄液であり、おそらく非経口投与のための組成物において一般的なタンパク質の材料で補充されている。中性の緩衝化生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的なビヒクルである。他の例示的な薬学的組成物は、約ｐＨ７．０－８．

５のＴｒｉｓ緩衝液または約ｐＨ４．０－５．５の酢酸塩緩衝液を含み、これはさらに、ソルビトールまたは適切な置換物を含み得る。本発明の１つの実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド組成物は、所望の程度の純度を有する選択された組成物を、任意の処方薬剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，前出）と混合することによって、凍結乾燥ケークまたは水溶液の形態で、保存のために調製され得る。さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産物は、スクロースのような適切な賦形剤を使用して凍結乾燥物として処方され得る。

【０２０４】

このＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物は、非経口送達のために選択され得る。あるいは、これらの組成物は、吸入または消化管を介する送達（例えば、経口的に）のために、選択され得る。このような薬学的に受容可能な組成物の調製は、当該分野の技術内にある。

【０２０５】

処方成分が、投与の部位に受容可能な濃度で存在する。例えば、緩衝液は、生理学的ｐＨまたは多少より低いｐＨ（典型的に、約５～約８のｐＨ範囲内）にこの組成物を維持するために使用される。

【０２０６】

非経口投与が意図される場合、本発明における使用のための治療組成物は、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子を含む発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。非経口注入のために特に適切なビヒクルは、滅菌蒸留水であり、ここで、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子が、滅菌で、等張溶液として処方され、適切に保存される。なお別の調製は、所望の分子と、薬剤（例えば、注入可能なミクロスフィア、生体侵食（ｂｉｏ－ｅｒｏｄｉｂｌｅ）薬剤、ポリマー化合物（ポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズまたはリポソーム）との処方物に関係し、これは、次いで蓄積注射を介して送達され得る産物の制御されたまたは持続された放出を提供する。ヒアルロン酸がまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する効果を有し得る。所望の分子の導入のための他の適切な手段は、移植可能な薬物送達

デバイスを含む。

【０２０７】

１つの実施形態において、薬学的組成物は、吸入のために処方され得る。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、吸入のための乾燥粉末として処方され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたは核酸分子の吸入溶液はまた、エアロゾル送達のための噴霧体と共に処方され得る。なお別の実施形態において、溶液は、噴霧され得る。肺投与が、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／２００６９にさらに記載され、これは化学的に改変されたタンパク質の肺送達を記載する。

【０２０８】

特定の処方物が、経口投与され得ることがまた意図される。本発明の１つの実施形態において、このよう様式で投与されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、固体投薬形態（例えば、錠剤またはカプセル）の調合において慣用的に使用されるキャリアを伴うか、または伴わず処方され得る。例えば、カプセルは、バイオアベイラビリティーが最大化され、そして前全身分解が最小化される場合、胃腸管内での点で処方物の活性部分を放出するように設計され得る。さらなる薬剤が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの吸収を容易にするために含まれうる。希釈剤、味付け剤、低融点ワックス、植物油、潤滑剤、懸濁剤、錠剤崩壊剤、およびバインダーがまた、使用され得る。

【０２０９】

別の薬学的組成物は、錠剤の製造に適切な非毒性賦形剤との混合物中に、有効量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含み得る。錠剤を滅菌水または別の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液が、単位用量形態で調製され得る。適切な賦形剤は以下を含むが、これらに限定されない：不活性な希釈剤（炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウム、ラクトース、あるいはリン酸カルシウム）；または結合剤（例えば、デンプン、ゼラチンまたはアラビアゴム）；あるいは潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク）。

【０２１０】

さらなるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物は、当業者に明らかで

あり、持続または制御送達処方物中にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含む処方物を含む。種々の他の持続または制御送達手段（例えば、リポソームキャリア、生体侵食マイクロスフィアあるいは多孔性ビーズおよび蓄積注射）を処方するための技術はまた、当業者に公知である。例えば、ＰＣＴ／ＵＳ９３／００８２９（これは、薬学的組成物の送達のための多孔性ポリマー性ミクロ粒子の制御放出を記載する）を参照のこと。

【０２１１】

徐放性調製物のさらなる例としては、成形された物品の形態（例えば、フィルム、またはマイクロカプセル）の半透過性ポリマーマトリックスを含む。徐放性マトリックスとしては、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号および欧州特許第０５８４８１号）、Ｌ－グルタミン酸とγエチル－Ｌ－グルタメートとのコポリマー（Ｓｉｄｍａｎら，１９８３，Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ　２２：５４７－５６）、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）（Ｌａｎｇｅｒら，１９８１，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．１５：１６７－２７７およびＬａｎｇｅｒ，１９８２，Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．１２：９８－１０５）、エチレンビニルアセテート（Ｌａｎｇｅｒら，前出）またはポリ－Ｄ（－）－３－ヒドロキシ酪酸（欧州特許第１３３９８８号）。徐放性組成物はまた、リポソームを含み得、これは、当該分野で公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得る。例えば、Ｅｐｐｓｔｅｉｎら，１９８５，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：３６８８－９２；および欧州特許第０３６６７６号、同第０８８０４６号、および同第１４３９４９号を参照のこと。

【０２１２】

インビボ投与のために使用されるＩＬ－１ｒａ－Ｒの薬学的組成物は、代表的に滅菌でなければならない。このことは、滅菌濾過膜を介する濾過によって達成され得る。組成物が、凍結乾燥される場合、この方法を使用する滅菌は、凍結乾燥および再構成の前に、またはそれに続いてのいずれかで実施され得る。非経口投与のための組成物は、凍結乾燥された形態または溶液で保存され得る。さらに、非経口組成物は、一般に、滅菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈内

溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアル）内に配置される。

【０２１３】

一旦、薬学的組成物が処方されると、それは、滅菌バイアル中に溶液、懸濁液、ゲル、エマルジョン、固体、または脱水和粉末または凍結乾燥粉末として保存され得る。このような処方物は、すぐに使用できる形態または投与の前に再構成を必要とする形態（凍結乾燥された形態）のいずれかで保存され得る。

【０２１４】

特定の実施形態において、本発明は、単一用量投与単位を生成するためのキットに関する。このキットは、各々、乾燥タンパク質を有する第一の容器および水性処方物を有する第二の容器の両方を含み得る。また、本発明の範囲内には、単一および多チャンバーの予め充填されたシリンジ（例えば、液体シリンジおよび分散シリンジ（ｌｙｏｓｙｒｉｎｇｅ））を含むキットが含まれる。

【０２１５】

治療的に使用されるＩＬ－１ｒａ－Ｒの薬学的組成物の有効量は、例えば、治療の内容および目的に依存する。当業者は、処置のための適切な投薬レベルが、従って、送達される分子、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子が使用されている指標、投与の経路、および患者のサイズ（体重、体表面、または器官の大きさ）および状態（年齢および一般的な健康）に、部分的に依存して変化することを理解する。従って、臨床家は、最適な治療効果を得るために、投薬量を力価決定し（ｔｉｔｅｒ）、投与経路を改変し得る。代表的な投薬量は、上記の因子に依存して、約０．１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇ以上までの範囲であり得る。他の実施形態において、投薬量は、０．１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまで；または１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまで；または５μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまでの範囲であり得る。

【０２１６】

投薬の頻度は、使用される処方物中でのＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の薬物動態学のパラメーターに依存する。典型的に、臨床家は、所望の効果を達成する投薬量に達するまで組成物を投与する。組成物は、従って、組成物は、経時的な単一用量

として、２以上の用量（これは、同量の所望の分子を含んでも、含まなくてもよい）として、あるいは移植デバイスまたはカテーテルを介する連続的な注入として、投与され得る。適切な投薬量のさらなる改良は、当業者によって慣用的になされ、そしてそれらによって慣用的に実施される課題の範囲内である。適切な投薬量は、適切な用量－応答データの使用を介して確認され得る。

【０２１７】

薬学的組成物の投与の経路は、以下のような公知の方法と一致する：経口的に；静脈内、腹腔内、脳内（実質内の）、脳室内、筋肉内、眼内、動脈内、門脈内、または病巣内の経路による注入を介して；徐放性系によって；または移植デバイスによって。所望される場合、これらの組成物は、ボーラス注射によって投与され得るか、または注入によって連続的に投与され得るか、または移植デバイスによって投与され得る。

【０２１８】

あるいはまたはさらに、組成物は、その上に所望の分子が吸収されるかまたはカプセル化される膜、スポンジ、または他の適切な材料の移植を介して局所的に投与され得る。移植デバイスが使用される場合、このデバイスは、任意の適切な組織または器官に移植され得、そして所望の分子の送達は、拡散、時限放出ボーラスまたは連続的な投与を介し得る。

【０２１９】

いくつかの場合において、エキソビボ様式において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物を使用することが所望され得る。このような例において、患者から除去された細胞、組織、または器官は、これらの細胞、組織、または器官が引き続いて患者に移植して戻された後にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに曝露される。

【０２２０】

他の場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、本明細書中に記載される方法を使用して、遺伝的に操作されて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現および分泌する特定の細胞を移植することによって送達され得る。このような細胞は、動物またはヒト細胞であり得、そして自己、異種、または外因性の細胞で

あり得る。必要に応じて、細胞は、不死化され得る。免疫学的応答の機会を減少するために、細胞は、周囲の組織の浸潤を回避するために、カプセル化され得る。カプセル化材料は、典型的に、生体適合性の半浸透性ポリマー性包囲物または膜であり、これらは、タンパク質産物の放出を可能にするが、患者の免疫系または周囲の組織からの他の有害な因子によって細胞の破壊を防止する。

【０２２１】

本明細書中において議論されるように、単離された細胞集団（例えば、幹細胞、リンパ球、赤血球、軟骨細胞、ニューロンなど）を１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドで処理することが、望ましくあり得る。このことは、細胞膜に対して透過性の形態である場合には、単離された細胞をこのポリペプチドに直接曝露することによって達成され得る。

【０２２２】

本発明のさらなる実施形態は、治療ポリペプチドのインビトロ産生と、遺伝子治療または細胞治療による治療ポリペプチドの産生および送達との両方のための、細胞および方法（例えば、相同組換えおよび／または他の組換え産生方法）に関する。相同組換えおよび他の組換えの方法を使用して、通常は転写に対してサイレントなＩＬ－１ｒａ－R遺伝子（すなわち、過少発現される遺伝子）を含む細胞を改変し得、これによって、治療有効量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現する細胞を産生し得る。

【０２２３】

相同組換えは、もともとは、遺伝子を標的化して転写活性な遺伝子における変異を誘導するか、または修正するために開発された技術である。Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉ，１９８９，Ｐｒｏｇ．ｉｎ Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．＆ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３６：３０１。基本的な技術が、特定の変異を哺乳動物ゲノムの特定の領域に導入するため（Ｔｈｏｍａｓら、１９８６，Ｃｅｌｌ ４４：４１９－２８；ＴｈｏｍａｓおよびＣａｐｅｃｃｈｉ，１９８７，Ｃｅｌｌ ５１：５０３－１２；Ｄｏｅｔｓｃｈｍａｎら、１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８５：８５８３－８７）、または欠損遺伝子における特定の変異を修正するため（Ｄｏｅｔｓｃｈｍａｎら、１９８７，Ｎａｔｕ

ｒｅ　３３０：５７６－７８）の方法として、開発された。例示的な相同組換え技術は、米国特許第５，２７２，０７１号；欧州特許第９１９３０５１号および同第５０５５００号；ＰＣＴ／ＵＳ９０／０７６４２、ならびにＰＣＴ公開番号ＷＯ　９１／０９９５５）に記載されている。

【０２２４】

相同組換えによって、ゲノムに挿入されるべきＤＮＡ配列は、それを標的ＤＮＡに付着させることによって、目的の遺伝子の特定の領域に指向され得る。この標的ＤＮＡは、ゲノムＤＮＡの領域に相補的（相同）であるヌクレオチド配列である。ゲノムの特定の領域に対して相補的な標的ＤＮＡの小さな断片は、ＤＮＡ複製プロセスの間に、親鎖と接触される。これは、細胞に挿入されてハイブリダイズしたＤＮＡの一般的な特性であり、そして従って、共有される相同領域を介して、内因性ＤＮＡの他の断片と組み換わる。この相補鎖が、変異または異なる配列またはさらなるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドに付着される場合には、これはまた、この組換えの結果として新たに合成された鎖に組み込まれる。プルーフリーディング機能の結果として、ＤＮＡの新たな配列がテンプレートとして働くことが可能である。従って、移入されたＤＮＡは、ゲノムに組み込まれる。

【０２２５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用し得るかまたはその発現を制御し得るＤＮＡの領域（例えば、隣接配列）が、標的ＤＮＡのこれらの断片に付着する。例えば、プロモーター／エンハンサーエレメント、サプレッサ、または外因性転写調節エレメントが、意図される宿主細胞のゲノムに、所望のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡの近位に、このＤＮＡの転写に影響を与えるに十分な配向で、挿入される。制御エレメントは、この宿主細胞ゲノムに存在するＤＮＡの部分を制御する。従って、所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子自体をコードするＤＮＡのトランスフェクションによってではなく、むしろ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写のための認識可能なシグナルを有する内因性遺伝子配列を提供するＤＮＡ調節セグメントと結合した標的ＤＮＡ（目的の内因性遺伝子と相同の領域を含む）の使用によって、達成さ

れ得る。

【０２２６】

例示的な方法において、細胞における所望の標的遺伝子（すなわち、所望の内因性細胞遺伝子）の発現は、予め選択された部位における細胞ゲノムへの相同組換えを介して、少なくとも調節配列、エキソン、およびスプライスドナー部位を含むＤＮＡの導入によって、変更される。これらの構成成分は、新たな転写ユニットの産生を実際に生じるような様式で、染色体（ゲノム）ＤＮＡに導入される（ここで、ＤＮＡ構築物に存在する調節配列、エキソン、およびスプライスドナー部位は、内因性遺伝子に作動可能に連結する）。染色体ＤＮＡへのこれらの構成成分の導入の結果として、所望の内因性遺伝子の発現が変化する。

【０２２７】

本明細書中で記載されるように、変化された遺伝子発現は、通常は得られたままの細胞においてサイレントな（発現されていない）遺伝子の活性化（または発現させる）、ならびに得られたままの細胞において生理学的に有意なレベルでは発現されない遺伝子の発現の増加を包含する。この実施形態はさらに、調節または誘導のパターンを変化させる工程を包含し、その結果、これは、得られたままの細胞において生じる調節または誘導のパターンとは異なり、そして得られたままの細胞において発現される遺伝子の発現を減少（排除を含む）させる。

【０２２８】

細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子からのＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの産生を増加するかまたはこれを引き起こすために相同定組換えが使用され得る１つの方法は、最初に、相同性組換えを使用して、部位特異的組換え系由来の組換え配列（例えば、Ｃｒｅ／ｌｏｘＰ、ＦＬＰ／ＦＲＴ）（Ｓａｕｅｒ，１９９４，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，５：５２１－２；Ｓａｕｅｒ，１９９３，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．，２２５：８９０－９００）を、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドコード領域の上流（すなわち、５’）に配置する工程を包含する。ゲノムＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置された領域に対して相同性の組換え部位を含むプラスミドは、適切なリコンビナーゼ酵素と共に、改変された細胞株に導入される。このリコ

ンビナーゼによって、プラスミドは、このプラスミドの組換え部位を介して、この細胞株のゲノムＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドコード領域のすぐ上流に位置する組換え部位に組込み得る（ＢａｕｂｏｎｉｓおよびＳａｕｅｒ、１９９３，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２１：２０２５－２９；Ｏ’Ｇａｒｍａｎら、１９９１，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５１：１３５１－５５）。転写を増加させることが知られている任意の側方配列（例えば、エンハンサー／プロモーター、イントロン、翻訳エンハンサー）は、このプラスミド中に適切に配置される場合、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド産生を生じる新たなまたは改変された転写単位を作製するような様式で一体化する。

【０２２９】

部位特異的組換え配列が細胞の内在性ゲノムＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置された細胞株を使用するさらなる方法は、細胞株のゲノムの他の位置に第２の組換え部位を導入するために相同性組換えを使用することである。適切な組換え酵素は、次いで、二組換え部位細胞株に導入され、組換え減少（欠失、転化、および転移）を生じ（Ｓａｕｅｒ，１９９４，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，５：５２１－２７；Ｓａｕｅｒ，１９９３，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｘｙｍｏｌ．，２２５：８９０－９００）、これは、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子からの新規なまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド産生を生じる新しいかまたは改変された転写ユニットを作製する。

【０２３０】

細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子からのＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの発現を増加するため、または引き起こすためのさらなるアプローチは、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの産生を生じる様式で、遺伝子（単数または複数）（例えば、転写因子）の発現を増加するかまたは引き起こし、そして／または遺伝子（単数または複数）（例えば、転写リプレッサ）の発現を減少する工程を包含する。この方法は、天然に存在しないポリペプチド（例えば、転写因子ドメインに融合した部位特

異的ＤＮＡ結合ドメインを含むポリペプチド）を、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの産生が起こるように、細胞に導入する工程を包含する。

【０２３１】

本発明はさらに、標的遺伝子の発現を変化させる方法において有用なＤＮＡ構築物に関する。特定の実施形態において、代表的なＤＮＡ構築物は、以下を含む：（ａ）１つ以上の標的配列、（ｂ）制御配列、（ｃ）エキソン、および（ｄ）不対スプライスドナー部位。ＤＮＡ構築物中の標的配列は、エレメント（ａ）～（ｄ）の細胞中の標的遺伝子への組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（ｂ）～（ｄ）は、内在性標的遺伝子の配列に作動可能に連結される。別の実施形態において、ＤＮＡ構築物は、以下を含む：（ａ）１つ以上の標的配列、（ｂ）制御配列、（ｃ）エキソン、（ｄ）スプライスドナー部位、（ｅ）イントロン、および（ｆ）スプライスアクセプター部位。ここで、標的配列は、エレメント（ａ）～（ｆ）の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（ｂ）～（ｆ）は、内在性遺伝子に作動可能に連結される。標的配列は、相同性組換えが生じる細胞染色体ＤＮＡの予め選択された部位に対して相同性である。この構築物において、エキソンは、一般的に、制御配列の３’であり、そしてスプライスドナー部位は、このエキソンの３’である。

【０２３２】

特定の遺伝子の配列（例えば、本明細書中で記載されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの核酸配列）が公知である場合、遺伝子の選択された領域に対して相補的なＤＮＡの部分は、合成されるか、またはそうでなければ、例えば、目的の領域に結合している特定の認識部位におけるネイティブのＤＮＡの適切な制限等によって得られ得る。この部分は、細胞に挿入された際に、標的配列として働き、そしてそのゲノム内の相同性領域にハイブリダイズする。このハイブリダイゼーションが、ＤＮＡ複製の間に生じる場合、このＤＮＡの部分、およびそれに結合した任意のさらなる配列は、Ｏｋａｚａｋｉフラグメントとして作用し、そしてＤＮＡの新たに合成された娘鎖に組み込まれる。従って、本発明は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードするヌクレオチドを含み、このヌクレオチドは、標

的配列として使用され得る。

【０２３３】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド細胞治療（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する細胞の移植）もまた企図される。この実施形態は、生物学的に活性な形態のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを合成および分泌し得る細胞を移植する工程を包含する。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生細胞は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの天然産物である細胞であり得るか、または組換え細胞であって、そのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する能力が、所望のポリペプチドをコードする遺伝子またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を増大する遺伝子で形質転換することによって増大された、組換え細胞であり得る。このような改変は、遺伝子を送達し、その発現および分泌を促進するために適切なベクターによって達成され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを投与されている患者における強力な免疫学的反応を最小化するために、異種のポリペプチドの投与と共に生じる場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する天然の細胞が、ヒト起源であり、そしてヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生することが好ましい。同様に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する組換え細胞が、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子を含む発現ベクターで形質転換されることが好ましい。

【０２３４】

移植細胞は、周辺組織の浸透を回避するようにカプセル化され得る。ヒトまたは非ヒト動物細胞は、生体適合性の半透性ポリマー封入物または膜（これは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの放出を可能にするが、患者の免疫系または周辺組織からの他の有害な因子による細胞の崩壊を防止する）の形態で患者に移植され得る。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをエキソビボで産生するように形質転換された患者自身の細胞が、このようなカプセル化なしで、患者に直接移植され得る。

【０２３５】

生きた細胞をカプセル化するための技術は当該分野で公知であり、そしてカプセル化された細胞の調製およびそれらの患者への移植は、慣用的に達成され得る

。例えば、Ｂａｅｔｇｅら（ＰＣＴ公開WO９５／０５４５２およびＰＣＴ／ＵＳ９４／０９２９９）は、生物学的に活性な分子の効果的な送達のために遺伝子操作された細胞を含む膜カプセルを記載する。このカプセルは、生体適合性であり、そして容易に取り出し可能である。このカプセルは、哺乳動物宿主に移植された際に、インビボで下方制御に供されないプロモーターに作動可能に連結された生物学的に活性な分子をコードするＤＮＡ配列を含む組換えＤＮＡ分子でトランスフェクトされた細胞をカプセル化する。このデバイスは、生きた細胞由来の分子のレシピエント内の特定の部位への送達を提供する。さらに、米国特許第４，８９２，５３８号；同第５，０１１，４７２号；および同第５，１０６，６２７号を参照のこと。生きた細胞をカプセル化するためのシステムは、ＰＣＴ公開WO９１／１０４２５（Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら）に記載される。ＰＣＴ公開を９１／／１０４７０（Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら）；Ｗｉｎｎら、１９９１，Ｅｘｐｅｒ．Ｎｅｕｒｏｌ．１１３：３２２－２９；Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら、１９９１，Ｅｘｐｅｒ．Ｎｅｕｒｏｌ．１１１：２６９－７５；およびＴｒｅｓｃｏら、１９９２，ＡＳＡＩＯ　３８：１７－２３もまた参照のこと。

【０２３６】

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドのインビボおよびインビトロの遺伝子治療送達もまた想定される。遺伝子治療技術の一例は、構成的または誘発性プロモーターに作動可能に連結され得るＩＬ－１ｒａ－RポリペプチドをコードするＩＬ－１ｒａ－R遺伝子（ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡおよび／または合成ＤＮＡのいずれか）を使用して、「遺伝子治療ＤＮＡ構築物」を形成することである。このプロモーターは、内在性ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子に対してホモ接合性またはヘテロ接合性であるが、ただし、これは、構築物が挿入される細胞または組織型において活性である。遺伝子治療ＤＮＡ構築物の他の成分は、必要に応じて、部位特異的組込みのために設計されるＤＮＡ分子（例えば、相同性組換えのために有用な内在性配列）、組織特異的プロモーター、エンハンサーまたはサイレンサー、親細胞を越える選択的優性を提供し得るＤＮＡ分子、形質転換された細胞を同定するための標識として有用なＤＮＡ分子、ネガティブ選択系、細胞特異的結合因子（例えば、細胞標的化について）。細胞特異的内部移行、ベクターからの発現を増大

する転写因子、およびベクターの産生を可能にする因子を含む。

【０２３７】

遺伝子治療ＤＮＡ構築物は、次いで、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターを使用して細胞に導入され得る（エキソビボまたはインビボノいずれか）。遺伝子治療ＤＮＡ構築物を導入するための１つの方法は、本明細書中に記載されるようなウイルスベクターの使用による。特定のベクター（例えば、レトロウイルスベクター）は、ＤＮＡ構築物を細胞の染色体ＤＮＡに送達し、そしてこの遺伝子は、染色体ＤＮＡに組み込まれ得る。他のベクターは、エピソームとして機能し、そして遺伝子治療ＤＮＡ構築物は、細胞質に残る。

【０２３８】

さらに他の実施形態において、制御エレメントが、標的細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の制御された発現のために含められ得る。このようなエレメントは、適切なエフェクターに応答して刺激される。このようにして、治療的ポリペプチドは、所望の場合に発現され得る。１つの従来の制御手段は、低分子結合ドメインおよび生物学的プロセスを開始し得るドメインを含むキメラタンパク質（例えば、ＤＮＡ結合タンパク質または転写活性タンパク質）を二量化する低分子二量化剤またはラパログ（ｒａｐａｌｏｇ）の使用を包含する（ＰＣＴ公開WO９６／４１８６５、WO９７／３１８９８およびWO９７／３１８９９を参照のこと）。タンパク質の二量化は、導入遺伝子の転写を開始するために使用され得る。

【０２３９】

代替の調節技術は、目的の遺伝子から発現されたタンパク質を、凝集体またはクラスターとして細胞の内側に貯蔵する方法を使用する。目的の遺伝子は、内在性小網における凝集タンパク質の保持を生じる、条件的凝集ドメインを含む融合タンパク質として発現される。貯蔵されたタンパク質は安定であり、そして細胞の内側で不活性である。しかし、このタンパク質は、条件的凝集ドメインを除去する薬物（例えば、低分子リガンド）を投与することによって放出され得、それにより、凝集体またはクラスターを破壊し、その結果、このタンパク質は細胞から分泌され得る。Ａｒｉｄｏｒら、２０００，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８７：８１６

－１７およびＲｉｖｅｒａら、２０００，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８７：８２６－３０を参照のこと。

【０２４０】

他の適切な制御手段または遺伝子スイッチとしては、本明細書中で記載される系が挙げられるが、これらに限定されない。Ｍｉｆｅｐｒｉｓｔｏｎｅ（ＲＵ４８６）は、プロゲステロンアンタゴニストとして使用される。改変されたプロゲステロンレセプターリガンド結合ドメインのプロゲステロンアンタゴニストへの結合は、２つの転写因子のダイマーを形成することによって、転写を活性化し、次いで、核に至り、ＤＮＡに結合する。このリガンド結合ドメインは、天然のリガンドに結合するレセプターの能力を排除するように改変される。改変されたステロイドホルモンレセプター系はさらに、米国特許第５，３６４，７９１号、ならびにＰＣＴ公開WO９６／４０９１１およびWO９７／１０３３７に記載される。

【０２４１】

さらに別の制御系は、エクジソンレセプター（細胞質レセプター）に結合し、そしてこれを活性化するエクジソン（ショウジョウバエステロイドホルモン）を使用する。次いで、このレセプターは核に転移し、特定のＤＮＡ応答エレメント（エクジソン応答性遺伝子由来のプロモーター）に結合する。エクジソンレセプターは、トランス活性化ドメイン、ＤＮＡ結合ドメイン、およびリガンド結合ドメインを含み、転写を開始する。エクジソン系はさらに、米国特許第５，５１４，５７８、およびＰＣＴ公開WO９７／３８１１７、WO９６／３７６０９、およびWO９３／０３１６２に記載される。

【０２４２】

別の制御手段は、陽性テトラシクリン制御可能トランス活性化因子を使用する。この系は、転写を活性化するポリペプチドに連結された変異したｔｅｔレプレッサタンパク質ＤＮＡ結合ドメイン（逆テトラサイクリン制御トランス活性化因子タンパク質を生じた変異したｔｅｔＲ－４アミノ酸の変化、すなわち、これは、テトラサイクリンの存在下でｔｅｔオペレーターに結合する）を含む。このような系は、米国特許第５，４６４，７５８号、同第５，６５０，２９８号、およ

び同第５，６５４，１６８号に記載される。

【０２４３】

さらなる発現制御系および核酸構築物は、米国特許第５，７４１，６７９号および同第５，８３４，１８６号（Ｉｎｎｏｖｉｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ Ｉｎｃ．）に記載される。

【０２４４】

インビボ遺伝子治療は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子を、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の局所注射によって、または適切なウイルスもしくは非ウイルス送達ベクターによって、細胞に導入することにより達成され得る。Ｈｅｆｔｉ，１９９４，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ２５：１４１８－３５。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子は、標的細胞への送達のためのアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターに含まれ得る（例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ，ＰＣＴ公開WO９５／３４６７０；ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＵＳ９５／０７１７８を参照のこと。組換えＡＡＶゲノムは、典型的に、機能的プロモーターに作動可能に連結したＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡ配列およびポリアデニル化配列に隣接するＡＡＶ逆末端反復を含む。

【０２４５】

代替の適切なウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、レンチウイルス、肝炎ウイルス、パルボウイルス、パポバウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、コロナウイルス、ラブドウイルス、パラミクソウイルス、および乳頭腫ウイルスベクターが挙げられる。米国特許第５，６７２，３４４号は、組換え神経栄養性ＨＳＶ－１ベクターを含むインビボウイルス媒介遺伝子転移系を記載する。米国特許第５，３９９，３４６号は、治療タンパク質をコードするＤＮＡセグメントを挿入するためにインビトロで処置されたヒト細胞の送達によって、治療タンパク質を患者に提供するためのプロセスの例を提供する。遺伝子治療技術の実施のためのさらなる方法および材料は、米国特許第５，６３１，２３６号（アデノウイルスベクターを含む）、同第５，６７２，５１０号（レトロウイルスベクターを含む）、同第５，６３５，３９９号（サイトカインを発現するレトロウイルスベクターを含む）に記載さ

れる。

【０２４６】

非ウイルス送達法としては、リポローム媒介送達、裸のＤＮＡ送達（直接注射）、レセプター媒介送達（リガンド－ＤＮＡ複合体）、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、および微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃）が挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子治療材料および方法はまた、誘導性プロモーター、組織特異的エンハンサープロモーター、部位特異的組込みのために設計されたＤＮＡ配列、親細胞を越える選択的優性を提供し得るＤＮＡ配列、形質転換された細胞を同定するための標識、ネガティブな選択系および発現制御系（安全性の指標）、細胞特異的結合因子（細胞ターゲッティングのため）、細胞特異的内部移行因子、およびベクターならびにベクター製造の方法による発現を増大する転写因子を含み得る。遺伝子治療技術の実施のためのこのようなさらなる方法および材料は、米国特許第４，９７０，１５４号（エレクトロポレーション技術を含む）、同第５，６７９，５５９号（遺伝子送達のためのリポタンパク質含有系を記載する）、同第５，６７６，９５４号（リポロームキャリアを含む）、同第５，５９３，８７５号（リン酸カルシウムトランスフェクションのための方法を記載する）、および同第４，９４５，０５０同第（生物学的に活性な粒子がある速度で細胞に噴霧され、それによりこの粒子がこの細胞の表面に浸透し、そしてこの細胞の内側に組み込まれるプロセスを記載する）、およびＰＣＴ公開WO９６／４０９５８（各リガンドを含む）に記載される。

【０２４７】

ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子治療または細胞治療はさらに、同じか異なる細胞（単数または複数）における１つ以上のさらなるポリペプチドの送達を含み得ることもまた企図される。このような細胞は、患者に別々に導入され得るか、この細胞は、単一の移植可能デバイス（例えば、上記のカプセル化膜）に含められ得るか、あるいはこの細胞は、ウイルスベクターによって別々に改変され得る。

【０２４８】

遺伝子治療による細胞における内在性ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの発現を増加する手段は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドプロモーターに１つ以上のエン

ハンサーエレメントを挿入することであり、ここでエンハンサーエレメントは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写活性を増加させるように働き得る。使用されるエンハンサーエレメントは、遺伝子を活性化することを所望する組織に基づいて選択される－エンハンサーエレメントは、組織が選択されるという点で、プロモーター活性化を与えることが知られている。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子がＴ細胞において「オンに変わる」場合、ｌｃｋプロモーターエンハンサーエレメントが使用され得る。従って、付加される転写エレメントの機能的部分は、標準的なクローニング技術を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドプロモーターを含むＤＮＡのフラグメントに挿入され得る（そして必要に応じて、ベクターおよび／または５’および／または３’隣接配列に挿入される）。「相同性組換え構築物」として公知のこの構築物は、次いで、エキソビボまたはインビボノいずれかで、所望の細胞に導入され得る。

【０２４９】

遺伝子治療はまた、内在性プロモーターのヌクレオチド配列を改変することによって、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を増加するために使用され得る。このような改変は、典型的に、相同性組換え方法によって達成される。例えば、不活性化のために選択されたＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の全てまたは一部を含むＤＮＡ分子は、転写を調節するプロモーターの断片を除去および／または置換するように操作され得る。例えば、プロモーターの転写活性化因子のＴＡＴＡボックスおよび／または結合部位は、標準的な分子生物学的技術を使用して欠失され得；このような欠失は、プロモーター活性を阻害し得、それにより対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写を阻止し得る。プロモーターにおけるＴＡＴＡボックスまたは転写活性化因子結合部位の欠失は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドプロモーター（調節されるＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子と同じかまたは関連の種由来）のすべてまたは関連の部分を含むＤＮＡ構築物を生成することによって達成され得、ここで、１つ以上のＴＡＴＡボックスおよび／または転写活性化因子結合部位のヌクレオチドは、１つ以上のヌクレオチドの置換、欠失、および／または挿入によって変異される。結果として、ＴＡＴＡボックスおよび／または活性化因子結合部位は、活性を減少するか、または化安全に不活性にされる。この構築物（これ

はまた、典型的に、改変されたプロモーターセグメントに隣接したネイティブの（内在性）５’および３’ＤＮＡ配列に対応する少なくとも約５００塩基のＤＮＡを含む）は、直接または本明細書中に記載されるようなウイルスベクターを介してのいずれかで、適切な細胞に（エキソビボまたはインビボノいずれかで）導入され得る。典型的に、細胞のゲノムＤＮＡへのこの構築物の組込みは、相同性組換えによってであり、ここで、このプロモーター構築物の５’および３’ＤＮＡ配列は、内在性染色体ＤＮＡへのハイブリダイゼーションによって、改変プロモーター領域に一体化するのを助け得る。

【０２５０】

（治療的用途）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストは、多数の疾患、障害または状態（本明細書中で引用されるモノを含む）を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。

【０２５１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアゴニストおよびアンタゴニストは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を調節し、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの成熟形態の少なくとも１つの活性を増加または減少するものを含む。アゴニストまたはアンタゴニストは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用し、それによりその活性を調節する補因子（例えば、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質または低分子量分子）であり得る。強力なポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質の細胞外ドメインの一部または全てを含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの可溶性または膜結合形態のいずれかと反応する抗体を含む。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を調節する分子は、典型的に、発現のアンチセンス制御因子として働き得るＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸を含む。

【０２５２】

例えば、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストは、免疫系不全を含む、疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては

、以下が挙げられるが、これらに限定されない：リウマチ様動脈炎、乾癬性関節炎、炎症性関節炎、変形性関節症、炎症性関節疾患、自己免疫疾患（自己免疫脈管炎を含む）、多発性硬化症、狼瘡、糖尿病（例えば、インスリン糖尿病）、炎症性腸疾患、移植拒絶、移植片対宿主疾患、および骨折、捻挫、軟骨損傷、外傷、整形手術、感染または他の疾患プロセスから生じる炎症状態。免疫系の不全によって影響を受ける他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５３】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、感染を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：らい病、ウイルス感染（例えば、肝炎またはＨＩＶ）、細菌感染（例えば、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ関連疾患、ｃｌｏｓｔｒｉｕｍ関連下痢を含む）、肺結核、急性熱性疾患、熱、肝臓の急性期反応、敗血症または敗血症ショック。感染を含む他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５４】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、体重障害を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：肥満、食欲不振、悪液質（ＡＩＤＳ誘発性悪液質を含む）、筋障害（例えば、敗血症における筋肉タンパク質代謝）、および低血糖症。体重障害を含む他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５５】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、神経機能不全を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アルツハイマー病、パーキンソン病、神経毒性（例えば、ＨＩＶによって誘発されるような）、ＡＬＳ、脳損傷、ストレス、うつ病、痛覚および他の疼痛（癌関連疼痛を含む）、痛覚過敏、癲癇、

学習障害および記憶障害、睡眠障害、ならびに末梢神経障害および中枢神経障害。他の神経学的障害は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５６】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、肺を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：急性もしくは慢性肺損傷（間質性肺疾患を含む）、急性呼吸疾患症候群、肺高血圧症、気腫、嚢胞性線維症、肺性線維症、および喘息。肺の他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５７】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、皮膚を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：乾癬、湿疹および創傷治癒。他の皮膚の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５８】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、腎臓を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：急性および慢性糸球体腎炎。他の腎臓の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、骨を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：骨粗鬆症、変形性関節症、骨形成不全症、パジェット病、歯周疾患、一時性顎関節疾患、および高カルシウム血症。他の骨の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６０】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、血管系を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：出血または発作、出血性ショック、虚血（心臓虚血および大脳虚血、例えば、外傷、癲癇、出血または発作の結果としての脳損傷（これらの各々は、神経変性を生じる）を含む）、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、再狭窄、再灌流障害、および新脈管形成。他の血管系の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６１】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、腫瘍細胞を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：リンパ腫、骨肉腫、慢性および急性骨髄性白血病（ＣＭＬおよびＡＭＬ）、および他の白血病、多発性骨髄腫、肺癌、乳癌、腫瘍転移、および放射線治療の副作用。他の腫瘍細胞を含む疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６２】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、生殖器系を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：不妊症、流産、早期分娩および早期産、ならびに子宮内膜症。他の生殖器系を含む疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６３】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、眼を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：炎症性眼疾患（例えば、角膜移植に関連し得る）、網膜変性、失明、黄斑変性、緑内障、ブドウ膜炎、および網膜．ニューロパ

シー。他の眼の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６４】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、疾患（例えば、急性膵炎、慢性疲労症候群、線維素血症、および川崎病（ＭＬＮＳ））を処置するために使用され得る。

【０２６５】

ＩＬ－１インヒビターは、ＩＬ－１に対する細胞性レセプターの活性化を特異的に防止し得る任意のタンパク質を含み、これは、任意の数の機構から生じ得る。このような機構は、ＩＬ－１産生のダウンレギュレーション、遊離ＩＬ－１の結合、ＩＬ－１のそのレセプターへの結合の妨害、ＩＬ－１レセプター複合体（すなわち、ＩＬ－１レセプター付属タンパク質とのＩＬ－１レセプターの結合）の形成の妨害、およびＩＬ－１のそのレセプターへの結合後のシグナル伝達の妨害を含む。このようなインターロイキン－１インヒビターとしては、以下が挙げられる：本明細書中に記載されるような、ＩＬ－１ｒａ－Ｒのようなインターロイキン－１レセプター抗体（例えば、欧州特許第６２３６７４号）、可溶性ＩＬ－１レセプターのようなＩＬ－１結合タンパク質（例えば、米国特許第５，４９２，８８８号、同第５，４８８，０３２号、同第５，４６４，９３７号、同第５，３１９，０７１号、および同第５，１８０，８１２）、抗ＩＬ－１モノクローナル抗体（例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９５／０１９９７、ＷＯ９４／０２６２７、ＷＯ９０／０６３７１；米国特許第４，９３５，３４３号；および欧州特許第３６４７７８号、同第２６７６１１号および同第２２００６３号）、ＩＬ－１レセプター付属タンパク質およびそれらに対する抗体（例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９６／２３０６７）；インターロイキン－１β変換酵素（ＩＣＥ）またはカスパーゼＩのインヒビター（これを使用して、ＩＬ－１β産生および分泌を阻害し得る）、インターロイキン－１βプロテアーゼインヒビター、ならびにＩＬ－１のインビボ合成または細胞外放出を遮断する他の化合物およびタンパク質。

【０２６６】

例示的なＩＬ－１インヒビターは、以下において開示される：米国特許第５，７４７，４４４号、同第５，３５９，０３２号、同第５，６０８，０３５号、同

第５，８４３，９０５号、同第５，３５９，０３２号、同第５，８６６，５７６号、同第５，８６９，６６０号、同第５，８６９，３１５号、同第５，８７２，０９５号、同第５，９５５，４８０号；ＰＣＴ公開WO９８／２１９５７、WO９６／０９３２３、WO９１／１７１８４、WO９６／４０９０７、WO９８／３２７３３、WO９８／４２３２５、WO９８／４４９４０、WO９８／４７８９２、WO９８／５６３７７、WO９９／０３８３７、WO９９／０６４２６、WO９９／０６０４２、WO９１／１７２４９、WO９８／３２７３３、WO９８／１７６６１、WO９７／０８１７４、WO９５／３４３２６、WO９９／３６４２６、およびWO９９／３６４１５；欧州特許第５３４９７８号および同第８９４７９５；および仏国特許出願ＦＲ　２７６２５１４。

【０２６７】

インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａ）は、インターロイキン－１の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。好ましいレセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａならびにその改変体および誘導体を含む）、ならびに、その作成方法および使用方法は、米国特許第５，０７５，２２２号；ＰＣＴ公開WO９１／０８２８５、WO９１／１７１８４、WO９２／１６２２１、WO９３／２１９４６、WO９４／０６４５７、WO９４／２１２７５、WO９４／２１２３５、WO９４／２０５１７、WO９６／２２７９３、WO９７／２８８２８、ａｎｄWO９９／３６５４１；豪国特許第ＡＵ　９１７３６３６号；仏国特許第ＦＲ　２７０６７７２号；および独国特許第ＤＥ　４２１９６２６号に記載される。このようなタンパク質には、グリコシル化ＩＬ－１レセプターアンタゴニストおよび非グリコシル化ＩＬ－１レセプターアンタゴニストが含まれる。

【０２６８】

具体的には、Ｉｌ－１ｒａおよびその改変体の３つの代表的な形態が、５，０７５，２２２特許に開示されかつ記載される。これらのうち１つ目は、「ＩＬ－１ｉ」と呼ばれ、Ｔｒｉｓ緩衝液（ｐＨ７．６）中の約５２ｍＭ　ＮａＣｌにてＭｏｎｏＱ　ＦＰＬＣカラムから溶出して、適切な４．８の等電点を有する、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにおける２２～２３ｋＤの分子として特徴付けされる。２番目（

ＩＬ－１ｒａβ）は、４８mM ＮａＣｌでＭｏｎｏＱカラムから溶出して、２２～２３ｋＤのタンパク質として特徴付けられる。ＩＬ－１ｒａαおよびＩＬ－１ｒａβの両方がグリコシル化される。３番目（ＩＬ－１ｒａχ）は、４８mM ＮａＣｌでＭｏｎｏＱカラムから溶出して、２０ｋＤのタンパク質として特徴付けられる。米国特許第５，０７５，２２２号はまた、これらのインヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、この遺伝子を適切なベクターおよび細胞型でクローン化するための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてこれらのインヒビターを産生するための方法を開示する。

【０２６９】

当業者は、欠失、挿入および置換の多くの組合せ（本明細書中では個々にまたは集約的に「改変体（単数または複数）」）が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒのアミノ酸配列内で成され得、但し、得られる分子は、生物学的に活性である（例えば、本明細書中に記載されるような疾患および障害の１つ以上に影響を及ぼす能力を有する）ことを、当業者は認識する。

【０２７０】

本発明により検討されるように、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、他の治療のアジュバントとして、そしてまた処置される兆候に適切な薬学的組成物と共に投与され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、および１つ以上の更なる治療または薬学的処方のうちのいずれかが、別々にか、続けてか、または同時に投与され得る。

【０２７１】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に記載される疾患および障害の処置または予防のための１つ以上のＴＮＦインヒビターのいずれかと組合わせた（前処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。

【０２７２】

このようなＴＮＦインヒビターとしては、ＴＮＦのインビボ合成または細胞外放出を遮断する化合物およびタンパク質が挙げられる。特定の実施形態において、本発明は、以下のＴＮＦインヒビターの１つ以上のいずれかと組合わせた（前

処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する：ＴＮＦ結合タンパク質（本明細書中で定義されるような、可溶性ＴＮＦレセプターＩ型および可溶性ＴＮＦレセプターＩＩ型（「ｓＴＮＦ」）、抗ＴＮＦ抗体、顆粒球コロニー刺激因子、サリドマイド、ＢＮ　５０７３０、ｔｅｎｉｄａｐ、Ｅ　５５３１、ｔｉａｐａｆａｎｔ　ＰＣＡ　４２４８、ｎｉｍｅｓｕｌｉｄｅ、ｐａｎａｖｉｒ、ｒｏｌｉｐｒａｍ、ＲＰ　７３４０１、ペプチドＴ、ＭＤＬ　２０１，４４９Ａ、（ｌＲ，３Ｓ）－Ｃｉｓ－１－［９－（２，６－ジアミノ）プリニル］－３－ヒドロキシ－４－シクロペンタン塩酸塩、（ｌＲ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－（９－（２、６－ジアミノ）プリン］－３－アセトキシシクロペンタン塩酸塩、（１Ｒ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－［９－アデニル）－３－アジドシクロペンタン塩酸および（１Ｒ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－（６－ヒドロキシ－プリン－９－イル）－３－アジドシクロ－ペンタン。ＴＮＦ結合タンパク質は、当該分野で開示される（米国特許第５，１３６，０２１号；欧州特許第３０８３７８号、同第４２２３３９号、同第３９３４３８号、同第３９８３２７号、同第４１２４８６号、同第４１８０１４号、同第４３３９００号、同第４６４５３３号、同第５１２５２８号、同第５２６９０５号、同第５６８９２８号、同第４１７５６３号；ＰＣＴ公開ＷＯ９０／１３５７５、ＷＯ９１／０３５５３、ＷＯ９２／０１００２、ＷＯ９２／１３０９５、ＷＯ９２／１６２２１、ＷＯ９３／０７８６３、ＷＯ９３／２１９４６、ＷＯ９３／１９７７７、ＷＯ９４／０６４７６、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９７／１２２４４；英国特許第ＧＢ２２１８１０１号および同第２２４６５６９号；ならびに日本国特許出願１２７，８００／１９９１）。

【０２７３】

例えば、欧州特許第３９３４３８号および同第４２２３３９号は、可溶性ＴＮＦレセプターＩ型（「ｓＴＮＦＲ－Ｉ」または「３０ｋＤ　ＴＮＦインヒビター」としても公知）および可溶性ＴＮＦレセプターＩＩ型（「ｓＴＮＦＲ－ＩＩ」または「４０ｋＤ　ＴＮＦインヒビター」としても公知）（集約的に「ｓＴＮＦＲ」と称する）ならびにその成熟形態（例えば、フラグメント、機能的誘導体、および改変体）のアミノ酸配列および核酸配列を教示する。欧州特許第３９３４

３８号および同第４２２３３９号はまた、インヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローニングするための方法、およびこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。さらに、ＴＮＦＲ－ＩおよびｓＴＮＦＲ－ＩＩの多原子価形態（すなわち、１つ以上の活性部部を含む分子）もまた開示された。１つの実施形態において、多原子価形態は、少なくとも１つのＴＮＦインヒビターおよび別の部分を、任意の臨床的に受容可能なリンカー（例えば、ポリエチレングリコール）と化学的にカップリングすることにより（ＰＣＴ公開WO９２／１６２２１およびWO９５／３４３２６）、ペプチドリンカーにより（（Ｎｅｖｅら、１９９６、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ、８：３６５－７０）、ビオチンへの化学的カップリングおよび次いでアビジンへの結合（ＰＣＴ公開WO９１／０３５５３）により、そして最後に、キメラ抗体分を組合わせることにより（米国特許第５，１１６，９６４号；ＰＣＴ公開WO８９／０９６２２およびWO９１／１６４３７；ならびに欧州特許第３１５０６２号）構築され得る。

【０２７４】

抗ＴＮＦ抗体としては、以下が挙げられる：ＭＡＫ １９５Ｆ Ｆａｂ抗体（Ｈｏｌｌｅｒら、１９９３、Ｉｓｔ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ ｏｎ Ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ ｉｎ Ｂｏｎｅ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ １４７）、ＣＤＰ ５７１抗－ＴＮＦモノクローナル抗体（Ｒａｎｋｉｎら、１９９５、Ｂｒ． Ｊ． Ｒｈｅｕｍａｔｏｌ．、３４：３３４－４２）、ＢＡＹ Ｘ １３５１マウス抗腫瘍壊死因子モノクローナル抗体（Ｋｉｅｆｔら、１９９５，７ｔｈ Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｃｏｎｇｒｅｓｓ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅｓ ９）；ＣｅｎＴＮＦ ｃＡ２抗ＴＮＦモノクローナル抗体（Ｅｌｌｉｏｔｔ ら、１９９４、Ｌａｎｃｅｔ、３４４：１１２５－２７；Ｅｌｌｉｏｔｔら、１９９４、Ｌａｎｃｅｔ、３４４： １１０５－１０）。

【０２７５】

特定の実施形態において、本発明は、分泌または可溶性のヒトｆａｓ抗原また

はその組換えバージョン（ＰＣＴ公開WO９６／２０２０６；Ｍｏｕｎｔｚら、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：４８２９－３７；および欧州特許第５１０６９１号）と組合わせた（前処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＰＣＴ公開WO９６／２０２０６は、分泌ヒトｆａｓ抗原（ネイティブおよび組換え、Ｉｇ融合タンパク質を含む）、可溶性組換えヒトｆａｓ抗原のコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローン化するための方法、およびこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。欧州特許第５１０６９１号は、ヒトｆａｓ抗原をコードする核酸を開示し、可溶性ｆａｓ抗原、上記の核酸を発現するためのベクター、およびこのベクターでトランスフェクトされた形質転換体を含む。非経口的に投与される場合、分泌または可溶性のｆａｓ抗原融合タンパク質の用量は、それぞれ一般的に、約１μｇ／ｋｇ～約１００μｇ／ｋｇである。

【０２７６】

本明細書中に列挙される疾患および障害（リウマチ性疾患のような急性および慢性の炎症を含む）の現在の処置は、一般的に、疼痛および炎症の制御のための第１の系統の薬物の使用を包含し；これらの薬物は、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）として分類される。二次的な処置は、コルチコステロイド（遅い作用性の抗リウマチ薬（ＳＡＡＲＤ）、または疾患改善（ＤＭ）薬を含む。以下の化合物に関する情報は、Ｔｈｅ Ｍｅｒｃｋ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ （第１６版、１９９２）およびＰｈａｒｍａｐｒｏｊｅｃｔｓ （ＰＪＢ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｌｔｄ）に見出され得る。

【０２７７】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙される疾患および障害（リウマチ性疾患のような急性および慢性の炎症および移植片対宿主病を含む）の処置のためのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＮＳＡＩＤは、少なくとも部分的に、プロスタグランジン合成の阻害に対して、その抗炎症性作用を担う（ＧｏｏｄｍａｎおよびＧｉｌｍａｎ、Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏ

ｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ（第7版、１９８５））。ＮＳＡＩＤは、以下の９つのグループに特徴付けられ得る：（１）サリチル酸誘導体、（２）プロピオン酸誘導体、（３）酢酸誘導体、（４）フェナム酸誘導体、（５）カルボン酸誘導体、（６）酪酸誘導体、（７）オキシカム類、（８）ピラゾール類、および（９）ピラゾロン類。

【０２７８】

別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩と組合わせた（前処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。このようなサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセトアミノサロール（ａｃｅｔａｍｉｎｏｓａｌｏｌ）、アロキシプリン（ａｌｏｘｉｐｒｉｎ）、アスピリン、ベノリレート（ｂｅｎｏｒｙｌａｔｅ）、ブロモサリゲニン、アセチルサリチル酸カルシウム、コリンマグネシウムトリサリチレート、サリチル酸マグネシウム、コリンサリチレート、ジフルシナル（ｄｉｆｌｕｓｉｎａｌ）、エテルサレート（ｅｔｅｒｓａｌａｔｅ）、フェンドサル（ｆｅｎｄｏｓａｌ）、ゲンチシン酸、サリチル酸グリコール、イミダゾールサリチレート、リシンアセチルサリチレート、メサラミン、モルホリンサリチレート、１－ナフチルサリチレート、オルサラジン、パーサルミド（ｐａｒｓａｌｍｉｄｅ）、アセチルサリチル酸フェニル、サリチル酸フェニル、サルアセタミド（ｓａｌａｃｅｔａｍｉｄｅ）、サリチルアミド Ｏ－酢酸、サルサレート、サリチル酸ナトリウムおよびスルファサラジン。同様の鎮痛特性および抗炎症特性を有する構造的に関連したサリチル酸誘導体はまた、このグループに包含されることが意図される。

【０２７９】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のプロピオン酸誘導体、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。プロピオン酸誘導体、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アルミノプロフェン、ベノキサプロフェン、

ブクロクス酸、カルプロフェン、デキシンドプロフェン（ｄｅｘｉｎｄｏｐｒｏｆｅｎ）、フェノプロフェン、フルノキサプロフェン、フルプロフェン、フルルビプロフェン、フルクロプロフェン、イブプロフェン、イブプロフェンアルミニウム、イブプロキサム、インドプロフェン、イソプロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン（ｌｏｘｏｐｒｏｆｅｎ）、ミロプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピケトプロフェン、ピメプロフェン、ピルプロフェン、プラノプロフェン、プロチジン酸、ピリドキシプロフェン（ｐｙｒｉｄｏｘｉｐｒｏｆｅｎ）、スプロフェン、チアプロフェン酸およびチオキサプロフェン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したプロピオン酸誘導体はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８０】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上の酢酸誘導体、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。酢酸誘導体、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセメタシン、アルクロフェナック、アンフェナク、ブフェキサマック、シンメタシン、クロピラク、デルメタシン（ｄｅｌｍｅｔａｃｉｎ）、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェルビナク、フェンクロフェナク、フェンクロラク、フェンクロジン酸、フェンチアザク、フロフェナク、グルカメタシン、イブフェナック、インドメタシン、イソフェゾラク、イソキセパック、ロナゾラク、メチアジン酸（ｍｅｔｉａｚｉｎｉｃ　ａｃｉｄ）、オキサメタシン、オキシピナック（ｏｘｐｉｎａｃ）、ピメタシン、プログルメタシン、スリンダク、タルメタシン、チアラミド、チオピナク、トルメチン、トルメチンナトリウム、ジドメタシンおよびゾメピラク。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酢酸誘導体はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８１】

別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のフェナム酸誘導体、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた

（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。フェナム酸誘導体、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：エンフェナム酸、エトフェナマート、フルフェナム酸、イソニキシン、メクロフェナム酸、メクロフェナメートナトリウム、メドフェナム酸（ｍｅｄｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ）、メフェナム酸、ニフルム酸、タルニフルマート、テロフェナマート、トルフェナム酸およびウフェナマート。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したフェナム酸誘導体はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８２】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のカルボン酸誘導体、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。以下を含むカルボン酸誘導体、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩が使用され得る：クリダナク、ジフルニサル、フルフェニサール、イノリジン（ｉｎｏｒｉｄｉｎｅ）、ケトロラク酸およびチノリジン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したカルボン酸誘導体はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８３】

なお特定の実施形態において、本発明は、１つ以上の酪酸誘導体、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。酪酸誘導体、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ブマジソン、ブチブフェンおよびキセンブシン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酪酸誘導体はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８４】

別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のオキシカン、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関す

る。オキシカム、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ドロキシカム、エノリカム、イソキシカム、ピロキシカム、スドキシカム、テノキシカムおよび４－ヒドロキシ－１，２－ベンゾチアジン１，１－ジオキシド４－（Ｎ－フェニル）－カルボキサミド。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したオキシカムはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８５】

なお別の特異的な実施形態において、本発明は、１つ以上のピラゾール、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。以下を含むピラゾール、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩が使用され得る：ジフェナミゾールおよびエピリゾール。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾールはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８６】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のピラゾロン、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ピラゾロン、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アパゾン、アザプロパゾン、ベンズピペリロン、フェプラゾン、モフェブタゾン、モラゾン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピペブゾン、プロピルフェナゾン、ラミフェナゾン、スキシブゾンおよびチアゾリノブタゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾロンはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８７】

別の特定の実施形態において、本発明は、以下のＮＳＡＩＤの１つ以上のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する：ε－アセトアミドカプロン酸、Ｓ－アデノシルメチオニン、３－アミノ－４－ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン、アニトラザフェ

ン、アントラフェニン、ベンダザック、ベンダザックリジネート（ｂｅｎｄａｚａｃ　ｌｙｓｉｎａｔｅ）、ベンジダミン、ベプロジン（ｂｅｐｒｏｚｉｎ）、ブロペラモール、ブコローム、ブフェゾラク、シプロカゾン、クロキシマート、ダジダミン、デボキサメト、デトミジン、ジフェンピラミド、ジフェンピラミド、ジフィサラミン（ｄｉｆｉｓａｌａｍｉｎｅ）、ジタゾール、エモルファゾン、ファネチゾールメシレート、フェンフルミゾール、フロクタフェニン、フルミゾール、フルニキシン、フルプロカゾン、フォピルトリン（ｆｏｐｉｒｔｏｌｉｎｅ）、フォスフォサル、グアイメサール、グアイアゾレン（ｇｕａｉａｚｏｌｅｎｅ）、イソニキシン（ｉｓｏｎｉｘｉｒｎ）、レフェタミンＨＣｌ、レフルノミド、ロフェミゾール、ロチファゾール、リジンクロニキシネート（ｌｙｓｉｎ　ｃｌｏｎｉｘｉｎａｔｅ）、メセクラゾン、ナブメトン、ニクチンドール、ニメスリド、オルゴテイン、オルパノキシン、オキサセプロール、オキサパドール、パラニリン（ｐａｒａｎｙｌｉｎｅ）、ペリソキサール、クエン酸ペリソキサール、ピフォキシム、ピプロキセン（ｐｉｐｒｏｘｅｎ）、ピラゾラク、ピルフェニドン、プロカゾン、プロキサゾール、チエラビンＢ（ｔｈｉｅｌａｖｉｎ　Ｂ）、チフラミゾール、チメガジン、トレクチン、トルパドール、トリプトアミド（ｔｒｙｐｔａｍｉｄ）および４８０１５６Ｓ、ＡＡ８６１、ＡＤ１５９０、ＡＦＰ８０２、ＡＦＰ８６０、ＡＩ７７Ｂ、ＡＰ５０４、ＡＵ８００１、ＢＰＰＣ、ＢＷ５４０Ｃ、ＣＨＩＮＯＩＮ　１２７、ＣＮ１００、ＥＢ３８２、ＥＬ５０８、Ｆ１０４４、ＦＫ－５０６、ＧＶ３６５８、ＩＴＦ１８２、ＫＣＮＴＥＩ６０９０、ＫＭＥ４、ＬＡ２８５１、ＭＲ７１４、ＭＲ８９７、ＭＹ３０９、ＯＮ０３１４４、ＰＲ８２３、ＰＶ１０２、ＰＶ１０８、Ｒ８３０、ＲＳ２１３１、ＳＣＲ１５２、ＳＨ４４０、ＳＩＲ１３３、ＳＰＡＳ５１０、ＳＱ２７２３９、ＳＴ２８１、ＳＹ６００１、ＴＡ６０、ＴＡＩ－９０１（４－ベンゾイル－１－インタンカルボン酸）、ＴＶＸ２７０６、Ｕ６０２５７、ＵＲ２３０１およびＷＹ４１７７０のような会社コード番号によって登録されるようなＮＳＡＩＤ。ＮＳＡＩＤに対して類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＮＳＡＩＤはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８８】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上の副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下に由来するヒドロコルチゾンおよび化合物を含む：２１－アセトキシプレグネノロン、アルクロメラゾン、アルゲストン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ベタメタゾンバレレート、ブデソニド、クロロプレドニゾロン、クロベタゾール、クロベタゾールプロピオネート、クロベタゾン、クロベタゾンブチレート、クロコルトロン、クロプレドノール、コルチコステロン、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコン、デソニド、デスオキシメラゾン、デキサメタゾン、ジフロラゾン、ジフルコルトロン、ジフルプレドネート、エノキソロン、フルアザコート、フルクロロニド、フルメタゾン、フルメタゾンピバレート、フルシノロンアセトニド、フルニソリド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、フルコーチンブチル、フルオコルトロン、フルオコルトロンヘキサノエート、ジフルコルトロンバレレート、フルオロメタロン、フルペロロンブチレート、フルプレドニデンアセテート、フルプレドニゾロン、フルランデノリド、ホルモコータル、ハルシノニド、ハロメタゾン、ハロプレドンアセテート、ヒドロコルタメート、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、ヒドロコルチゾンホスフェート、ヒドロコルチゾン２１－ナトリウムサクシネート、ヒドロコルチゾンテブテート、マジプレドン、メドリゾン、メプレドニゾンメチルプレドニソロン、モメタゾンフロエート、パラメタゾン、プレドニカルベート、プレドニゾロン、プレドニゾロン２１－ジエドリアミノアセテート、プレドニゾロンナトリウムホスフェート、プレドニゾロンナトリウムサクシネート、プレドニゾロンナトリウム２１－ｍ－スルホベンゾネート、プレドニゾロン２１－ステアログリコレート、プレドニゾロンブチレート、トリメチルアセテート、プレドニゾロン２１－トリメチルアセテート、プレドニゾン、プレドニバル、プレドニリデン、プレドニリデン２１－ジエチ

ルアミノアセテート、チキソコートル、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンベネトニド、およびトリアムシノロンヘキサアセトニドのようなヒドロコルチゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した副腎皮質コルチコイドはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８９】

別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上の遅効性の抗リウマチ性薬物（ＳＡＡＲＤ）または疾患改変抗リウマチ性薬物（ＤＭＡＲＤＳ）、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＳＡＡＲＤまたはＤＭＡＲＤ、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アロキュプレイドナトリウム、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アウロチオグリカニド、アザチオプリン、ブレキナール（ｂｒｅｑｕｉｎａｒ）ナトリウム、ブシラミン、カルシウム３－アウロチオ－２－プロパノール－１－スルホネート、クロラムブシル、クロロキン、クロブザリット、キュプロキソリン、シクロホスホアミド、シクロスポリン、ダプソン、１５－デオキシスペルグアリン、ジアセレイン、グルコサミン、金塩（例えば、シクロキン金塩、金ナトリウムチオマレート、金ナトリウムチオスルフェート）、ヒドロキシクロロキン、ヒドロキシクロロキンスルフェート、ヒドロキシ尿素、ケブゾン、レバミゾール、ロベンザリット、メリチン、６－メルカプトプリン、メトトレキセート、ミゾリビン、ミコフェノレートモフェチル（ｍｏｆｅｔｉｌ）、ミオラル、ナイトロジェン・マスタード、Ｄ－ペニシルアミン、ピリジノール、イミダゾール（例えば、ＳＫＮＦ８６００２およびＳＢ２０３５８０）、ラパマイシン、チオール、サイモポエチン、およびビンクリスチン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＳＡＡＲＤまたはＤＭＡＲＤはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２９０】

別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上のＣＯＸ２インヒビター、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＣＯＸ２インヒビター、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩の例としては、例えば、セレコキシブ（ｃｅｌｅｃｏｘｉｂ）が挙げられる。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＣＯＸ２はまた、この群に含まれることが意図される。

【０２９１】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に記載される疾患および障害の処置のための、１つ以上の抗菌剤、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。抗菌剤としては、例えば、ペニシリン、セファロスポリンおよび他のβ－ラクタム、アミノ配糖体、アゾール、キロノン類、マクロライド、リファマイシン、テトラサイクリン、スルホンアミド、リンコサミド（ｌｉｎｃｏｓａｍｉｄｅ）およびポリミキシンの広範なクラスが挙げられる。ペニシリンは、以下を含むがこれらに限定されない：ペニシリンＧ、ペニシリンＶ、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フロクサシリン、アンピシリン、アンピシリン／スルバクタム、アモキシリン、アモキシリン／クラブラン酸、ヘタシリン、シクラシリン（ｃｙｃｌａｃｉｌｌｉｎ）、バカンピシリン、カルベニシリン、カルベニシリンインダニル（ｃａｒｂｅｎｉｃｉｌｌｉｎ　ｉｎｄａｎｙｌ）、チカルシリン、チカルシリン／クラブラン酸、アズロシリン、メズロシリン、ピペラシリン（ｐｅｐｅｒａｃｉｌｌｉｎ）、およびメシリナム。セファロスポリンおよび他のβ－ラクタムとしては、以下を含むがこれらに限定されない：セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セフラジン、セファゾリン、セファドロキシル、セファクロール、セファマンドール、セフォテタン、セフォキシチン、セルロキシム（ｃｅｒｕｒｏｘｉｍｅ）、セフォニシド、セフォラジン（ｃｅｆｏｒａｄｉｎｅ）、セフィキシム、セフォタ

キシム、モキサラクタム、セフチゾキシム、セトリアキソン（ｃｅｔｒｉａｘｏｎｅ）、セフォペラゾン（ｃｅｐｈｏｐｅｒａｚｏｎｅ）、セフタジジム、イミペネムおよびアズトレオナム。アミノ配糖体としては、以下を含むがこれらに限定されない：ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ネチルマイシン、カナマイシンおよびネオマイシン。アゾールとしては、フルコナゾールを含むがこれに限定されない。キノロン類としては、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、エノキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシンおよびテマフロキサシンを含むがこれらに限定されない。マクロライドとしては、エリスロマイシン（ｅｒｙｔｈｏｍｙｃｉｎ）、スピラマイシンおよびアジスロマイシンを含むがこれらに限定されない。リファマイシンとしては、リファンピンを含むがこれに限定されない。テトラサイクリンとしては、スピサイクリン（ｓｐｉｃｙｃｌｉｎｅ）、クロルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、デオキシサイクリン（ｄｅｏｘｙｃｙｃｌｉｎｅ）
、グアメサイクリン（ｇｕａｍｅｃｙｃｌｉｎｅ）、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ペニメピロサイクリン、ピパサイクリン、ロリテトラサイクリン、サンサイクリン、セノサイクリン（ｓｅｎｏｃｉｃｌｉｎ）およびテトラサイクリンを含むがこれらに限定されない。スルホンアミドとしては、スルホニルアミド、スルファメトキシサゾール、スルファセタミド、スルファジアジン、スルフィソキサゾールおよびｃｏ－トリモキサゾール（トリメトプリム／スルファメトキシサゾール）を含むがこれらに限定されない。リンコサミドとしては、クリンダマイシンおよびリンコマイシンを含むがこれらに限定されない。ポリミキシン（ポリペプチド）としては、ポリミキシンＢおよびコリスチンを含むがこれらに限定されない。

【０２９２】

ＩＬ－１ＲＡ－Ｆポリペプチド機能のアゴニストまたはアンタゴニストは、処置される状態に適切であるように、１つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および／または化学療法剤と組み合わせて（同時にかまたは引き続き）使用され得る。

【０２９３】

望ましくないレベルの１つ以上のＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドによって引き起こされるかまたは媒介される他の疾患は、本発明の範囲内に含まれる。望ましくないレベルとしては、過度のレベルのＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、および正常以下のレベルのＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが挙げられる。

【０２９４】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド）

本発明の核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子および関連遺伝子の染色体上の位置をマッピングし得る。マッピングは、当該分野で公知の技術（例えば、ＰＣＲ増幅およびインサイチュハイブリダイゼーション）により行われ得る。

【０２９５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）は、哺乳動物組織または体液サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の存在について、定性的または定量的のいずれかで試験するための、診断アッセイにおけるハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得る。

【０２９６】

他の方法はまた、１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの活性を阻害することが所望される場合に使用され得る。このような阻害は、発現制御配列（三重らせん形成）またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡに相補的でありかつ発現制御配列（三重らせん形成）またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡにハイブリダイズする核酸分子によりもたらされ得る。例えば、アンチセンスＤＮＡまたはＲＮＡ分子（これらは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の少なくとも一部に相補的である配列を有する）は、細胞中に導入され得る。アンチセンスプローブは、本明細書中に開示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の配列を使用して、利用可能な技術により設計され得る。代表的には、このようなアンチセンス分子の各々は、選択された各ＩＬ

－１ｒａ－Ｒ遺伝子の開始部位（５’末端）に相補的である。このアンチセンス分子が次いで、対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡにハイブリダイズする場合、このｍＲＮＡの翻訳は、防止されるかまたは低減される。アンチセンスインヒビターは、細胞または生物におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの減少または不在に関連する情報を提供する。

【０２９７】

あるいは、遺伝子治療を使用して、１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの優性ネガティブインヒビターを作製し得る。この状況において、各選択されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの変異体ポリペプチドをコードするＤＮＡは、調製され得、そして本明細書中に記載されるウイルスまたは非ウイルスの方法のいずれかを使用して患者の細胞中に導入され得る。このような変異体の各々は、代表的にはその生物学的役割において内因性ポリペプチドと競合するように設計される。

【０２９８】

さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（生物学的に活性でも活性でなくても）免疫原として使用され得、すなわち、これらのポリペプチドは、それに対して抗体が誘発され得る少なくとも１つのエピトープを含有する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する選択的結合因子（本明細書中に記載されるように）は、インビボおよびインビトロでの診断目的のために使用され得、これらの目的としては、体液サンプルまたは細胞サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの存在を検出するための標識された形態での使用を含むが、これに限定されない。これらの抗体をまた使用して、本明細書中に列挙される疾患および障害を含む多数の疾患および障害を、予防、処置、または診断し得る。これらの抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも１つの活性特徴を低減するかまたは遮断するように、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合し得るか、またはポリペプチドに結合してＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも１つの活性特徴を増加し得る（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬物動態を増加させることによるものを含む）。

【０２９９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、発現クローニングストラテジーを使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターをクローン化するために使用され得る。放射性標識（^{125}ヨウ素）されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはアフィニティ／活性－タグ化ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（例えば、Ｆｃ融合またはアルカリホスファターゼ融合）を、結合アッセイにおいて使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞型または細胞株または組織を同定し得る。このような細胞または組織から単離されたＲＮＡは、ｃＤＮＡに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローン化され、そして哺乳動物細胞（例えば、ＣＯＳまたは２９３細胞）にトランスフェクトされて発現ライブラリーを生成する。放射性標識されるかまたはタグ化されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、次いで、アフィニティリガンドとして使用されて、このライブラリーから、その表面上にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞のサブセットを同定および単離し得る。ＤＮＡは、次いでこれらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次発現ライブラリー（ここで、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞の画分は、元のライブラリーよりも何倍も高い）を作製し得る。この富化プロセスは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを含有する単一の組換えクローンが単離されるまで繰り返し反復され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターの単離は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル伝達経路の新規なアゴニストおよびアンタゴニストを同定または開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター抗体、低分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれ、そしてこれらは、本明細書中に記載される疾患または障害の１つ以上を、処置、予防、または診断するために使用され得る。

【０３００】

ヒトＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡの寄託（受託番号ＰＴＡ－１４２３を有する）を、アメリカン　タイプ　カルチャー　コレクション（ＡＴＣＣ）（バージニア　２０１１０－２２０９、マナサス、ユニバーシティブールバード　１０８０１）にて２０００年2月２９日に行った。

【０３０１】

以下の実施例は、例示目的のみのために意図され、本発明の範囲をどちらにしても限定するとは解釈されるべきではない。

【０３０２】

（実施例１：ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子のクローニング）

概して、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載されるような材料および方法を、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子をクローン化および分析するために使用した。

【０３０３】

ヒトＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡ配列を単離するために、専有データベース（Ａｍｇｅｎ、Ｔｈｏｕｓａｎｄ　Ｏａｋｓ、ＣＡ）の検索を、クローンｓｈｏｓ１－００００３－ｄ１を問い合わせ（ｑｕｅｒｙ）配列として使用して行った。この様式で同定された４２３ｂｐの配列は、アミノ酸レベルで問い合わせ配列に対して４１％同一性を共有することが見出された。この配列内の最も高い相同性の領域を使用して、ｃＤＮＡ供給源の同定およびｃＤＮＡクローンの生成のために、種々のＰＣＲストラテジーを使用して、遺伝子特異的オリゴヌクレオチドを設計した。

【０３０４】

多数のｃＤＮＡライブラリーを、２５μｌの全反応容積で、１０ｎｇのｃＤＮＡテンプレートＤＮＡ、１０ｐｍｏｌのアンプリマー（ａｍｐｌｉｍｅｒ）：２３４９－９８（５’－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｇ－３’；配列番号２０）および２３４９－９９（５’－Ｔ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－３’；配列番号２１）、ならびにＲｅａｄｙ－Ｔｏ－Ｇｏ　ＰＣＲビーズ（Ａｍｅｒｓｈａｍ－Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を含有する増幅反応で分析した。反応を、９５℃にて５分間を１サイクル；９５℃にて１５秒間、６３℃にて１５秒間、そして７２℃にて１分間を３０サイクル；および７２℃にて１０分間を１サイクルにて行った。予測されたサイズ（

１５３ｂｐ）のＰＣＲ産物を、多数のｃＤＮＡライブラリー（ヒト胎児頭皮（オリゴ－ｄＴでプライムした（ｐｒｉｍｅｄ）もの）およびヒト胎盤（オリゴ－ｄＴでプライムしたものおよびランダムにプライムしたもの）を含む）において同定した。

【０３０５】

胎児頭皮よび胎盤のｃＤＮＡライブラリーを、以下のようにして調製した。全ＲＮＡを、ヒト胎児頭皮から、およびヒト胎盤から標準的なＲＮＡ抽出手順を使用して抽出し、そしてポリ－A^+ＲＮＡを、標準的な手順を使用してこの全ＲＮＡから選択した。ランダムにプライムされたかオリゴ－ｄＴでプライムされたｃＤＮＡを、このポリ－Ａ＋ＲＮＡから、ｃＤＮＡ合成およびプラスミドクローニングキット用のＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）を使用して、製造者の示唆したプロトコルに従って合成した。得られたｃＤＮＡを、適切な制限酵素を用いて消化し、次いでｐＳＰＯＲＴ－１、または他の適切なクローニングベクターにライゲーションする。ライゲーション産物を、標準的な技術を使用してＥ．ｃｏｌｉに形質転換し、そして細菌性形質転換体を、アンピシリン、テトラサイクリン、カナマイシン、またはクロラムフェニコールのいずれかを含有する培養プレートで選択した。ｃＤＮＡライブラリーは、これらの形質転換体の全てまたはサブセットから構成された。

【０３０６】

５’ＲＡＣＥ反応および３’ＲＡＣＥ反応の両方を、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての全長ｃＤＮＡ配列を作成するために行った。ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、５’ＲＡＣＥを、１０ｎｇのオリゴプライムされたヒト胎児頭皮ｃＤＮＡライブラリーをｐＳＰＯＲＴ１ならびにプライマー１５７２－３６（５’－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ　Ｇ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｃ－３’；配列番号２２）および２３４９－９９を使用して行った。反応を、９４℃にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間そして７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間そして７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、６８度にて１０秒間、そして７

２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。入れ子式（ｎｅｓｔｅｄ）ＰＣＲを、５’ＲＡＣＥ増幅産物の一部およびプライマー２３２８－９１（５’－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２３）および２３５１－４７（５’－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－ＧＣ－３’；配列番号２４）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９４にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間、そして７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、６８℃にて１０秒間、そして７２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。

【０３０７】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の３’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、３’ＲＡＣＥを、１０ｎｇのオリゴ－ｄＴでプライムされたヒト胎児頭皮ｃＤＮＡライブラリーを使用してｐＳＰＯＲＴＩならびにプライマー２３５１－４８（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号２５）および２３２９－９３（５’－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２６）で行った。反応を９４℃にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間、および７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間、および７２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。入れ子式ＰＣＲを、３’ＲＡＣＥ増幅産物の一部およびプライマー２３６３－０４（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－ＴＧ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２７）および２３２９－９４（５’－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号２８）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９５℃にて１分間を１サイクル；９５℃にて３０秒間および６９℃にて１分間を３０サイクル；な

らびに６８℃にて７分間を１サイクルで行った。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての全長ｃＤＮＡ配列を、５’ＲＡＣＥクローンおよび３’ＲＡＣＥクローンの得られた収集物からアセンブルした。

【０３０８】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’部分を、ヒト胎盤Ｍａｒａｔｈｏｎ™ ｃＤＮＡライブラリー（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）由来のｃＤＮＡ配列を独立して単離することにより確認した。ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、５’ＲＡＣＥを、１ｎｇのヒト胎盤ｃＤＮＡならびにプライマーＡＰ－１（５’－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２９；Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）および２３５３－８７（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－ＴＧ－３’；配列番号３０）を使用して行った。反応を、９４℃にて２分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて１．５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間および７０℃にて１．５分間を５サイクル９４℃にて５秒間および６８℃にて１．５分間を２５サイクル；および８６℃にて７分間を１サイクルで行った。入れ子式ＰＣＲを、５’ＲＡＣＥ増幅産物の一部ならびにプライマーＡＰ－１および２３４９－５２（５’－Ｃ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ａ－３’；配列番号３１）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９４℃にて２分間を１サイクル；９４℃にて１０秒間および６８℃にて１．５分間を３０サイクル；および６９℃にて７分間を１サイクルで行った。

【０３０９】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての推定ｃＤＮＡ配列の配列分析は、この遺伝子が、１５２個のアミノ酸をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレーム（図１Ａ～１Ｂ）を含むことを示した。ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの配列改変体もまた同定された。この改変体の配列分析は、この改変体についての遺伝子もまた、１５２個のアミノ酸をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレーム（図２Ａ～２Ｂ）を含むことを示唆した。この改変体

のヌクレオチド配列は、２つのヌクレオチド位置においてヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子と異なる。

【０３１０】

図４Ａ～４Ｂは、以下のアミノ酸配列アラインメントを図示する：ヒトＩＬ－１α（ＩＬ－１_ａｌｐｈａ；配列番号7）、ヒトＩＬ－１β（ＩＬ－１ _ｂｅｔａ；配列番号８）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ；配列番号９）、ヒトＩＬ－１δ（ＩＬ１ _ｄｅｌｔａ；配列番号１０）、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）、ヒトＴａｎｇｏ－７７（Ｔａｎｇｏ－７７；配列番号１１）、ヒトＺｉｌｌａ４（Ｚｉｌｌａ４；配列番号１２）、ヒトＩＬ－１ζ（ＩＬ－１ _ｚｅｔａ；配列番号１３）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニストβ（ＩＬ－１ＲＡ _β；配列番号１４）、ヒトＳＰＯＩＬ ＩＩ（Ｓｐｏｉｌ _ＩＩ；配列番号１５）、ヒトＩＬ－１ε（ＩＬ－１_ｅｐｓｉｌｏｎ；配列番号１６）、およびヒトＩＬ－ｌ１η（ＩＬ１_ｅｔａ；配列番号１７）。図５は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子ファミリーの系統発生的関係を模式的に図示する。

【０３１１】

（実施例２：ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子スプライシングバリアント（改変体）のクローニング）

概して、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライシング改変体（バリアント）をコードする遺伝子をクローニングおよび分析するためには、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載の材料および方法を用いた。

【０３１２】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのスプライシング改変体をコードする全長ｃＤＮＡを、以下のように調製したヒト胎盤ｃＤＮＡライブラリーから単離した。標準的ＲＮＡ抽出手順を用いて、総ＲＮＡをヒト胎盤から抽出し、そして標準的手順を用いてこの総ＲＮＡからポリ－Ａ＋ＲＮＡを選択した。製造業者の示唆したプロトコールに従って、ｃＤＮＡ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ Ｐｌａｓｍｉｄ Ｃｌｏｎｉｎｇキット（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）のためのＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ Ｐｌａｓｍｉｄ Ｓｙｓｔｅｍを用いて、このポリ－A^+ＲＮＡから

、オリゴ－ｄＴプライムしたｃＤＮＡを、合成した。得られたｃＤＮＡをＮｏｔＩで消化し、次いで０．８％アガロースゲル上での電気泳動によって分画した。０．８～１．６ｋｂのフラグメントを単離し、精製し、次いでｐＳＰＯＲＴ－１に連結した。連結（ライゲーション）産物を、標準的技術を用いてＥ．ｃｏｌｉ中に形質転換し、そして細菌形質転換体を、アンピシリン含有培養プレート上で選択した。得られた形質転換体をプールして、ｃＤＮＡライブラリーを生成し、そしてプログラムＤＮＡを、このｃＤＮＡライブラリーの１２のプール（それぞれが約８０，０００コロニーを含有する）から調製した。

【０３１３】

１０ｎｇのテンプレートＤＮＡ、アンプライマー２３４９～９８および２３４９～９９（各、０．４μＭの濃度）、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中で、各ｃＤＮＡライブラリープールを、分析した。９４℃５分を１サイクル；９４℃３０秒、６５℃３０秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。ｃＤＮＡライブラリープールをまた、１０ｎｇのテンプレートＤＮＡ、アンプライマー２３４９～５１（５’－Ａ－Ａ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－３’；配列番号３２）および２３４９～５２（各、０．４μＭの濃度）、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中で、分析した。９４℃５分を１サイクル；９４℃３０秒、６５℃３０秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。次いで、これらの反応で得られたＰＣＲ産物をアガロースゲル上で分析した。

【０３１４】

これらのプール由来のプラスミドＤＮＡは、期待されるサイズを有するＰＣＲ産物を生成した。そして、これらの各々の陽性プール由来の3×10^{5}クローンを、アンプライマー２３４９－９８および２３４９－９９を用いるＰＣＲによってスクリーニングした。ＰＣＲによって生成したＰＣＲ産物（ｚｈｖｔ－０００３２９）の１つを、^{32}Ｐ－ｄＣＴＰで標識し、プローブとして用いて、陽性の

ｃＤＮＡライブラリーのプールを再スクリーニングした。細菌コロニーを、（１５０mmプレートあたり、約５０，０００で）プレートし、次いで、ニトロセルロースフィルター上に吊り上げた。ＥｘｐｒｅｓｓＨｙｂハイブリダイゼーション溶液（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）中で６８℃３０分間、フィルターをプレハイブリダイズし、次いで、標識プローブを添加した同じ溶液中で、６８℃一晩ハイブリダイズした。ハイブリダイゼーション後、このフィルターを、２×ＳＳＣおよび０．０５％ＳＤＳ中で、室温で１０分間２回洗浄し、次いで０．１×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で、６８℃で３０分間２回洗浄した。次いで、強化スクリーンを有するオートラジオグラフィーに－８０℃で２時間フィルターを曝した。ｃＤＮＡライブラリープールの１つから、約１．２ｋｂのインサートを含有する陽性クローン（ＲＤＳ＃１９９９１８５０３）を、同定した。別のｃＤＮＡライブラリープールから、約０．８ｋｂのサイズのインサートを含有する第二の陽性クローン（ＲＤＳ＃１９９９１８５０１）を、同定した。これらのクローンの各々からプラスミドＤＮＡを調製し、そして配列を分析した。

【０３１５】

これらのクローンの１つについて予想されるｃＤＮＡ配列の配列分析によって、このｃＤＮＡが、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（実施例１を参照）の改変体をコードすることが示された。この改変体をコードする遺伝子は、１７１アミノ酸のタンパク質をコードする５１３ｂｐのオープンリーディングフレームを含む（図３）。

【０３１６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（Ｇｅｎｂａｎｋ登録番号ＡＣ０１６７２４，コンティグ．フラグメント７６６４９－９６３４２）を含有するヒトゲノムの配列分析により、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の最初のエキソン（実施例１を参照）が、Ｉｌ－１オメガ（Ｏｍｅｇａ）（Ｇｅｎｂａｎｋ登録番号Ｚ３０００５０）の最後のエキソンの４．１ｋｂ下流に存在するが示された。ゲノム中のこれらの２つの遺伝子の密接な近似により、本ポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子、またはその改変体（実施例１を参照）の第二のエキソン上のＩＬ－１オメガ（Ｏｍｅｇａ）の最初の２つのエキソンのスプライシング（または融合）から生じ得ること

が示唆される。従って、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの改変体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒスプライシング改変体、融合タンパク質、などであり得る。ＩＬ－１Ｏｍｅｇａにおける第二エキソンおよびＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（またはその改変体）の第二エキソンの並列（ｊｕｘｔａｐｏｓｉｔｉｏｎ）は、シグナルペプチドとして機能するらしい、Ｎ末端を有するタンパク質をコードする配列を生じる。図６は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（成熟（Ｍａｔｕｒｅ）ＣＳ３２９）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの配列改変体（成熟ＣＳ３２９改変体タンパク質）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのスプライシング改変体（オメガ（Ｏｍｅｇａ）３２９タンパク質）との間の関係を図示する。

【０３１７】

（実施例３：マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子のクローニング）

概して、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子をクローニングおよび分析するためには、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載の材料および方法を用いた。

【０３１８】

マウスＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡを単離するために、７日齢マウス胚ｃＤＮＡライブラリーテンプレートテンプレート、ならびにアンプライマー２５５７－９５（５’－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号３３）および２５５７～９６（５’－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｇ－３’；配列番号３４）、ならびに標準的技術を用いて、ＰＣＲを実施した。

【０３１９】

マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定ｃＤＮＡ配列の配列分析によって、この遺伝子が、１５２アミノ酸のタンパク質をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレームを含むことが示された（図７）。図８は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｈｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）およびマウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｍｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号３６）のアミノ酸配列アラインメントを例示する。図９Ａ～９Ｉは、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝

子（配列番号３７）のゲノムヌクレオチド配列を例示する。エキソン１～４のコード部分の位置を示す（下線）。

【０３２０】

（実施例４：ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNA発現）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNAの発現を、１０ｎｇのｃＤＮＡライブラリーテンプレートＤＮＡ、１０ｐｍｏｌのアンプライマー２３４９～９８および２３４９～９９、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中でのＰＣＲによって検討した。９５℃５分を１サイクル；９５℃１５秒、６３℃１５秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。ヒト胎児頭皮、ヒト胎児眼、ヒト膀胱、およびヒト胎盤を含む、多数のｃＤＮＡライブラリー中から、予期されたサイズ（１５３ｂｐ）のＰＣＲ産物を、同定した。ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNA発現をまた、アンプライマー２３４９～５１および２３４９－５２、ならびにＴｉｔａｎシステム（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ）を用いるＲＴ－ＰＣＲによって、胎児眼および胎児脾臓中で検出した。５５℃３０分を１サイクル；９４℃１５秒、６４℃１５秒、および６８℃５０秒（１サイクルについて２秒ずつ増加）を３０サイクル；ならびに６８℃７分を１サイクルで、これらの反応を実施した。

【０３２１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNAの発現を、ヒトおよびマウスのＲＮＡブロット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）を用いたノーザンブロット分析によって試験した。ブロットをまず、Ｐｒｅ－Ｈｙｂ溶液（Ａｍｅｒｓｈａｍ）中で６５℃で３０分間、プレハイブリダイズし、次いで、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡ配列のヌクレオチド１～４７４に対応する、２５ｎｇの^{32}Ｐ標識プローブを含有する同じ溶液中で、６５℃一晩プローブした。このプローブを、ＲｅｄｉＰｒｉｍｅ　ＩＩキット（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）を用いて標識した。ハイブリダイゼーション後、ブロットを、６×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で、１時間２回、２×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で１時間２回、２×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で、１時間２回、０．２×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で３０分間

２回洗浄し、次いで２×ＳＳＣ中でリンスした。ホスホルイメージャー（ｐｈｏｓｐｈｏｒｉｍａｇｅｒ）中のノーザンブロットの一晩の曝露後、約１．６ｋｂの転写物を、マウスの骨格筋中で検出し（図１０Ａ）、そして約２．９ｋｂの転写物を、ヒトの膵臓および末梢血白血球中で検出した（図１０Ｂおよび１０Ｃ）。同じプローブを用いたドットブロット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）の分析において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNAをマウス骨格筋、顎下腺、および精巣上体中で検出した。

【０３２２】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　mRNAの発現を、インサイチュハイブリダイゼーションによって局在化した。正常胚および成体マウス組織のパネルを４％パラホルムアミド中で固定し、パラフィンに包埋し、そして５μmに切片化した。切片化した組織を、０．２Ｍ　ＨＣｌ中で透過化処理し、プロテイナーゼＫで消化し、そしてトリエタノールアミンおよび無水酢酸でアセチル化した。切片を、ハイブリダイゼーション溶液（３００mM　ＮａＣｌ、２０mM　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、pH８．０，5mM　ＥＤＴＡ、１×デンハート溶液、０．２％　ＳＤＳ、１０mM　ＤＴＴ、０．２５mg／ｍｌ　ｔRNA、２５μｇ／ｍｌ　ポリA，２５μｇ／ｍｌ　ポリCおよび５０％ホルムアミド）中で１時間６０℃でプレハイブリダイズし、次いで、１０％デキストランおよび２×１０^{4}ｃｐｍ／μｌの^{33}Ｐ－標識アンチセンスリボプローブ（ヒトＩＬ－１ｒａ－R遺伝子に相補的）を含有する同じ溶液中で６０℃で一晩ハイブリダイズする。標準的技術を用いて、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｃDNAを含有するクローンのインビトロ転写によって、このリボプローブを得る。

【０３２３】

ハイブリダイゼーション後、切片を、ハイブリダイゼーション溶液中でリンスし、ＲＮａｓｅＡで処理してハイブリダイズしていないプローブを消化し、次いで０．１×ＳＳＣ中で５５℃で３０分間洗浄する。次いで、切片をＮＴＢ－２エマルジョン（Ｋｏｄａｋ，Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ，ＮＹ）に浸し、４℃に３週間曝し、発色させ、そしてヘマトキシリンおよびエオシンで対比染色する。組織形態学およびハイブリダイゼーションシグナルを、脳（矢状断面１つおよび冠状断面

２つ）、胃腸管（食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、近位結腸、および遠位結腸）、下垂体、肝臓、肺、心臓、脾臓、胸腺、リンパ節、腎臓、副腎、膀胱、膵臓、唾液腺、雄性および雌性生殖器（雌性の卵巣、卵管、および子宮；ならびに雄性の精巣上体、前立腺、精嚢および輸精管）、ＢＡＴおよびＷＡＴ（皮下、腎臓周囲）、骨（大腿）、皮膚、乳房、および骨格筋についての暗野かつ標準のイルミネーションによって同時に分析する。

【０３２４】

（実施例５：ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生成）

（Ａ．細菌におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現）

ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、この配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。増幅したＤＮＡ産物を改変して、発現ベクター内への挿入を可能にするために制限酵素部位を含むようにし得る。ＰＣＲ産物をゲル精製し、そして標準的組み換えＤＮＡ方法論を用いて発現ベクター中に挿入する。ｌｕｘプロモーターおよびカナマイシン耐性をコードする遺伝子を含むｐＡＭＧ２１（ＡＴＣＣ番号９８１１３）のような代表的ベクターを、挿入したＤＮＡの方向性クローニングのために、ＢａｍＨＩおよびＮｄｅＩを用いて消化する。連結した混合物を、エレクトロポレーションによってＥ．ｃｏｌｉ宿主株中に形質転換し、そして形質転換体をカナマイシン耐性について選択する。選択したコロニー由来のプラスミドＤＮＡを、単離し、そしてＤＮＡ配列決定に供してインサート（挿入物）の存在を確認する。

【０３２５】

形質転換した宿主細胞を、導入前に、３０μｇ／ｍＬカナマイシンを含有する２×ＹＴ培地中で３０℃でインキュベートする。最終濃度３０ｎｇ／ｍＬのＮ－（３－オキソヘキサノイル）－ｄｌ－ホモセリンラクトンの添加、それに続く３０℃かまたは３７℃での６時間のインキュベーションによって、遺伝子発現を誘導する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を、培養物、細菌ペレットの再懸濁および溶解物の遠心分離、ならびに、ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動による宿主細胞タンパク質の分析によって評価する。

【０３２６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含有する封入体を、以下の通り精製する。細菌細胞を遠心分離によってペレット化し、そして水中に再懸濁する。この細胞懸濁液を超音波処理によって溶解し、そして１９５，０００×ｇでの５～１０分間の遠心分離によってペレット化する。この上清を廃棄し、そしてペレットを洗浄してホモジナイザーに移す。このペレットを、均一に懸濁されるまで、５ｍＬのＰｅｒｃｏｌｌ溶液（７５％液体ＰｅｒｃｏｌｌおよびＯ．１５Ｍ ＮａＣｌ）中にホモジナイズし、次いで希釈して２１，６００×ｇで３０分間遠心分離する。封入体を含む勾配画分を回収してプールする。単離した封入体をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。

【０３２７】

Ｅ．ｃｏｌｉが産生したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに相当する、ＳＤＳポリアクリルアミドゲル上の単一のバンドを、ゲルから切り出し、そしてN末端アミノ酸配列を、本質的にＭａｔｓｕｄａｉｒａら、１９８７，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：１０～３５に記載のように決定する。

【０３２８】

（Ｂ．哺乳動物細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現）

ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、この配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。増幅したＤＮＡ産物を改変して、発現ベクター内への挿入を可能にするために制限酵素部位を含むようにし得る。ＰＣＲ産物をゲル精製し、そして標準的組み換えＤＮＡ方法論を用いて発現ベクター中に挿入する。Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒウイルス複製起点を含む代表的な発現ベクターであるｐＣＥＰ４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を、２９３－ＥＢＮＡ－１細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現のために用い得る。増幅およびゲル精製したＰＣＲ産物を、ｐＣＥＰ４ベクターに連結し、そしてリポフェクチンによって２９３－ＥＢＮＡ細胞中に導入する。トランスフェクトした細胞を、１００μｇ／ｍＬのハイグロマイシン中で選択し、そして得られた薬物耐性培養物をコンフルエンスになるまで増殖する。次いで、この細胞を無血清

培地中で７２時間培養する。馴化培地を取り出し、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド発現をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。

【０３２９】

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド発現は、銀染色によって検出できる。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを、ペプチドタグに対する抗体を用いてウエスタンブロット分析によって検出可能である、エピトープタグ（例えば、ＩｇG定常ドメインまたはＦＬＡＧエピトープ）を有する融合タンパク質として生成する。　ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲルから切り出し得る、またはＩＬ－１ｒａ－R融合タンパク質を、エピトープタグに対するアフィニティークロマトグラフィーによって精製し、そして本明細書に記載のようなN末端アミノ酸配列分析に供する。

【０３３０】

（Ｃ．哺乳動物細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの発現および精製）

リポフェクチンまたはリン酸カルシウムプロトコールのいずれかを用いて、２９３　ＥＢＮＡ細胞またはＣＨＯ細胞中に、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド発現構築物を導入する。

【０３３１】

生成されるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドに対する機能的研究を行うため、ハイグロマイシン選択２９３　ＥＢＮＡクローニングのプールから大量の馴化培地を生成する。この細胞を５００ｃｍ　Ｎｕｎｃ　Ｔｒｉｐｌｅ　Ｆｌａｓｋｓ中で、８０％コンフルエンスになるまで培養し、その後、培地を回収する１週間前に無血清培地に切り換える。馴化培地を回収し、そして精製まで－２０℃に凍結する。

【０３３２】

馴化培地を下記のとおり、アフィニティークロマトグラフィーによって精製する。この培地を解凍し、次いで０．２μmフィルターに通す。プロテインGカラムをＰＢＳでｐＨ７．０に平衡化し、次いで濾過した培地をロードした。このカラムをA_{280}の吸収がベースラインに達するまでＰＢＳで洗浄する。０．１Ｍ

Ｇｌｙｃｉｎｅ－HＣｌを用いてpＨ7．2でＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを、カラムから溶出し、直ちに1Ｍ　Ｔｒｉｓ－HＣｌを用いてpＨ8．5で中和する。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを含有する画分をプールし、ＰＢＳ中で透析し、そして－７０℃で貯蔵した。

【０３３３】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド－Ｆｃ融合ポリペプチドの第Ｘａ因子切断について、アフィニティークロマトグラフィー精製したタンパク質を、５０mM　Ｔｒｉｓ－HＣｌ、１００mM　ＮａＣｌ、2mM　$CaCl_2$中でpＨ8．０で透析する。制限プロテアーゼ第Ｘａ因子を、透析したタンパク質に１／１００（w／w）で添加し、そしてこのサンプルを室温で一晩消化する。

【０３３４】

（実施例６：抗ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド抗体の生成）

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドに対する抗体を、生物学的合成または化学的合成によって生成した、精製タンパク質またはＩＬ－１ｒａ－Rペプチドを用いて免疫することによって獲得し得る。抗体を生成するための適切な手順は、ＨｕｄｓｏｎおよびＢａｙ、Ｐｒａｃｔｉｃａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（第二版、Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｉｌｉｃａｔｉｏｎ）に記載の手順を含む。

【０３３５】

抗体生成のための１つの手順において、動物（代表的には、マウスまたはウサギ）に、ＩＬ－１ｒａ－R抗原（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド）を注射し、そして、ハイブリドーマ産生のため、ＥＬＩＳＡによって決定した十分な血清力価を有する動物を、選択する。免疫した動物の脾臓を回収し、そして単一細胞懸濁液として調製し、これから脾臓細胞を回収する。脾臓細胞をマウスミエローマ細胞（例えば、Ｓｐ２／０－Ａｇ１４細胞）に融合し、DMEM（２００Ｕ／mＬペニシリン、２００μｇ／mＬ硫酸ストレプトマイシン、および4mMグルタミン含有）中でまずインキュベートし、次いで、ＨＡＴ選択培地（ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン）中でインキュベートする。選択後、組織培養上清を各融合ウェルから取り出し、そしてＥＬＩＳＡによって、抗ＩＬ

－１ｒａ－R抗体産生について試験する。

【０３３６】

抗ＩＬ－１ｒａ－Rを得るため、別の手順をまた、使用し得る。この手順は例えば、ヒト抗体の生成のためのヒトＩｇ遺伝子座を保有するトランスジェニックマウスの免疫、および合成抗体ライブラリー（例えば、抗体可変ドメインの変異誘発によって生成されるライブラリーなど）のスクリーニングである。

【０３３７】

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドに対する抗体は、Ｅ．ｃｏｌｉ中で生成され、そして単離された全長ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを用いてＮｅｗ　Ｚｅａｌａｎｄ　Ｗｈｉｔｅ　ｒａｂｂｉｔを免疫することによって得られた。粗ポリクローナル免疫血清を回収し、そして組み換えＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド（図１１Ａ～１１Ｂ、レーン１、４、および７）、組み換えＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド改変体（図１１Ａ～１１Ｂ、レーン２、５、および８）、および組み換えＩＬ－１ｒａ（図１１Ａ～１１Ｂ；レーン３、６、および９）を用いる免疫沈澱分析に用いた。１０ｎｇ（図１１Ａ、レーン４～６）もしくは０．６μｇ（図１１Ｂ、レーン７～９）のいずれかの組み換えポリペプチドを、１８％Ｔｒｉｓ－グリシンゲル上に直接ロードすること、またはゲル上にサンプルをロードする前に、０．２μｌの粗抗血清（図１１Ａ、レーン１～３）を用いて１μｇの組み換えポリペプチドを免疫沈降することによって、ゲルを調製した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分離後、ゲルをＰＶＤＦ膜上にブロットし、そして粗ＩＬ－１ｒａ－R血清の１：１０００希釈を用い、続いて、ＨＲＰ結合体化プロテインＡおよびＥＣＬ検出によって発色させた。図１１Ｂに示すゲルを、ブロッティング後、Ｇｅｌｃｏｄｅ　Ｂｌｕｅ（Ｐｉｅｒｃｅ）で染色した。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドに対する抗体は、膜固定ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドおよびポリペプチド改変体の両方を検出するが、ＩＬ－１ｒａは検出しないことが示された。溶液中で、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド改変体よりも効率的に認識された。

【０３３８】

（実施例７：トランスジェニックマウスにおけるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチ

ドの発現）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性を評価するため、肝臓特異的ＡｐｏＥプロモーターの制御下で、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／Ｆｃ融合タンパク質をコードする構築物を調製する。この構築物の送達により、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能に関する情報である、病理的変化を生じることが期待される。同様に、βアクチンプロモーターの制御下で、全長ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含む構築物を調製する。この構築物の送達により、偏在性発現を生じることが期待される。

【０３３９】

これらの構築物を生成するために、ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートｄｓＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、所望の配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。そしてこの配列は、発現ベクター内への増幅産物の挿入を可能にするために制限酵素部位を組み込む。増幅後、ＰＣＲ産物をゲル精製し、適切な制限酵素で消化し、そして標準的組み換えＤＮＡ技術を用いて発現ベクター中に連結する。例えば、増幅したＩＬ－１ｒａＲポリペプチド配列を、Ｇｒａｈａｍら、１９９７、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，１７：２７２～７４およびＲａｙら，１９９１ Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．５：２２６５～７３に記載のように、ヒトβアクチンプロモーターの制御下で発現ベクター中にクローニングし得る。

【０３４０】

連結（ライゲーション）後、反応混合物を用いて、Ｅ．ｃｏｌｉ宿主株をエレクトロポレーションによって形質転換し、そして形質転換体を、薬物耐性で選択する。選択したコロニー由来のプラスミドＤＮＡを単離して、ＤＮＡ配列決定に供し、適切なインサートの存在および変異が存在しないことを確認する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ベクターを、２回のＣｓＣｌ密度勾配遠心分離を通じて精製し、適切な制限酵素で切断し、そして、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド導入遺伝子を含有する直線フラグメントを、ゲル電気泳動によって精製する。精製したフラグメントを、５ｍＭ Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．４）および０．２ｍＭ ＥＤＴＡ中で、２ｍｇ／ｍＬの濃度で、再懸濁する。

【０３４１】

ＢＤＦ１×ＢＤＦ１交配マウス由来の単一細胞胚を、記載（ＰＣＴ公開番号ＷＯ９７／２３６１４）のように注射する。胚を、CO_2インキュベーター中で一晩培養し、そして１５～２０の２細胞胚を偽妊娠ＣＤ１雌性マウスの卵管に移す。マイクロインジェクションした胚の着床から得た子孫を、以下のように、ゲノムＤＮＡサンプル中に取り込んだ導入遺伝子のＰＣＲ増幅でスクリーニングする。耳切片を２０ｍＬの耳緩衝液（２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ，ｐＨ８．０，１０ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．５％　ＳＤＳ、および５００ｍｇ／ｍＬ　プロテイナーゼＫ）中で、５５℃で一晩消化する。次いで、このサンプルを２００ｍＬのＴＥで希釈し、そして２ｍＬの耳サンプルを、適切なプライマーを用いるＰＣＲ反応中で用いる。

【０３４２】

８週齢で、トランスジェニック創始動物およびコントロール動物を、剖検および病理分析のため、屠殺する。脾臓の一部を取り出し、そしてＴｏｔａｌ　ＲＮＡ　Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いて、脾臓から、総細胞ＲＮＡを単離し、そして導入遺伝子発現を、ＲＴ－ＰＣＲによって決定する。脾臓から回収したＲＮＡを、以下のように、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ™Ｐｒｅａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）を用いてｃＤＮＡに変換する。適切なプライマー（発現ベクター配列に位置し、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド導入遺伝子の３’である）を用いて、導入遺伝子転写物からｃＤＮＡ合成をプライムする。トランスジェニック創始動物およびコントロール由来の１０ｍｇの総脾臓ＲＮＡを、１ｍＭのプライマーとともに、１０分間７０℃でインキュベートし、そして氷上に置く。次いで、反応物に、１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ８．３、５０ｍＭ　ＫＣｌ、２．５ｍＭ　$MgCl_2$、１０ｍＭの各ｄＮＴＰ、０．１ｍＭ　ＤＴＴ、および２００ＵのＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔＩＩ逆転写酵素を補充する。４２℃で５０分間のインキュベーション後、７２℃で１５分間加熱することによって反応を停止し、２ＵのＲＮａｓｅＨを用いて２０分間３７℃で消化する。次いで、サンプルをＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的なプライマーを用いるＰＣＲによって増幅する。

【０３４３】

（実施例８：トランスジェニックマウスにおけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性）

安楽死の前に、トランスジェニック動物を計量し、イソフルオロラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）によって麻酔し、そして心臓穿刺によって採血する。サンプルを、血液学および血清化学分析に供する。Ｘ線撮影を、最終的な放血後に行う。肉眼での解剖の際に、主な内臓器官を、重量分析に供する。

【０３４４】

肉眼での解剖後、組織（すなわち、肝臓、脾臓、膵臓、胃、胃腸管全体、腎臓、生殖器官、皮膚および乳腺、骨、脳、心臓、肺、胸腺、気管、食道、甲状腺、副腎、膀胱、リンパ節および骨格筋）を取出し、そして１０％緩衝化Ｚｎ－ホルマリン中で組織学的検査のために固定する。固定後、組織をパラフィンブロック中で処理し、そして３mmの切片を得る。全ての切片を、ヘマトキシリンおよびエオシンで染色し、次いで組織学的分析に供する。

【０３４５】

トランスジェニックマウスおよびコントロールマウスの両方の脾臓、リンパ節およびパイアー斑を、以下の通りにＢ細胞特異的抗体およびＴ細胞特異的抗体についての免疫組織学的分析に供する。ホルマリンで固定したパラフィン包埋切片を脱パラフィン処理し、そして脱イオン水中で水和する。切片を３％過酸化水素でクエンチし、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｂｌｏｃｋ（Ｌｉｐｓｈａｗ，Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ）でブロックし、そしてラットモノクローナル抗マウスＢ２２０およびＣＤ３（Ｈａｒｌａｎ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）中でインキュベートする。抗体結合を、色素原（ｃｈｒｏｍａｇｅｎ）としてＤＡＢ（ＢｉｏＴｅｋ，Ｓａｎｔａ　Ｂａｒｂａｒａ，ＣＡ）を用いて、ビオチン化ウサギ抗ラット免疫グロブリンおよびペルオキシダーゼ結合体化ストレプトアビジン（ＢｉｏＧｅｎｅｘ，Ｓａｎ　Ｒａｍｏｎ，ＣＡ）によって検出する。切片を、ヘマトキシリンで対比染色する。

【０３４６】

剖検後、トランスジェニック動物およびコントロールの同腹仔由来の脾臓およ

び胸腺のＭＬＮおよび切片を取出す。シリンジの平らな末端を用いて１００mmナイロン性細胞ストレーナー（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｆｒａｎｋｌｉｎ　Ｌａｋｅｓ，ＮＪ）の底に対してこの組織を穏やかに粉砕することによって単細胞懸濁物を調製する。細胞を２回洗浄し、計数し、次いで各組織由来の約１×１０^{6}細胞を、２０μＬ容量において０．５μｇ　ＣＤ１６／３２（ＦｃγＩＩＩ／ＩＩ）Ｆｃブロックで１０分間インキュベートする。次いで、サンプルを、ＦＩＴＣまたはＰＥに結合体化した、ＣＤ９０．２（Ｔｈｙ－１．２）、ＣＤ４５Ｒ（Ｂ２２０）、ＣＤ１１ｂ（Ｍａｃ－１）、Ｇｒ－１、ＣＤ４またはＣＤ８に対するモノクローナル抗体（ＰｈａｒＭｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）の０．５μｇ抗体を有する、１００μＬ容量のＰＢＳ（Ｃａ$^{+}$およびＭｇ$^{+}$を欠く）、０．１％ウシ血清アルブミンおよび０．０１％アジ化ナトリウム中で２～８℃で３０分間染色する。抗体結合後、細胞を洗浄し、次いでＦＡＣＳｃａｎ（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）でのフローサイトメトリーによって分析する。

【０３４７】

（実施例９：ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能化）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、ＩＬ－１、ＩＬ－１８または他のサイトカインに対する細胞応答に影響を与えるか否かを評価するために、以下の実験を行った。最初に、マウスの骨髄細胞を、以前に記載されたとおりのレトロウイルス感染（Ｙａｎら，１９９９，Ｅｘｐ．Ｈｅｍａｔｏｌ．２７：１４０９－１７）によってＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子で形質導入した。次いで、形質導入された骨髄を用いて、致死的に照射されたレシピエントマウスに移植した。造血が回復したら、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ形質導入マウスおよびコントロールマウス（すなわち、空のレトロウイルスベクターで形質導入したマウス）由来の骨髄および脾臓細胞を、一連の分析（ＦＡＣＳ分析（図１２）、コロニーアッセイ（図１３Ａ～１３Ｂ）およびＩＬ－１２（図１４）またはＩＬ－１２＋ＩＬ－１８（図１５）のいずれかに応じたγ－インターフェロン産生を含む）に供した。

【０３４８】

このデータは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の発現が、脾臓中の造血前駆体の特定

のサブセット（最も顕著にはG－ＣＳＦはGM－ＣＦＣを誘導した；ＳＣＦ／ＥｐｏはＢＦＵ－Ｅ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導した；そしてＣＳＦ－１はM－ＣＦＣを誘導した）および骨髄中の造血前駆体の特定のサブセット（ＩＬ－３およびＧ－ＣＳＦはGM－ＣＦＣを誘導した；ＳＣＦ／ＥｐｏはＢＦＵ－Ｅ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導し、そしてＩＬ－３／ＥｐｏはGM－ＣＦＣ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導した）の相対量および／またはサイトカイン応答に影響を与えることを示唆する。

【０３４９】

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの発現はまた、脾細胞上でのＣＤ４およびＮＫ１．１の表面発現の減少と、ならびに脾細胞がＩＬ－１２単独またはＩＬ－１２＋ＩＬ－１８に応じてγ－インターフェロンを産生する能力の減少と相関する。

【０３５０】

本発明を好ましい実施形態に関して記載してきたが、改変および修飾が当業者に思い浮かぶことが理解される。それゆえ、添付の特許請求の範囲が、本願発明の範囲内に入る全てのこのような均等な改変物を包含することが意図される。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Saris, Christiaan M.
Giles, Jennifer
Mu, Sharon X.
Xia, Min
Bass, Michael B.
Craveiro, Roger

<120> Interleukin-1 Receptor Antagonist-Related Molecules and Uses Thereof

<130> 00-1213

<140>
<141>

<150> 60/170,191
<151> 1999-12-10

<150> 60/188,053
<151> 2000-03-09

<150> 60/194,521
<151> 2000-04-04

<150> 60/195,910
<151> 2000-04-10

<160> 37

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1
<211> 1020
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (64)..(522)

<400> 1
cagggatcag ggttccagga actcaggatc tgcagtgagg accagacacc actgattgca 60

gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa tat gca 108
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala
1 5 10 15

gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg gga gat 156
Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp
20 25 30

cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc aca ctt cct aac 204
Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Thr Leu Pro Asn
35 40 45

aga ggc ttg gac cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc cag gga 252
Arg Gly Leu Asp Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly
50 55 60

```
ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct tcc cta   300
Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu
     65                  70                  75

cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt gaa gag   348
Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu
 80                  85                  90                  95

gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc ttc agg   396
Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg
                100                 105                 110

ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg gca gag   444
Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu
            115                 120                 125

ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca gcc cgt   492
Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg
        130                 135                 140

acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga aactgcgttt     542
Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
    145                 150

tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg cagaataatg 602

tcccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac catacatgtc 662

caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta aggatcttga aatgaggaga caatcctggg 722

ttatccttgt gggctcagtt taatcacaag aaggaggcag gaagggagag tcagagagag 782

aatggaagat accatgcttc taattttgaa gatggagtga ggggccttga gccaacaaat 842

gcaggtgttt ttagaaggtg gaaaagccaa gggaacggat tctcctctag agtctccgga 902

aggaacacag ctcttgacac atggatttca gctcagtgac acccatttca gacttctgac 962

ctccacaact ataaaataat aaacttgtgt tattgtaaac ctctaaaaaa aaaaaaaa   1020


<210> 2
<211> 152
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala Asp
  1               5                  10                  15

Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp Pro
             20                  25                  30

Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Thr Leu Pro Asn Arg
         35                  40                  45

Gly Leu Asp Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly Gly
     50                  55                  60

Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu Gln
 65                  70                  75                  80
```

```
Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu Ala
                85                  90                  95

Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg Leu
            100                 105                 110

Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu Pro
        115                 120                 125

Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg Thr
    130                 135                 140

Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
145                 150


<210> 3
<211> 1020
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (64)..(522)

<400> 3
cagggatcag ggttccagga actcaggatc tgcagtgagg accagacacc actgattgca 60

gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa tat gca   108
    Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala
      1               5                  10                  15

gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg gga gat   156
Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp
                20                  25                  30

cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc ata ctt cct aac   204
Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu Pro Asn
            35                  40                  45

aga ggc ttg gcc cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc cag gga   252
Arg Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly
        50                  55                  60

ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct tcc cta   300
Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu
    65                  70                  75

cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt gaa gag   348
Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu
80                  85                  90                  95

gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc ttc agg   396
Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg
                100                 105                 110

ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg gca gag   444
Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu
            115                 120                 125
```

```
ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca gcc cgt   492
Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg
        130                 135                 140

acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga aactgcgttt     542
Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
    145                 150

tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg cagaataatg 602

tcccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac catacatgtc 662

caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta aggatcttga aatgaggaga caatcctggg 722

ttatccttgt gggctcagtt taatcacaag aaggaggcag gaagggagag tcagagagag 782

aatggaagat accatgcttc taattttgaa gatggagtga ggggccttga gccaacaaat 842

gcaggtgttt ttagaaggtg gaaaagccaa gggaacggat tctcctctag agtctccgga 902

aggaacacag ctcttgacac atggatttca gctcagtgac acccatttca gacttctgac 962

ctccacaact ataaaataat aaacttgtgt tattgtaaac ctctaaaaaa aaaaaaaa   1020


<210> 4
<211> 152
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 4
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala Asp
  1               5                  10                  15

Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp Pro
             20                  25                  30

Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu Pro Asn Arg
         35                  40                  45

Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly Gly
     50                  55                  60

Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu Gln
 65                  70                  75                  80

Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu Ala
                 85                  90                  95

Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg Leu
            100                 105                 110

Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu Pro
        115                 120                 125

Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg Thr
    130                 135                 140

Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
145                 150
```

<210> 5
<211> 744
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<221> CDS
<222> (58)..(573)

<400> 5
gctcccgcca ggagaaagga acattctgag gggagtctac accctgtgga gctcaag 57

atg gtc ctg agt ggg gcg ctg tgc ttc cgt gag gac cag aca cca ctg 105
Met Val Leu Ser Gly Ala Leu Cys Phe Arg Glu Asp Gln Thr Pro Leu
1 5 10 15

att gca gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa 153
Ile Ala Gly Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys
20 25 30

tat gca gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg 201
Tyr Ala Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val
35 40 45

gga gat cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc ata ctt 249
Gly Asp Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu
50 55 60

cct aac aga ggc ttg gcc cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc 297
Pro Asn Arg Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile
65 70 75 80

cag gga ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct 345
Gln Gly Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro
85 90 95

tcc cta cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt 393
Ser Leu Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly
100 105 110

gaa gag gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc 441
Glu Glu Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala
115 120 125

ttc agg ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg 489
Phe Arg Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro
130 135 140

gca gag ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca 537
Ala Glu Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser
145 150 155 160

gcc cgt acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga 583
Ala Arg Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
165 170

aactgcgttt tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg 643

cagaataatg tccccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac 703

catacatgtc caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta a 744

<210> 6
<211> 171
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 6
Met Val Leu Ser Gly Ala Leu Cys Phe Arg Glu Asp Gln Thr Pro Leu
1 5 10 15

Ile Ala Gly Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys
20 25 30

Tyr Ala Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val
35 40 45

Gly Asp Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu
50 55 60

Pro Asn Arg Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile
65 70 75 80

Gln Gly Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro
85 90 95

Ser Leu Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly
100 105 110

Glu Glu Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala
115 120 125

Phe Arg Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro
130 135 140

Ala Glu Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser
145 150 155 160

Ala Arg Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
165 170

<210> 7
<211> 269
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 7
Met Ala Glu Val Pro Lys Leu Ala Ser Glu Met Met Ala Tyr Tyr Ser
1 5 10 15

Gly Asn Glu Asp Asp Leu Phe Phe Glu Ala Asp Gly Pro Lys Gln Met
20 25 30

Lys Cys Ser Phe Gln Asp Leu Asp Leu Cys Pro Leu Asp Gly Gly Ile
35 40 45

Gln Leu Arg Ile Ser Asp His His Tyr Ser Lys Gly Phe Arg Gln Ala
50 55 60

```
Ala Ser Val Val Val Ala Met Asp Lys Leu Arg Lys Met Leu Val Pro
 65                  70                  75                  80

Cys Pro Gln Thr Phe Gln Glu Asn Asp Leu Ser Thr Phe Phe Pro Phe
                 85                  90                  95

Ile Phe Glu Glu Glu Pro Ile Phe Phe Asp Thr Trp Asp Asn Glu Ala
            100                 105                 110

Tyr Val His Asp Ala Pro Val Arg Ser Leu Asn Cys Thr Leu Arg Asp
        115                 120                 125

Ser Gln Gln Lys Ser Leu Val Met Ser Gly Pro Tyr Glu Leu Lys Ala
    130                 135                 140

Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln Val Val Phe Ser Met
145                 150                 155                 160

Ser Phe Val Gln Gly Glu Glu Ser Asn Asp Lys Ile Pro Val Ala Leu
                165                 170                 175

Gly Leu Lys Glu Lys Asn Leu Tyr Leu Ser Cys Val Leu Lys Asp Asp
            180                 185                 190

Lys Pro Thr Leu Gln Leu Glu Ser Val Asp Pro Lys Asn Tyr Pro Lys
        195                 200                 205

Lys Lys Met Glu Lys Arg Phe Val Phe Asn Lys Ile Glu Ile Asn Asn
    210                 215                 220

Lys Leu Glu Phe Glu Ser Ala Gln Phe Pro Asn Trp Tyr Ile Ser Thr
225                 230                 235                 240

Ser Gln Ala Glu Asn Met Pro Val Phe Leu Gly Gly Thr Lys Gly Gly
                245                 250                 255

Gln Asp Ile Thr Asp Phe Thr Met Gln Phe Val Ser Ser
            260                 265


<210> 8
<211> 153
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8
Ala Pro Val Arg Ser Leu Asn Cys Thr Leu Arg Asp Ser Gln Gln Lys
  1               5                  10                  15

Ser Leu Val Met Ser Gly Pro Tyr Glu Leu Lys Ala Leu His Leu Gln
             20                  25                  30

Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln Val Val Phe Ser Met Ser Phe Val Gln
         35                  40                  45

Gly Glu Glu Ser Asn Asp Lys Ile Pro Val Ala Leu Gly Leu Lys Glu
     50                  55                  60

Lys Asn Leu Tyr Leu Ser Cys Val Leu Lys Asp Asp Lys Pro Thr Leu
 65                  70                  75                  80
```

```
Gln Leu Glu Ser Val Asp Pro Lys Asn Tyr Pro Lys Lys Lys Met Glu
                85                  90                  95

Lys Arg Phe Val Phe Asn Lys Ile Glu Ile Asn Asn Lys Leu Glu Phe
            100                 105                 110

Glu Ser Ala Gln Phe Pro Asn Trp Tyr Ile Ser Thr Ser Gln Ala Glu
        115                 120                 125

Asn Met Pro Val Phe Leu Gly Gly Thr Lys Gly Gly Gln Asp Ile Thr
    130                 135                 140

Asp Phe Thr Met Gln Phe Val Ser Ser
145                 150


<210> 9
<211> 177
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 9
Met Glu Ile Cys Arg Gly Leu Arg Ser His Leu Ile Thr Leu Leu Leu
  1               5                  10                  15

Phe Leu Phe His Ser Glu Thr Ile Cys Arg Pro Ser Gly Arg Lys Ser
             20                  25                  30

Ser Lys Ile Gln Ala Phe Arg Ile Trp Asp Val Asn Gln Lys Thr Phe
         35                  40                  45

Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Leu Val Ala Gly Tyr Leu Gln Gly Pro Asn
     50                  55                  60

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

Leu Phe Leu Gly Ile His Gly Gly Lys Met Cys Leu Ser Cys Val Lys
                85                  90                  95

Ser Gly Asp Glu Thr Arg Leu Gln Leu Glu Ala Val Asn Ile Thr Asp
            100                 105                 110

Leu Ser Glu Asn Arg Lys Gln Asp Lys Arg Phe Ala Phe Ile Arg Ser
        115                 120                 125

Asp Ser Gly Pro Thr Thr Ser Phe Glu Ser Ala Ala Cys Pro Gly Trp
    130                 135                 140

Phe Leu Cys Thr Ala Met Glu Ala Asp Gln Pro Val Ser Leu Thr Asn
145                 150                 155                 160

Met Pro Asp Glu Gly Val Met Val Thr Lys Phe Tyr Phe Gln Glu Asp
                165                 170                 175

Glu


<210> 10
<211> 155
```

<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 10
Met Val Leu Ser Gly Ala Leu Cys Phe Arg Met Lys Asp Ser Ala Leu
1 5 10 15

Lys Val Leu Tyr Leu His Asn Asn Gln Leu Leu Ala Gly Gly Leu His
20 25 30

Ala Gly Lys Val Ile Lys Gly Glu Glu Ile Ser Val Val Pro Asn Arg
35 40 45

Trp Leu Asp Ala Ser Leu Ser Pro Val Ile Leu Gly Val Gln Gly Gly
50 55 60

Ser Gln Cys Leu Ser Cys Gly Val Gly Gln Glu Pro Thr Leu Thr Leu
65 70 75 80

Glu Pro Val Asn Ile Met Glu Leu Tyr Leu Gly Ala Lys Glu Ser Lys
85 90 95

Ser Phe Thr Phe Tyr Arg Arg Asp Met Gly Leu Thr Ser Ser Phe Glu
100 105 110

Ser Ala Ala Tyr Pro Gly Trp Phe Leu Cys Thr Val Pro Glu Ala Asp
115 120 125

Gln Pro Val Arg Leu Thr Gln Leu Pro Glu Asn Gly Gly Trp Asn Ala
130 135 140

Pro Ile Thr Asp Phe Tyr Phe Gln Gln Cys Asp
145 150 155

<210> 11
<211> 178
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 11
Met Ser Phe Val Gly Glu Asn Ser Gly Val Lys Met Gly Ser Glu Asp
1 5 10 15

Trp Glu Lys Asp Glu Pro Gln Cys Cys Leu Glu Asp Pro Ala Gly Ser
20 25 30

Pro Leu Glu Pro Gly Pro Ser Leu Pro Thr Met Asn Phe Val His Thr
35 40 45

Lys Ile Phe Phe Ala Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ser Ala Glu
50 55 60

Lys Gly Ser Pro Ile Leu Leu Gly Val Ser Lys Gly Glu Phe Cys Leu
65 70 75 80

Tyr Cys Asp Lys Asp Lys Gly Gln Ser His Pro Ser Leu Gln Leu Lys
85 90 95

Lys Glu Lys Leu Met Lys Leu Ala Ala Gln Lys Glu Ser Ala Arg Arg
100 105 110

```
Pro Phe Ile Phe Tyr Arg Ala Gln Val Gly Ser Trp Asn Met Leu Glu
        115                 120                 125

Ser Ala Ala His Pro Gly Trp Phe Ile Cys Thr Ser Cys Asn Cys Asn
    130                 135                 140

Glu Pro Val Gly Val Thr Asp Lys Phe Glu Asn Arg Lys His Ile Glu
145                 150                 155                 160

Phe Ser Phe Gln Pro Val Cys Lys Ala Glu Met Ser Pro Ser Glu Val
                165                 170                 175

Ser Asp
```

<210> 12
<211> 218
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 12

```
Met Ser Phe Val Gly Glu Asn Ser Gly Val Lys Met Gly Ser Glu Asp
  1               5                  10                  15

Trp Glu Lys Asp Glu Pro Gln Cys Cys Leu Glu Asp Pro Ala Gly Ser
            20                  25                  30

Pro Leu Glu Pro Gly Pro Ser Leu Pro Thr Met Asn Phe Val His Thr
        35                  40                  45

Ser Pro Lys Val Lys Asn Leu Asn Pro Lys Lys Phe Ser Ile His Asp
    50                  55                  60

Gln Asp His Lys Val Leu Val Leu Asp Ser Gly Asn Leu Ile Ala Val
65                  70                  75                  80

Pro Asp Lys Asn Tyr Ile Arg Pro Glu Ile Phe Phe Ala Leu Ala Ser
                85                  90                  95

Ser Leu Ser Ser Ala Ser Ala Glu Lys Gly Ser Pro Ile Leu Leu Gly
            100                 105                 110

Val Ser Lys Gly Glu Phe Cys Leu Tyr Cys Asp Lys Asp Lys Gly Gln
        115                 120                 125

Ser His Pro Ser Leu Gln Leu Lys Lys Glu Lys Leu Met Lys Leu Ala
    130                 135                 140

Ala Gln Lys Glu Ser Ala Arg Arg Pro Phe Ile Phe Tyr Arg Ala Gln
145                 150                 155                 160

Val Gly Ser Trp Asn Met Leu Glu Ser Ala Ala His Pro Gly Trp Phe
                165                 170                 175

Ile Cys Thr Ser Cys Asn Cys Asn Glu Pro Val Gly Val Thr Asp Lys
            180                 185                 190

Phe Glu Asn Arg Lys His Ile Glu Phe Ser Phe Gln Pro Val Cys Lys
        195                 200                 205
```

```
Ala Glu Met Ser Pro Ser Glu Val Ser Asp
    210                 215


<210> 13
<211> 192
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 13
Met Ser Gly Cys Asp Arg Arg Glu Thr Glu Thr Lys Gly Lys Asn Ser
  1               5                  10                  15

Phe Lys Lys Arg Leu Arg Gly Pro Lys Val Lys Asn Leu Asn Pro Lys
            20                  25                  30

Lys Phe Ser Ile His Asp Gln Asp His Lys Val Leu Val Leu Asp Ser
         35                  40                  45

Gly Asn Leu Ile Ala Val Pro Asp Lys Asn Tyr Ile Arg Pro Glu Ile
     50                  55                  60

Phe Phe Ala Leu Ala Ser Ser Leu Ser Ser Ala Ser Ala Glu Lys Gly
 65                  70                  75                  80

Ser Pro Ile Leu Leu Gly Val Ser Lys Gly Glu Phe Cys Leu Tyr Cys
                 85                  90                  95

Asp Lys Asp Lys Gly Gln Ser His Pro Ser Leu Gln Leu Lys Lys Glu
            100                 105                 110

Lys Leu Met Lys Leu Ala Ala Gln Lys Glu Ser Ala Arg Arg Pro Phe
        115                 120                 125

Ile Phe Tyr Arg Ala Gln Val Gly Ser Trp Asn Met Leu Glu Ser Ala
    130                 135                 140

Ala His Pro Gly Trp Phe Ile Cys Thr Ser Cys Asn Cys Asn Glu Pro
145                 150                 155                 160

Val Gly Val Thr Asp Lys Phe Glu Asn Arg Lys His Ile Glu Phe Ser
                165                 170                 175

Phe Gln Pro Val Cys Lys Ala Glu Met Ser Pro Ser Glu Val Ser Asp
            180                 185                 190



<210> 14
<211> 169
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 14
Met Arg Gly Thr Pro Gly Asp Ala Asp Gly Gly Gly Arg Ala Val Tyr
  1               5                  10                  15

Gln Ser Met Cys Lys Pro Ile Thr Gly Thr Ile Asn Asp Leu Asn Gln
```

```
             20                  25                  30

Gln Val Trp Thr Leu Gln Gly Gln Asn Leu Val Ala Val Pro Arg Ser
         35                  40                  45

Asp Ser Val Thr Pro Val Thr Val Ala Val Ile Thr Cys Lys Tyr Pro
     50                  55                  60

Glu Ala Leu Glu Gln Gly Arg Gly Asp Pro Ile Tyr Leu Gly Ile Gln
 65                  70                  75                  80

Asn Pro Glu Met Cys Leu Tyr Cys Glu Lys Val Gly Glu Gln Pro Thr
                 85                  90                  95

Leu Gln Leu Lys Glu Gln Lys Ile Met Asp Leu Tyr Gly Gln Pro Glu
            100                 105                 110

Pro Val Lys Pro Phe Leu Phe Tyr Arg Ala Lys Thr Gly Arg Thr Ser
        115                 120                 125

Thr Leu Glu Ser Val Ala Phe Pro Asp Trp Phe Ile Ala Ser Ser Lys
    130                 135                 140

Arg Asp Gln Pro Ile Ile Leu Thr Ser Glu Leu Gly Lys Ser Tyr Asn
145                 150                 155                 160

Thr Ala Phe Glu Leu Asn Ile Asn Asp
                165


<210> 15
<211> 208
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 15
Met Arg Gly Thr Pro Gly Asp Ala Asp Gly Gly Gly Arg Ala Val Tyr
  1               5                  10                  15

Gln Ser Ser Glu Ser Asn Ala Val Gly Met Gly Leu Trp Arg Leu Arg
             20                  25                  30

Pro Ser Ala Leu Thr Leu Ser Pro Val Glu Ala Pro Ala Phe Ser Ala
         35                  40                  45

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

Thr Ile Asn Asp Leu Asn Gln Gln Val Trp Thr Leu Gln Gly Gln Asn
 65                  70                  75                  80

Leu Val Ala Val Pro Arg Ser Asp Ser Val Thr Pro Val Thr Val Ala
                 85                  90                  95

Val Ile Thr Cys Lys Tyr Pro Glu Ala Leu Glu Gln Gly Arg Gly Asp
            100                 105                 110

Pro Ile Tyr Leu Gly Ile Gln Asn Pro Glu Met Cys Leu Tyr Cys Glu
        115                 120                 125

Lys Val Gly Glu Gln Pro Thr Leu Gln Leu Lys Glu Gln Lys Ile Met
```

```
    130                 135                 140

Asp Leu Tyr Gly Gln Pro Glu Pro Val Lys Pro Phe Leu Phe Tyr Arg
145                 150                 155                 160

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

Trp Phe Ile Ala Ser Ser Lys Arg Asp Gln Pro Ile Ile Leu Thr Ser
            180                 185                 190

Glu Leu Gly Lys Ser Tyr Asn Thr Ala Phe Glu Leu Asn Ile Asn Asp
        195                 200                 205
```

<210> 16
<211> 158
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 16

```
Met Glu Lys Ala Leu Lys Ile Asp Thr Pro Gln Gln Gly Ser Ile Gln
  1               5                  10                  15

Asp Ile Asn His Arg Val Trp Val Leu Gln Asp Gln Thr Leu Ile Ala
             20                  25                  30

Val Pro Arg Lys Asp Arg Met Ser Pro Val Thr Ile Ala Leu Ile Ser
         35                  40                  45

Cys Arg His Val Glu Thr Leu Glu Lys Asp Arg Gly Asn Pro Ile Tyr
     50                  55                  60

Leu Gly Leu Asn Gly Leu Asn Leu Cys Leu Met Cys Ala Lys Val Gly
 65                  70                  75                  80

Asp Gln Pro Thr Leu Gln Leu Lys Glu Lys Asp Ile Met Asp Leu Tyr
                 85                  90                  95

Asn Gln Pro Glu Pro Val Lys Ser Phe Leu Phe Tyr His Ser Gln Ser
            100                 105                 110

Gly Arg Asn Ser Thr Phe Glu Ser Val Ala Phe Pro Gly Trp Phe Ile
        115                 120                 125

Ala Val Ser Ser Glu Gly Gly Cys Pro Leu Ile Leu Thr Gln Glu Leu
    130                 135                 140

Gly Lys Ala Asn Thr Thr Asp Phe Gly Leu Thr Met Leu Phe
145                 150                 155
```

<210> 17
<211> 157
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 17

```
Met Asn Pro Gln Arg Glu Ala Ala Pro Lys Ser Tyr Ala Ile Arg Asp
  1               5                  10                  15

Ser Arg Gln Met Val Trp Val Leu Ser Gly Asn Ser Leu Ile Ala Ala
             20                  25                  30

Pro Leu Ser Arg Ser Ile Lys Pro Val Thr Leu His Leu Ile Ala Cys
         35                  40                  45

Arg Asp Thr Glu Phe Ser Asp Lys Glu Lys Gly Asn Met Val Tyr Leu
     50                  55                  60

Gly Ile Lys Gly Lys Asp Leu Cys Leu Phe Cys Ala Glu Ile Gln Gly
 65                  70                  75                  80

Lys Pro Thr Leu Gln Leu Lys Glu Lys Asn Ile Met Asp Leu Tyr Val
                 85                  90                  95

Glu Lys Lys Ala Gln Lys Pro Phe Leu Phe Phe His Asn Lys Glu Gly
            100                 105                 110

Ser Thr Ser Val Phe Gln Ser Val Ser Tyr Pro Gly Trp Phe Ile Ala
        115                 120                 125

Thr Ser Thr Thr Ser Gly Gln Pro Ile Phe Leu Thr Lys Glu Arg Gly
    130                 135                 140

Ile Thr Asn Asn Thr Asn Phe Tyr Leu Asp Ser Val Glu
145                 150                 155


<210> 18
<211> 11
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 18
Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
  1               5                  10


<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: internalizing
      domain derived from HIV tat protein

<400> 19
Gly Gly Gly Gly Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
  1               5                  10                  15


<210> 20
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
```

<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2349-98

<400> 20
cacacgcttc accttctttc cag 23

<210> 21
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2349-99

<400> 21
taaaacttgg tacgggctga ggg 23

<210> 22
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 1572-36

<400> 22
gtgtggaatt gtgagcggat aac 23

<210> 23
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2328-91

<400> 23
ctatgaccat gattacgcca agc 23

<210> 24
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2351-47

<400> 24
gctgtactgg ctgctggggc 20

<210> 25
<211> 21

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2351-48

<400> 25
ccttcaggct tgaggctgct g 21

<210> 26
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2329-93

<400> 26
cgggcctctt cgctattacg c 21

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2363-04

<400> 27
cctggctggt tcctgtgtgg c 21

<210> 28
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2329-94

<400> 28
tggcgaaagg gggatgtgct g 21

<210> 29
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide AP-1

<400> 29
ccatcctaat acgactcact atagggc 27

<210> 30
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2353-87

<400> 30
ccttggtgag ctgtactggc tg 22

<210> 31
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2349-52

<400> 31
ccgggccaca caggaacca 19

<210> 32
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2349-51

<400> 32
aagaggccac acgcttcacc ttct 24

<210> 33
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:
Oligonucleotide 2557-95

<400> 33
aagccttttt cttctttgcc tcagtg 26

<210> 34
<211> 26
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence:

Oligonucleotide 2557-96

<400> 34
tgccatttaa tgtaacacgg tcacag 26

<210> 35
<211> 459
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(459)

<400> 35
atg tgc tcc ctt ccc atg gca aga tac tac ata atc aag gat gca cat 48
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Asp Ala His
1 5 10 15

caa aag gct ttg tac aca cgg aat ggc cag ctc ctg ctg gga gac cct 96
Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asn Gly Gln Leu Leu Leu Gly Asp Pro
20 25 30

gat tca gac aat tat agt cca gag aag gtc tgt atc ctt cct aac cga 144
Asp Ser Asp Asn Tyr Ser Pro Glu Lys Val Cys Ile Leu Pro Asn Arg
35 40 45

ggc cta gac cgc tcc aag gtc ccc atc ttc ctg ggg atg cag gga gga 192
Gly Leu Asp Arg Ser Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Met Gln Gly Gly
50 55 60

agt tgc tgc ctg gcg tgt gta aag aca aga gag gga cct ctc ctg cag 240
Ser Cys Cys Leu Ala Cys Val Lys Thr Arg Glu Gly Pro Leu Leu Gln
65 70 75 80

ctg gag gat gtg aac atc gag gac cta tac aag gga ggt gaa caa acc 288
Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Asp Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Gln Thr
85 90 95

acc cgt ttc acc ttt ttc cag aga agc ttg gga tct gcc ttc agg ctt 336
Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Arg Ser Leu Gly Ser Ala Phe Arg Leu
100 105 110

gag gct gct gcc tgc cct ggc tgg ttt ctc tgt ggc cca gct gag ccc 384
Glu Ala Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu Pro
115 120 125

cag cag cca gtg cag ctc acc aaa gag agt gaa ccc tcc acc cat act 432
Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Thr His Thr
130 135 140

gaa ttc tac ttt gag atg agt cgg taa 459
Glu Phe Tyr Phe Glu Met Ser Arg
145 150

<210> 36
<211> 152
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 36
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Asp Ala His
1 5 10 15

Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asn Gly Gln Leu Leu Leu Gly Asp Pro
20 25 30

Asp Ser Asp Asn Tyr Ser Pro Glu Lys Val Cys Ile Leu Pro Asn Arg
35 40 45

Gly Leu Asp Arg Ser Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Met Gln Gly Gly
50 55 60

Ser Cys Cys Leu Ala Cys Val Lys Thr Arg Glu Gly Pro Leu Leu Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Asp Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Gln Thr
85 90 95

Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Arg Ser Leu Gly Ser Ala Phe Arg Leu
100 105 110

Glu Ala Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu Pro
115 120 125

Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Thr His Thr
130 135 140

Glu Phe Tyr Phe Glu Met Ser Arg
145 150

<210> 37
<211> 13017
<212> DNA
<213> Mus musculus

<220>
<221> exon
<222> (8025)..(8054)

<220>
<221> exon
<222> (9548)..(9631)

<220>
<221> exon
<222> (9967)..(10092)

<220>
<221> exon
<222> (10358)..(10570)

<400> 37
actagtctcc catagacaac agctgaatgt acgaggtcag aagcaaggcc tgccccagaa 60

ccattgcaag ccaggtgctg tcttgattgt agcctcataa aaaactgatg cagaattgcc 120

ccaccaacat gctccagatt cctgctccac agaaaccctg tgaactaacc atgttgcttt 180

tagattctgc agtaagttga taatctgcag taaataacat tcgatgaaag agaaacatgt 240

gtagttactt tattatgatc aaaactttat ttctccactc tttccatttt ccttctcaga 300

attgacacca gcctttcact aacccaaata gcctatttaa atgctgatca tacttctctt 360

gttaactgtt acctgttccc aaaaggtaca attccctttc gaccatagct gcatctccca 420

cctgcacacc aggatgtttc tcatatttct acctaaaaca ttggggacta caagtgaaag 480

caaaagaggg ggtccatatc agaaccccag gtatttagct gtaaaactca cttgtcaggc 540

cagcttgaca ggtttacagt ttgtagaagg accagaaaga aggtagccaa gacagaagag 600

gcaacctctg cttgtcctag aaccttcagt ccatatacat ctaagctccc cagcaccatt 660

tctaccacag acctctcaga gttcctgagg atgcagaccc caggacactg acctcagttt 720

ccaggcaggg tttctgcaca ccccttcac actgcctgac tgggagttag tctcatggtg 780

caacactact ttgggacact gtacccatcc cctcgaccta cagaaaccat tcacttttca 840

aggtcacctc ctataggaag tatttgaaaa gatgagagtc atggtcattt gctatgataa 900

tattctgtgc ttatctccct gtaaaaagtt ggcttggggt ctctggcatg catctgacct 960

taaggttgga gctgcaccaa tatgttttta agcacccggc ataatgcttc gcaaaatttc 1020

agaacatggt ttgtacagaa tgtactttcc tccactcata caaacccttg taaaagagta 1080

gtttgaatcc caactcattc ttgaaggcca ccttttgtag ggtgacagaa tttaaaaata 1140

cagaatttaa aaatacttta tcccagggaa gctcacactt ctaaatccag aatgaaagaa 1200

gaaatagaaa cacacttgtg gtggcggtgg tggtggtgat ggtggtcgtg gtggtggtgg 1260

tggtggtggt ggtgatggtg gtggtggtgg tggtggtggt ggtcgtggtg gtgtaatgat 1320

cacagtaaag tgaggcatca tggcctgaga gagtcaggca tcacagctat tcaagtgaaa 1380

actacctact actgatttta gagttctata attttagtag cagccacagg cctggggcct 1440

gggcctatat tttcagagag gaaatgttca cagcaggtca actgcagaca gtgaagatca 1500

gaaatgtttc ataatcaggt catcagagaa aaggcaaagg agctgatgga ctttatcctg 1560

aaaaagcaaa atccaaccca cctcatgctt aatgcattca aaggtctgcg ggcagaagaa 1620

tacattttgc tttttattat tataaattac ctggagaata tttttgtctg aattatctcc 1680

caaatattaa ccataaaaat aaaaaattcc atgtgtgctt ctcccagggg ctataaagcc 1740

cctggtctta gagttgttgg ggcaaaacct gacctttgaa gtagttactt ttgaagatgc 1800

cataccatac atttggccac ttggagagag tctaatgtca catctaaagg gttactctga 1860

tgctctgttt tctcatatgc ccttggctta cagctaacta tggctccagc taaactataa 1920

agttccttgg caacagagat ggtacgctat gtgtctttga cacagcagaa taaatgctta 1980

gtgaacatta ctgattgcct gacaggacac ctcacacttt ggtactttca acagagggat 2040

gtaaacttat gaagaacaat gaagaatgaa tattggcaat aaaagcaaaa attggttaac 2100

ccaattctag ctctgaaatc atttttaggt agtgggaagt ctttttgttt tgtttattca 2160

ctttacatcc caattgctgt cctccctcca agttccccac caccaccaca gtccttttc 2220

cctccccttc tcctctgaga gaatggagaa ccctcctgga tattccccca tcatgaaaca 2280

ttaagtctct gcagggctag acacttcccc cagtgaggcc agtcagggca gcccagctag 2340

aaaaagcata tcccacagac agacaacagc ttttgggata gccccgttcc agttgtttag 2400

gatccacatg aaggctgagc tgcacatctg ctacatatga atgaggaggc ctaggtccag 2460

cctgtgtatg ttctttggtt ggtggttcag actctgagag ccccaagggt ccaggtcagt 2520

tgactctgtt ggtcttcctg tggacaccct gtcccccttcc agcccacaat ccttccccta 2580

atccttctcc ttctcacttc cataagagtg tgaggagtct ttaaaaacat gaagcatttt 2640

atctccccag ggcaacacat ggaaatgaaa gattgtgaaa agtaatttaa agaaaaagaa 2700

aaaaaaattt aacaaggaat aagaatcttg tttctctgaa aatgcttaag agtgtggaaa 2760

acataaactg gattctaata gaatgcaatt ggattgtaat gaaaacctat caaagttatg 2820

aaatagcttt cactaccttg cacaaaatct cttggcatgt gtgttgttgg caaattttct 2880

tgttagttta aaaccacaac aataacaaca aaatagcaaa aattgggtct cagcctcatt 2940

catttttct catttcttgc tctgtgatcg tctgggtctt aagctgacac ctcaccaatt 3000

cctcatcaag acctttgtgg aaatttgcaa atgtcccaaa aaggagaatt acaataagtc 3060

agagaacgtt ctgtccaatt ctttatccct agtgatggat gagtaaagga tgtataagag 3120

atggataaat ggactgatgt acagataaat gaaggaatat gtacatggtt aggtggatag 3180

atgacttact caacagatga gtagaaggat gagaaataga tggacagctg gactgaggca 3240

tgcaaagtca actggagaac tgagtctctt gaccatgcac tgtccagggt ctcatattcc 3300

ctagagtcca gggcccatgg ctcctgtgcc atccccatgc aaatctaagg ttaatacgtt 3360

ctacagctga gtttccttac atatgtgtct cagtaagttt gtatcaacta attaaatctg 3420

aaaggagttc cttctgatct tcccaaacag agccacactc gtgatgaagt cagccctgct 3480

tcattgtggt tctctggatg catctggctt ccatcagcat aatctttcta ttcttgatcc 3540

ttccaacctc ttcaggtctc agacagaacc ccatggagca tcaaagaggt ttgaccccag 3600

cattgtttat gtagctgcaa aaccactaat aacacagtca atgacagtag ctacagagac 3660

agcaggtcag tgtctggcct ctgtcaaggc tttatgagtg actctctccc cttcccgcaa 3720

atactcatta atctccccac ctccttatta tttggactgt gttgaagata ttatgaaatc 3780

tctgggctct tcttcccgga tctagagcca attacagatt ctgtaggttt gacccaccct 3840

gaccagacat tataaacaca gtgctggtgc cctgaagaaa acagttggag actccaggca 3900

ttagaatcca ggcaccagga actacaggtc agtggtgaca gtcggtctct ctgtgtatct 3960

cttacacaca cacacataca cacacacaac acaacataca cacacataca acacacaaca 4020

catacacata caacacatac acacacacaa cacttttctg taatgtctcc aaaattctca 4080

ggctctaggg aagaagaaat gtcttttaga gaatgcggtg tgatgttcta taagtctagg 4140

aatacttgat agaatttaat gagaagtata gattaggtca aagcaagggt actacatatt 4200

tggaaccaca gagttttgaa agtcatctca aaagaaatta tttaggccag agatgttcaa 4260

aaaatgtttt gtttgtgaca tatggaagct cccatggaga cattctgtga ttctcatcaa 4320

tagacagtag ggatgccacc aaggtgctaa cgtcttcatc accccatcat ctatcataca 4380

tccaaatggt ttctttgaaa acaatctcct tgtgaaactt aaagtagcct tgaaaatata 4440

ataatcttgt ccagcctctc atttcaatgg gaatagattg aaggcctaag gaccaaaaca 4500

aaaaacaaaa caaacaaaat aaaaacacca aaaaaaaaac ccataaaatg aatgagtagc 4560

taagttattt ttagaatcca gcctttcagt caaagcttga ttcatgcata tctgtgttct 4620

gatcttaagg tgctgtgtct gtcagttgta tagttggata gaggtacaga tgagctatat 4680

acatcatgct tcaagatttc aggatcttat aacttttata aagcaaataa tttgtcttaa 4740

tgcacactaa taaacaatat agcaaagttt gacaggagtt cagagtactg ttagagaagt 4800

gaagggaaga attttgttat gatagtaaag gggaaaatca aattttgagt catggaatca 4860

tacatagttt gacatagaaa gaaccttggc aaccacataa tctaatgcat gagcccaaga 4920

actggcctgt gtttttaaga tctcattctc agctgttatg taactgaaca gacaagatac 4980

taagcccaag tatagtgaag ccatgtccag tgatcttaat aggagtgaca ggaatggttg 5040

gtgatgaaga ggggtggatt ttgagcagga ataccaaaag caatgctgac tgtgcccttg 5100

gagagaatta gcatgagtcc ttgagagaaa aatgagatgc tattgcacaa gcaacctagg 5160

gccagatggt gtcaagatag gtggccatcg tggactttag aaccaggcag gaatgtgatc 5220

agagatgtac tttatgtagg ttaggtttga ttcagaaacc aggagggtta gcatgtttac 5280

aatggtgact aaaaacaagc acaaggttat actttaaaga aataatctct gaaaagaagg 5340

gaggtatatt ttcagtgccg gaaagaggaa tattacaaaa gtgagaggag tagatttgag 5400

aaagagaagt ggattgtgga ggagcagatg ctcaccacgc ccttacactc acttgaactg 5460

acacccaaag atgaaggtgt gctgtggact gctgaagctc agcctgtggc tgggaagcag 5520

taaacaaaat tgctcatcac agctgtacaa gatattccat agcatataaa aataaaagtg 5580

cttaggctat tctcttacaa ctctcagcct tatgaatgac ccggaaggaa aagaactcta 5640

caatgtgcct gtgtctgttc ttacttcctc tgccacaagc aaaagagcct tgggaattgg 5700

ctcagaggga acgtcatcaa acaggctggc cttgaggctg ggctgttatt cgtctacctg 5760

ggatagagga attcgctatt cttttataat ccaagtgtgg cctggggacc agcagcatta 5820

ttaagacctg gttgcatgtt tgaaatgcag tctcagattt catcccagac ctaaagagta 5880

acactgtttt catgaggata caagattaag aaatatgcat tagagagtaa ttggctaaat 5940

gggtaaatgt catgcaagca ggaggatctg attgactccc caggacccac acagttccca 6000

tgccgtagag cacatctgta atcacagtag gcgtatgatg aaatgggagg tgaatcaaga 6060

gaatctctag cagctacggg ctggccagcc tcccatgcac agcactaaat aaggcaagga 6120

ccaatacctg aagttgtccc attaccttca catatacacc acggcatgtg tgtacttgta 6180

ctcacacata caaacaaata cacacgtgca cacatacaaa actcagagat taaggacaat 6240

tggcctgaca tatcagttcc taagcctggc tcattgcttg taacactaca agcagtatta 6300

aataaggata ggcgagagaa cagttaccga atggttcaga agtggggcca tgcctgtgac 6360

tttaaacaaa tgtttcatat ttttaaataa taacacttag attacaaaat aaatttacta 6420

caggaaaatg ttaagaacta tcaacaacca ttgactatcc tgtcggccac aaatgagtgt 6480

tataacaagc accagccgtc cttgtccaca tgtgtgtgtg tctacacagc tatgaattta 6540

attgggataa taatgtgcac attctttacg gcctgcagtt tttacttcat gtatttgaaa 6600

tgtttgtgcc acaaatgtca tctttaagga gcatatcctt atttcctgga tttatcattc 6660

cctttcagcc gactggacat tgacagcatt tccaactttt caaccttgta aaaataacta 6720

attgaactat tttataacta agcatttggg caatcaatta cctctgcctg gaatgggggc 6780

aacaacacat gcaatcatgg gaaagccagg atgctgctgt ctgatcccta gccctggcat 6840

tcgtgcagaa cctcactctc atctgtgccc tgatatcctt cactctcaag tcttttccca 6900

gtgactttta aaggcaacag aatcatatag ccaataatga aagctacttg gtctacagtt 6960

gtgtggcgtt ttttatagat attttcttca tttacatttc aaatgctatc ccaaaagtcc 7020

cctataccct cccccaccct gctcccctac ccactcactc ccacttcttg gccctggctt 7080

tcccccttac tggggcatat aaagtttgct agaccaaggg gcctctcttc ccaatgatgg 7140

ccaactaggc cattttctgc tacatatgca gctagagaca ccagttctgg ggttactggt 7200

tagttcatat tgttgttcta cctatggggt tgcagacccc ttcagctctt gagtactttc 7260

tctagctcct ccattgggag ccctgtgttc catcctatag atgactgtga gcatccactt 7320

ctgtatttgc caggcactgg catatgaaat agtatctgca tttggtggct gattatggga 7380

tggacccccg ggtggggcag tctctggatg gtccatcctt tcatcttagc tccaaacttt 7440

gtctctgcaa cttcttccat ggatatttta gtccctaatc tagggagaaa tgaagtatcc 7500

acaagttgat cttccttctt gattttctta tgttttagaa gttgtatctt ggatattcta 7560

ggtttctggg ctaatatcca cttatcagtg agtacatatc aagtgaattc ttttgtgatt 7620

aggttacctc actcaagatg atattctcca ctatgttcat agcagcccta tttatagtag 7680

ccagaagctg gaaagaaccc agtccctcaa cagaggaatg gatacagaaa atgtggcaca 7740

tttatgcaat ggagtaccac tcagatatta aaaacaacga atttatgaaa ttctcgggca 7800

aaaccctatc taaagaccag gaataaggaa aagatggact gcctgcctgc agctgggaga 7860

gctggggaga cctttgtgga ttctgtaata cttaggggta cggaacagct tgtggctgga 7920

taattctgag ctccagcatg tctgcccccc aaaaaacatt ctgtttttct gaaagccttt 7980

ttcttctttg cctcagtgaa gaccagacac tcccaactgc agga atg tgc tcc ctt 8036

ccc atg gca aga tac tac atgtaagtaa tcttaacgat cgctcaatca 8084

aggggcctgg agatcacatg agaagggaaa aggctgagtc aaagggacaa agctccctct 8144

agccacagaa atctcaaaca ctgaataatt gatcttcatc tttgtcaatc acaacagccc 8204

tctttcctgg tgacagaatg gaacaactgt aagagtggta ttgcttagtc cattttacag 8264

acccggaaac tcaacctcca cgaggttata caatttttct catgtcatgc aattacccaa 8324

aagcagagag tgggatcgga ctctctgttc tctaaactga tgtagctagt tcttagaaag 8384

ctcaaacaat cttgagtccc aaggacagca cctttatggt cacctggatt gatacctata 8444

tcaaaaaaaa aaaaaggtct cactagatag ccctggctac cctgaaactc tcactgtgta 8504

catttaggtg accacgaact cacagagatc tgccttccaa gtgctgggat taaagtatgt 8564

accaccacac ctgcatcttt gacaataact gagtggtatc taaattcttc cagtggctaa 8624

acagttaagt cccagttccc aaagtctgag aaaaatgcca ggtggtgaaa tctgtacaga 8684

cctttgttct taatgtacaa gtgagcctgc tttaaaaaca atacgcaagc tgtttttgct 8744

attgctaagt gttgcagaga cagaaaaggc tcccagaagt ggtaactttg gtccagaggt 8804

tctgttctca aactcattgt gagctctgaa agcaactgat gggcagctct gaaatcagct 8864

gggcaattag gctaataaca ggcataattt taatgtttca cacgcatgac agttcctccc 8924

cagctgccct agtacatact taccctccta ggcacgtcat tagacccata ggtataacca 8984

gtgactaatc aggccctggt ctaattctaa gttggcctcc tatataagtg ccactcagag 9044

tgtacctcat catggctgta gtgggcccag agtctaggga catagacttt tctattgtcc 9104

aatttctgat ttgtgaattt tctacaaaaa gaattttttt taattttaca aatcaaatca 9164

cagttactac atcttcagtt ccttcattaa ttagtgttac tatttaaaaa aataaaataa 9224

atcaagctca gaaacatcat ggatagggtt cattgtatct ccagggtacc tgagcttcaa 9284

agcaactcct cagacagcca tgaaaacatc ctcaattacc tcatgagaag acactattgt 9344

catttctgga gcctctgata atcctgagcc taggcagctt tgggatgaaa caatttctac 9404

ccttattgga acagtgtccc tctcctgtct ggaaacaatt caccaaaggc tccatgtggt 9464

tgtccagtaa ggtggtatgg ggacagaaat ggacaatgat ccctgagggc agtgatccat 9524

taaccttgcc ctcctatttc aga atc aag gat gca cat caa aag gct ttg tac 9577

aca cgg aat ggc cag ctc ctg ctg gga gac cct gat tca gac aat tat 9625

agt cca ggtgatcttc cggtggtggg ggtgggggag tggaggggag ggtgtggggg 9681

gggctctctt ccagaagttg cttagtgtcc atctgccaca aggccttgat tctttccttc 9741

aattgtgtct ctagagacat gagaatattg tcacagtgat aaggagaaga ggtaggggca 9801

gtttcttcct gtaaaaaatg aattccattt accctgcagt ctccatacag aaacaggcca 9861

gagggggggca gacccagtaa cttctagctg agccctacct tgcttaaaac ctgccatctg 9921

tggtcccctc actgtctgaa ttgcattctg tcttacctcc cagag aag gtc tgt atc 9978

ctt cct aac cga ggc cta gac cgc tcc aag gtc ccc atc ttc ctg ggg 10026

atg cag gga gga agt tgc tgc ctg gcg tgt gta aag aca aga gag gga 10074

cct ctc ctg cag ctg gag gtgagacacc cctcctcatt gcagtcagta 10122

ctgccactgg aacatagtga catctttgaa cccacatgtc ccctctcttg tttcccatct 10182

atctctcttt gcctccagct gagggactct agcctttggg gatgtacaga aagaacatgg 10242

cttcggaaaa ctcttcccta ttgagtcctt ctttggccaa gcctctgagg cactaagggc 10302

tgacgtccca accaaacact catttcatct cacagctgtc tccctttccc cacag gat 10360

gtg aac atc gag gac cta tac aag gga ggt gaa caa acc acc cgt ttc 10408

acc ttt ttc cag aga agc ttg gga tct gcc ttc agg ctt gag gct gct 10456

gcc tgc cct ggc tgg ttt ctc tgt ggc cca gct gag ccc cag cag cca 10504

gtg cag ctc acc aaa gag agt gaa ccc tcc acc cat act gaa ttc tac 10552

ttt gag atg agt cgg taa agagacataa ggctggggcc tcgtctagtg 10600

cccccagtct gagatcttct tgctcagcat ctctggaaag cagaataagg aagataccaa 10660

agatgtttgg gtcttaatcc ccagaatctg tgaccgtgtt acattaaatg gcaaagggat 10720

ttttttttttc cttcatggtc catttgggcc cattggaatc atctgaggcc tcatgaggag 10780

aaggaagagg tcagagggag actggggcaa actttggtac taaaagtaac aatggagaca 10840

gggaccataa gctgatgggt aacagtggtt tctagaaacc ggaaatgatg agagctctcc 10900

tgacacaggt tctggatttt tctggactga agaatggtga aataatacag ctccattatt 10960

ttaagccact gagtttgaga tcattcaatg aagctgtcat aataaaacct gtgcttcaca 11020

tacaattcaa tattggtagg caccccggtg atttcttgga aagacatcta gggattctcc 11080

tggatgctga ttccagggtc cagtggagtc cctgggttga agagatttca caacccagaa 11140

catcaggctc gactcttcta aaagtccgtc gttgcacccc ttgcctgaga gcattagcaa 11200

tttctatttc ataggaaatc tgtgtccctg cccctgctaa agcagggagc ctggaccgtc 11260

ctgatttagt gaggggtgag ctgctggcac ttttttgtgt caccagtgtc ttaagcagtg 11320

atggagcaca aaagatcttt actgagaaga tggccatgaa gctctggcta gacaccaaga 11380

atatgatata agcagagcta cagcacaaga tgagccaatg aggaaagcca ttcagggagg 11440

ctaagcccag cttcccaaag ggacagctaa ccctggactc aaatgaatag gggttttcct 11500

ggcagagaac ataggtcaag cattctaggt agaatcagca attcagaaag gtgtgagaga 11560

ggcatggaga gctccaggca tgtctgggct atggtgtgtc attcttgtgg caagaatcca 11620

acgtctgtgg ttaaggagtt gctgaaaatt aaaataggaa aatgggtaga gtctaattgt 11680

gaatgacttg caaaggagtt tagcccataa gtggggagct cagaggagtc atctaaggat 11740

tgcaagcagg ggccctgtga tcattgctgg accagcctag gtgctacaga gcctaccttc 11800

agctctgcat cctcactcac atccaggtac cttcagaggt caatttctgt gctctggttc 11860

tatgggtagc ctgaccctgt ttcatcttct tgtataactt aggcacataa gcttagggac 11920

tggtagagtt tacttgagtg attggtgaat caggcagcac caaactacaa gttgttcagg 11980

gctttaccaa gggggcactg attggagaat tggaatgagg gtggttagaa tgcattcaga 12040

aaacaagggg aagaaaaatt tgattgctta aagtggaaag tcccaactta aatgttagtc 12100

agtagtttct aattacttga gtctctaatt agaggttagt tggcagtttc tggttagtta 12160

atctaagttt cattttctta ggctatgacc attctctgag tcgcatgtta gcaatgcagt 12220

aagaactcaa gacccagaat agcctctgtt aattatttta gcaatgatca ctcatttctg 12280

ttgcctccta ttgagatctg ttcccatgga ccacccaggc acatcaggcc tcctagtacc 12340

aacataataa tgattgctgc acagacaaaa tatttttttt cagtatctgg tatttgctac 12400

atttccatta gtgctggagg gaaggctaca acgaccatga aggcatggcc cctgccttct 12460

aaggacttac aatgtaatag gagccctgac attataaagt gggtcacctt gtttcaaact 12520

gagccaaact gaggctgagg gcttagatta gtggtaggtc actttccaga catgttcagt 12580

gctaagaaaa acacattctg gggttagtta gatgttttag ttcatttgat aagaagccca 12640

atgattggac tttcaacttc tggaacccat gtggtggaag agagaaccaa cttctgacca 12700

tttgggtcat ggcacatccc ctaccatcac aagaactcac caaaataaat tagaaaaatc 12760

aagaaaaact catatcctat agacctctgg tagaattagc agaacgctgc tgtggcactt 12820

gggatttgaa actcaaaaat ggaagaagct acttgtgacc gttcaagact ccagggaggc 12880

```
tcctctgaca catcccacga ctcaggctta aattccttct tctccctaga aggccacgcc 12940
atcttctcaa ccaggccaca gatgctataa ttatgtaaat gtgtgggaga ggcacacttt 13000
agatcttatc cactagt                                                13017
```

【図面の簡単な説明】

【図１】

図１Ａ～１Ｂは、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のヌクレオチド配列（配列番号１）、およびヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番号２）を示す。

【図２】

図２Ａ～２Ｂは、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子改変体のヌクレオチド配列（配列番号３）、およびこの改変体によりコードされるヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番号４）を示す。

【図３】

図３は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒスプライス改変体のヌクレオチド配列（配列番号５）、およびこのスプライス改変体によりコードされるヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番号６）を示す。

【図４】

図４Ａ～４Ｂは、ヒトＩＬ－１α（ＩＬ－１＿ａｌｐｈａ；配列番号７）、ヒトＩＬ－１β（ＩＬ－１＿ｂｅｔａ；配列番号８）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ；配列番号９）、ヒトＩＬ－δ（ＩＬ－１＿ｄｅｌｔａ；配列番号１０）、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）、ヒトＴａｎｇｏ－７７（Ｔａｎｇｏ－７７；配列番号１１）、ヒトＺｉｌｌａ４（Ｚｉｌｌａ４；配列番号１２）、ヒトＩＬ－１ζ（ＩＬ－１＿ｚｅｔａ；配列番号１３）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニストβ（ＩＬ－１ＲＡ＿ｂｅｔａ；配列番号１４）、ヒトＳＰＯＩＬ　ＩＩ（ｓｐｏｉｌ＿ＩＩ；配列番号１５）、ヒトＩＬ－１ε（ＩＬ－１＿ｅｐｓｉｌｏｎ；配列番号１６）、およびヒトＩＬ－１η（ＩＬ－１＿ｅｔａ；配列番号１７）のアミノ酸ア

ライメントを示す。

【図５】

図５は、ＩＬ－ｒａ遺伝子ファミリーの系統学的相関を図で示す。

【図６】

図６は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（Ｍａｔｕｒｅ　ＣＳ３２９）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの配列改変体（Ｍａｔｕｒｅ　ＣＳ３２９改変体タンパク質）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのスプライス改変体（Ｏｍｅｇａ　３２９タンパク質）との間の相関を図で示す。

【図７】

図７は、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のヌクレオチド配列（配列番号３５）およびマウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定アミノ酸配列（配列番号３６）を示す。

【図８】

図８は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｈｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）と、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｍｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号３６）とのアミノ酸配列アライメントを示す。

【図９】

図９Ａ－９Ｉは、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（配列番号３７）についてのゲノムヌクレオチド配列を示す。エキソン１－４のコードタンパク質の位置を示す（下線）。

【図１０】

図１０Ａ－１０Ｃは、ノーザンブロットにより検出される、マウス（図１０Ａ）およびヒト（図１０Ｂ－１０Ｃ）のＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡ発現を示す。

【図１１】

図１１Ａ～１１Ｂは、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体を用いるウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図１２】

図１２は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウイルスベクターを用いて処理したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収し

た脾細胞および骨髄細胞のＦＡＣＳ分析の結果を示す。リンパの画分中の細胞の割合を、示された細胞表面マーカーを用いる標準的ＦＡＣＳ分析に供した細胞について示す。

【図１３Ａ】

図１３Ａは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて処理したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞および骨髄細胞で行われたコロニーアッセイの結果を示す。形質導入マウスおよびコントロールマウス由来の骨髄細胞および脾細胞を、標準的コロニーアッセイ条件下で培養し、そしてコロニーを１４日目に計数した。

【図１３Ｂ】

図１３Ｂは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて処理したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞および骨髄細胞で行われたコロニーアッセイの結果を示す。形質導入マウスおよびコントロールマウス由来の骨髄細胞および脾細胞を、標準的コロニーアッセイ条件下で培養し、そしてコロニーを１４日目に計数した。

【図１４】

図１４は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて処理したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞におけるＩＬ－１２処置に対するγ－インターフェロンの産生を示す。馴化培地のサンプルを、ＩＬ－１２（１ｎｇ／ｍｌ）の存在下で４８時間増殖させた培地（２×１０^{6}細胞／ウェル／ｍｌ）から取り出し、そしてＩＦＮ－γをＥＬＩＳＡにより定量した。

【図１５】

図１５は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて処理したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞におけるＩＬ－１２およびＩＬ－１８処置に対するγ－インターフェロンの産生を示す。馴化培地のサンプルを、ＩＬ－１２（１ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１８（１０ｎｇ／ｍｌ）の存在下で４８時間増殖させた培地（２×１０^{6}細胞／ウェル／ｍｌ）から取り出し、そしてＩＦＮ－γをＥＬＩＳＡにより定量し

た。

【図１Ａ】

FIG. 1A

```
cagggatcag ggttccagga actcaggatc tgcagtgagg accagacacc actgattgca 60

gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa tat gca   108
    Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala
      1               5                  10                  15

gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg gga gat   156
Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp
                 20                  25                  30

cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc aca ctt cct aac   204
Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Thr Leu Pro Asn
             35                  40                  45

aga ggc ttg gac cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc cag gga   252
Arg Gly Leu Asp Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly
         50                  55                  60

ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct tcc cta   300
Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu
     65                  70                  75

cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt gaa gag   348
Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu
 80                  85                  90                  95

gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc ttc agg   396
Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg
                100                 105                 110

ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg gca gag   444
Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu
            115                 120                 125

ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca gcc cgt   492
Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg
        130                 135                 140

acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga aactgcgttt     542
Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
    145                 150

tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg cagaataatg 602

tccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac catacatgtc 662

caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta aggatcttga aatgaggaga caatcctggg 722

ttatccttgt gggctcagtt taatcacaag aaggaggcag gaagggagag tcagagagag 782

aatggaagat accatgcttc taattttgaa gatggagtga ggggccttga gccaacaaat 842

gcaggtgttt ttagaaggtg gaaaagccaa gggaacggat tctcctctag agtctccgga 902
```

【図１Ｂ】

FIG. 1B

```
aggaacacag ctcttgacac atggatttca gctcagtgac acccatttca gacttctgac 962

ctccacaact ataaaataat aaacttgtgt tattgtaaac ctctaaaaaa aaaaaaaa   1020
```

【図２Ａ】

FIG. 2A

```
cagggatcag ggttccagga actcaggatc tgcagtgagg accagacacc actgattgca 60

gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa tat gca   108
    Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Tyr Ala
      1               5                  10                  15

gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg gga gat   156
Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val Gly Asp
                 20                  25                  30

cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc ata ctt cct aac   204
Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu Pro Asn
             35                  40                  45

aga ggc ttg gcc cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc cag gga   252
Arg Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile Gln Gly
         50                  55                  60

ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct tcc cta   300
Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro Ser Leu
     65                  70                  75

cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt gaa gag   348
Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Glu
 80                  85                  90                  95

gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc ttc agg   396
Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala Phe Arg
                100                 105                 110

ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg gca gag   444
Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu
            115                 120                 125

ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca gcc cgt   492
Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Ala Arg
        130                 135                 140

acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga aactgcgttt     542
Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
    145                 150

tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg cagaataatg 602

tcccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac catacatgtc 662

caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta aggatcttga aatgaggaga caatcctggg 722

ttatccttgt gggctcagtt taatcacaag aaggaggcag gaagggagag tcagagagag 782

aatggaagat accatgcttc taattttgaa gatggagtga ggggccttga gccaacaaat 842

gcaggtgttt ttagaaggtg gaaaagccaa gggaacggat tctcctctag agtctccgga 902
```

【図２Ｂ】

FIG. 2B

```
aggaacacag ctcttgacac atggatttca gctcagtgac acccatttca gacttctgac 962

ctccacaact ataaaataat aaacttgtgt tattgtaaac ctctaaaaaa aaaaaaaa   1020
```

【図３】

FIG. 3

```
gctcccgcca ggagaaagga acattctgag gggagtctac accctgtgga gctcaag    57

atg gtc ctg agt ggg gcg ctg tgc ttc cgt gag gac cag aca cca ctg   105
Met Val Leu Ser Gly Ala Leu Cys Phe Arg Glu Asp Gln Thr Pro Leu
  1               5                  10                  15

att gca gga atg tgt tcc ctc ccc atg gca aga tac tac ata att aaa   153
Ile Ala Gly Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys
             20                  25                  30

tat gca gac cag aag gct cta tac aca aga gat ggc cag ctg ctg gtg   201
Tyr Ala Asp Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asp Gly Gln Leu Leu Val
         35                  40                  45

gga gat cct gtt gca gac aac tgc tgt gca gag aag atc tgc ata ctt   249
Gly Asp Pro Val Ala Asp Asn Cys Cys Ala Glu Lys Ile Cys Ile Leu
     50                  55                  60

cct aac aga ggc ttg gcc cgc acc aag gtc ccc att ttc ctg ggg atc   297
Pro Asn Arg Gly Leu Ala Arg Thr Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Ile
 65                  70                  75                  80

cag gga ggg agc cgc tgc ctg gca tgt gtg gag aca gaa gag ggg cct   345
Gln Gly Gly Ser Arg Cys Leu Ala Cys Val Glu Thr Glu Glu Gly Pro
                 85                  90                  95

tcc cta cag ctg gag gat gtg aac att gag gaa ctg tac aaa ggt ggt   393
Ser Leu Gln Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Glu Leu Tyr Lys Gly Gly
            100                 105                 110

gaa gag gcc aca cgc ttc acc ttc ttc cag agc agc tca ggc tcc gcc   441
Glu Glu Ala Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Ser Ser Ser Gly Ser Ala
        115                 120                 125

ttc agg ctt gag gct gct gcc tgg cct ggc tgg ttc ctg tgt ggc ccg   489
Phe Arg Leu Glu Ala Ala Ala Trp Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro
    130                 135                 140

gca gag ccc cag cag cca gta cag ctc acc aag gag agt gag ccc tca   537
Ala Glu Pro Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser
145                 150                 155                 160

gcc cgt acc aag ttt tac ttt gaa cag agc tgg tag ggagacagga        583
Ala Arg Thr Lys Phe Tyr Phe Glu Gln Ser Trp
                165                 170

aactgcgttt tagccttgtg cccccaaacc aagctcatcc tgctcagggt ctatggtagg 643

cagaataatg tccccccgaaa tatgtccaca tcctaatccc aagatctgtg catatgttac 703

catacatgtc caaagaggtt ttgcaaatgt gattatgtta a                     744
```

【図４Ａ】

FIG. 4A

```
             1                                                  50
  IL-1_alpha MAEVPKLASE MMAYYSGNED DLFFEADGPK QMKCSFQDLD LCPLDGGIQL
   IL-1_beta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
      IL-1RA ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
  IL-1_delta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
       CS329 ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
    Tango-77 ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
      Zilla4 ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
   IL-1_zeta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
 IL-1RA_beta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
    Spoil_II ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
IL-1_epsilon ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
    IL-1_eta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~

             51                                                 100
  IL-1_alpha RISDHHYSKG FRQAASVVVA MDKLRKMLVP CPQTFQENDL STFFPFIFEE
   IL-1_beta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
      IL-1RA ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~MEIC RGLRSHLITL
  IL-1_delta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
       CS329 ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
    Tango-77 ~~~~~~~~~~ ~~MSFVGENS GVKMGSEDWE KDEPQCCLED PAGSPLEPGP
      Zilla4 ~~~~~~~~~~ ~~MSFVGENS GVKMGSEDWE KDEPQCCLED PAGSPLEPGP
   IL-1_zeta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ MSGCDRRETE
 IL-1RA_beta ~~~~~~~~~~ MRGTPGDADG GGRAVYQS.. .......... ..........
    Spoil_II ~~~~~~~~~~ MRGTPGDADG GGRAVYQSSE SNAVGMGLWR LRPSALTLSP
IL-1_epsilon ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~
    IL-1_eta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~ ~~~~~~~~~~

             101                                                150
  IL-1_alpha EPIFFDTWDN EAYVHDAPVR SLNCTLRDSQ QKSLVMSGPY ELKALHLQGQ
   IL-1_beta ~~~~~~~~~~ ~~~~~~APVR SLNCTLRDSQ QKSLVMSGPY ELKALHLQGQ
      IL-1RA LLFLFHSETI CRPSGRKSSK IQAFRIWDVN QKTFYLRNN. QLVAGYLQGP
  IL-1_delta ~~~~~~~~~~ ~~~~~MVLSG ALCFRMKDSA LKVLYLHNN. QLLAGGLHAG
       CS329 ~~~~~~~~~~ ~~~~MCSLPM ARYYIIKYAD QKALYTRDG. QLLVGDPVAD
    Tango-77 SLPTMNFVH. .T..... .......... .......... ..........
      Zilla4 SLPTMNFVH. .TSPKVKNLN PKKFSIHDQD HKVLVLDSG. NLIA..VPDK
   IL-1_zeta TKGKNSFKKR LRGPKVKNLN PKKFSIHDQD HKVLVLDSG. NLIA..VPDK
 IL-1RA_beta .......... .......MCK PITGTINDLN QQVWTLQGQ. NLVA..VPRS
    Spoil_II VEAPAFSAPL CTLPFPPVCK PITGTINDLN QQVWTLQGQ. NLVA..VPRS
IL-1_epsilon ~~~~~~~~~~ ~MEKALKIDT PQQGSIQDIN HRVWVLQDQ. TLIA..VPRK
    IL-1_eta ~~~~~~~~~~ ~~MNPQREAA PKSYAIRDSR QMVWVLSGN. SLIA..APLS

             151                                                200
  IL-1_alpha DMEQQVVFSM ...SFVQGEE SNDKIPVALG LKEKNLYLSC VLKDDK..PT
   IL-1_beta DMEQQVVFSM ...SFVQGEE SNDKIPVALG LKEKNLYLSC VLKDDK..PT
      IL-1RA NVNLEEKIDV VP.....IEP ....HALFLG IHGGKMCLSC VKSGDE..TR
  IL-1_delta KVIKGEEISV VPNRWLDASL ....SPVILG VQGGSQCLSC .GVGQE..PT
       CS329 NC.CAEKICT LPNRGLDRTK ....VPIFLG IQGGSRCLAC VETEEG..PS
    Tango-77 .....KIFFA LASSLSSA.S AEKGSPILLG VSKGEFCLYC DKDKGQSHPS
      Zilla4 NYIRPEIFFA LASSLSSA.S AEKGSPILLG VSKGEFCLYC DKDKGQSHPS
   IL-1_zeta NYIRPEIFFA LASSLSSA.S AEKGSPILLG VSKGEFCLYC DKDKGQSHPS
 IL-1RA_beta DSVTPVTVAV ITCKYPEALE QGRGDPIYLG IQNPEMCLYC EKVGEQ..PT
    Spoil_II DSVTPVTVAV ITCKYPEALE QGRGDPIYLG IQNPEMCLYC EKVGEQ..PT
IL-1_epsilon DRMSPVTIAL ISCRHVETLE KDRGNPIYLG LNGLNLCLMC AKVGDQ..PT
    IL-1_eta RSIKPVTLHL IACRDTEFSD KEKGNMVYLG IKGKDLCLFC AEIQGK..PT
```

【図４Ｂ】

FIG. 4B

```
            201                                                  250
  IL-1_alpha LQLESVDPKN Y..PKKKMEK RFVFNKIEIN NKLEFESAQF PNWYISTSQA
   IL-1_beta LQLESVDPKN Y..PKKKMEK RFVFNKIEIN NKLEFESAQF PNWYISTSQA
      IL-1RA LQLEAVNITD LSENRKQDKR .FAFIRSDSG PTTSFESAAC PGWFLCTAME
  IL-1_delta LTLEPVNIME LYLGAKESKS .FTFYRRDMG LTSSFESAAY PGWFLCTVPE
       CS329 LQLEDVNIEE LYKGGEEATR .FTFFQSSSG SAFRLEAAAW PGWFLCGPAE
    Tango-77 LQLKKEKLMK LAAQKESARR PFIFYRAQVG SWNMLESAAH PGWFICTSCN
      Zilla4 LQLKKEKLMK LAAQKESARR PFIFYRAQVG SWNMLESAAH PGWFICTSCN
   IL-1_zeta LQLKKEKLMK LAAQKESARR PFIFYRAQVG SWNMLESAAH PGWFICTSCN
 IL-1RA_beta LQLKEQKIMD LYGQPEPV.K PFLFYRAKTG RTSTLESVAF PDWFIA.SSK
    Spoil_II LQLKEQKIMD LYGQPEPV.K PFLFYRAKTG RTSTLESVAF PDWFIA.SSK
IL-1_epsilon LQLKEKDIMD LYNQPEPV.K SFLFYHSQSG RNSTFESVAF PGWFIAVSSE
    IL-1_eta LQLKEKNIMD LYVEKKAQ.K PFLFFHNKEG STSVFQSVSY PGWFIATSTT

            251                                          290
  IL-1_alpha ENMPVFL... .GGTKGGQDI TDFTMQFVSS ~~~~~~~~~~
   IL-1_beta ENMPVFL... .GGTKGGQDI TDFTMQFVSS ~~~~~~~~~~
      IL-1RA ADQPVSLTNM PDEG...VMV TKFYFQEDE~ ~~~~~~~~~~
  IL-1_delta ADQPVRLTQL PENGGWNAPI TDFYFQQCD~ ~~~~~~~~~~
       CS329 PQQPVQLTKE SEPSAR.... TKFYFEQSW~ ~~~~~~~~~~
    Tango-77 CNEPVGVTDK FENRKH.... IEFSFQPVCK AEMSPSEVSD
      Zilla4 CNEPVGVTDK FENRKH.... IEFSFQPVCK AEMSPSEVSD
   IL-1_zeta CNEPVGVTDK FENRKH.... IEFSFQPVCK AEMSPSEVSD
 IL-1RA_beta RDQPIILTSE LGKSYN.... TAFELNIND~ ~~~~~~~~~~
    Spoil_II RDQPIILTSE LGKSYN.... TAFELNIND~ ~~~~~~~~~~
IL-1_epsilon GGCPLILTQE LGKANT.... TDFGLTMLF~ ~~~~~~~~~~
    IL-1_eta SGQPIFLTKE RGITNN.... TNFYLDSVE~ ~~~~~~~~~~
```

【図５】

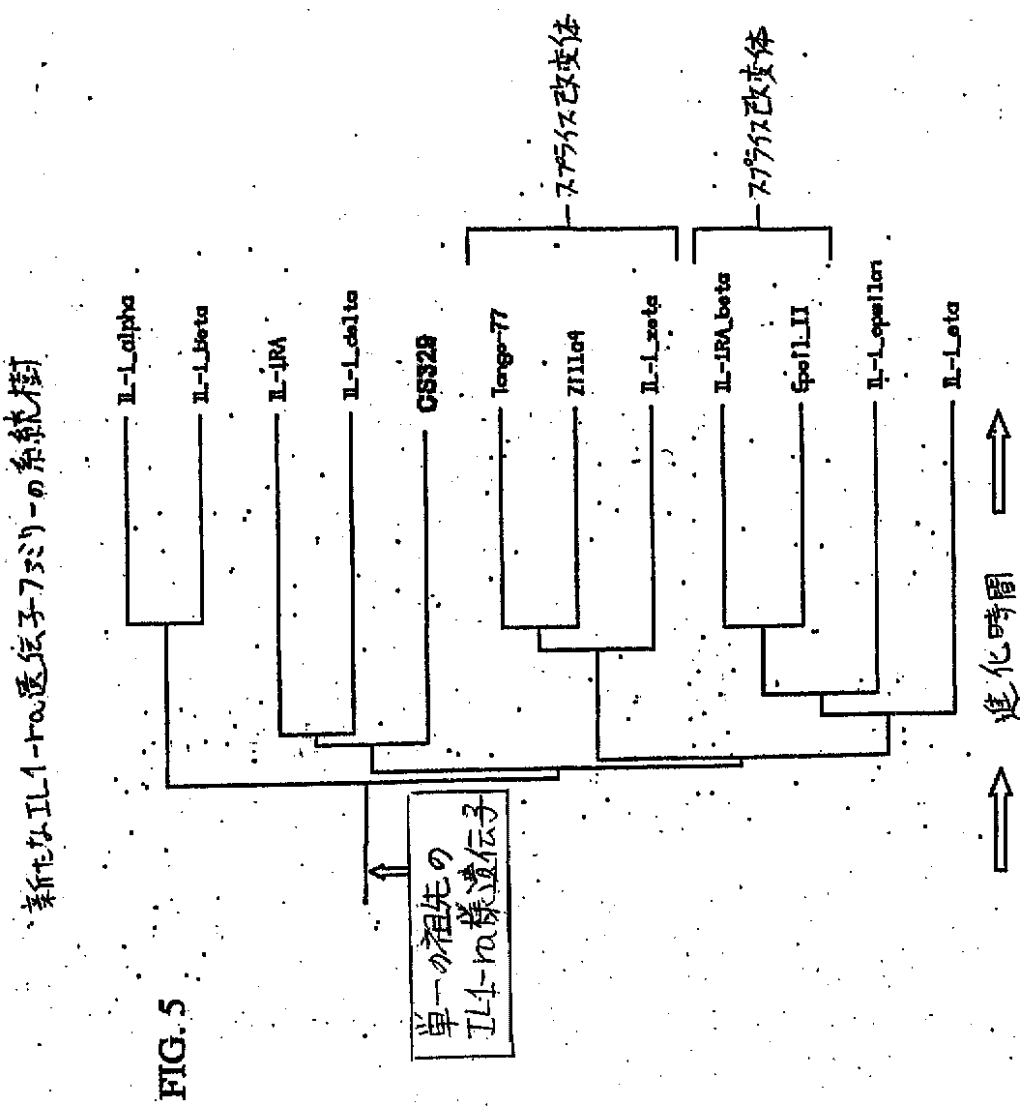

新たなIL1-ro遺伝子ファミリーの系統樹
IL-1_alpha
IL-1_beta
IL-1RA
IL-1_delta
CS5329
Tango-77
ZIL1o4
IL-1_zeta
IL-1RA_beta
fpoIL_II
IL-1_epsilon
IL-1_eta
スプライス改変体
スプライス改変体
単一の祖先のIL1-ro様遺伝子
進化時間

FIG. 5

【図６】

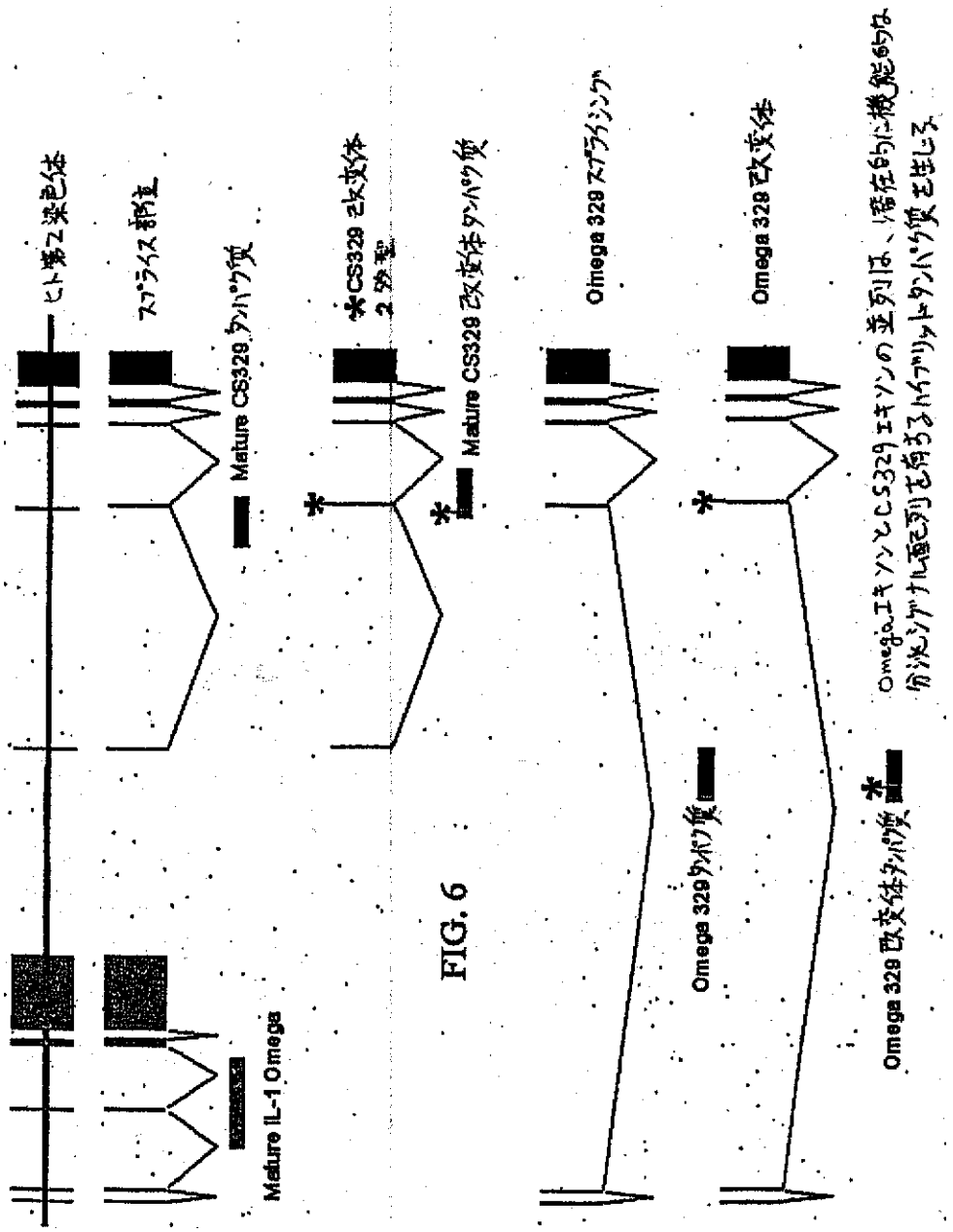

ヒト染色体
スプライス断片
Mature CS329 タンパク質
Mature IL-1 Omega
*CS329 改変体
2 分割
Mature CS329 改変体タンパク質
Omega 329 スプライシング
Omega 329 改変体
Omega 329 タンパク質
Omega 329 改変体タンパク質
Omegaエキソンと CS329 エキソンの並列は、活性的に機能的な
分泌シグナル配列を有するハイブリットタンパク質を生じる

FIG. 6

【図７】

FIG. 7

```
atg tgc tcc ctt ccc atg gca aga tac tac ata atc aag gat gca cat   48
Met Cys Ser Leu Pro Met Ala Arg Tyr Tyr Ile Ile Lys Asp Ala His
  1               5                  10                  15

caa aag gct ttg tac aca cgg aat ggc cag ctc ctg ctg gga gac cct   96
Gln Lys Ala Leu Tyr Thr Arg Asn Gly Gln Leu Leu Leu Gly Asp Pro
             20                  25                  30

gat tca gac aat tat agt cca gag aag gtc tgt atc ctt cct aac cga   144
Asp Ser Asp Asn Tyr Ser Pro Glu Lys Val Cys Ile Leu Pro Asn Arg
         35                  40                  45

ggc cta gac cgc tcc aag gtc ccc atc ttc ctg ggg atg cag gga gga   192
Gly Leu Asp Arg Ser Lys Val Pro Ile Phe Leu Gly Met Gln Gly Gly
     50                  55                  60

agt tgc tgc ctg gcg tgt gta aag aca aga gag gga cct ctc ctg cag   240
Ser Cys Cys Leu Ala Cys Val Lys Thr Arg Glu Gly Pro Leu Leu Gln
 65                  70                  75                  80

ctg gag gat gtg aac atc gag gac cta tac aag gga ggt gaa caa acc   288
Leu Glu Asp Val Asn Ile Glu Asp Leu Tyr Lys Gly Gly Glu Gln Thr
                 85                  90                  95

acc cgt ttc acc ttt ttc cag aga agc ttg gga tct gcc ttc agg ctt   336
Thr Arg Phe Thr Phe Phe Gln Arg Ser Leu Gly Ser Ala Phe Arg Leu
            100                 105                 110

gag gct gct gcc tgc cct ggc tgg ttt ctc tgt ggc cca gct gag ccc   384
Glu Ala Ala Ala Cys Pro Gly Trp Phe Leu Cys Gly Pro Ala Glu Pro
        115                 120                 125

cag cag cca gtg cag ctc acc aaa gag agt gaa ccc tcc acc cat act   432
Gln Gln Pro Val Gln Leu Thr Lys Glu Ser Glu Pro Ser Thr His Thr
    130                 135                 140

gaa ttc tac ttt gag atg agt cgg taa                               459
Glu Phe Tyr Phe Glu Met Ser Arg
145                 150
```

【図８】

FIG. 8

```
                .         .         .         .
  1 MCSLPMARYYIIKYADQKALYTRDGQLLVGDPVADNCCAEKICTLPNRGL 50
    |||||||||||||  | |||||||.||||.||| .||   ||:| ||||||
  1 MCSLPMARYYIIKDAHQKALYTRNGQLLLGDPDSDNYSPEKVCILPNRGL 50
                .         .         .         .
 51 DRTKVPIFLGIQGGSRCLACVETEEGPSLQLEDVNIEELYKGGEEATRFT 100
    ||.|||||||.|||| |||||.| ||| |||||||||:|||||: ||||
 51 DRSKVPIFLGMQGGSCCLACVKTREGPLLQLEDVNIEDLYKGGEQTTRFT 100
                .         .         .         .
101 FFQSSSGSAFRLEAAAWPGWFLCGPAEPQQPVQLTKESEPSARTKFYFEQ 150
    ||| | |||||||||| ||||||||||||||||||||||  |.||||
101 FFQRSLGSAFRLEAAACPGWFLCGPAEPQQPVQLTKESEPSTHTEFYFEM 150

151 SW 152
    |
151 SR 152
```

【図９Ａ】

FIG. 9A

actagtctcc catagacaac agctgaatgt acgaggtcag aagcaaggcc tgccccagaa 60

ccattgcaag ccaggtgctg tcttgattgt agcctcataa aaaactgatg cagaattgcc 120

ccaccaacat gctccagatt cctgctccac agaaaccctg tgaactaacc atgttgcttt 180

tagattctgc agtaagttga taatctgcag taaataacat tcgatgaaag agaaacatgt 240

gtagttactt tattatgatc aaaactttat ttctccactc tttccatttt ccttctcaga 300

attgacacca gcctttcact aacccaaata gcctatttaa atgctgatca tacttctctt 360

gttaactgtt acctgttccc aaaaggtaca attccctttc gaccatagct gcatctccca 420

cctgcacacc aggatgtttc tcatatttct acctaaaaca ttggggacta caagtgaaag 480

caaaagaggg ggtccatatc agaaccccag gtatttagct gtaaaactca cttgtcaggc 540

cagcttgaca ggtttacagt ttgtagaagg accagaaaga aggtagccaa gacagaagag 600

gcaacctctg cttgtcctag aaccttcagt ccatatacat ctaagctccc cagcaccatt 660

tctaccacag acctctcaga gttcctgagg atgcagaccc caggacactg acctcagttt 720

ccaggcaggg tttctgcaca ccccccttcac actgcctgac tgggagttag tctcatggtg 780

caacactact ttgggacact gtacccatcc cctcgaccta cagaaaccat tcacttttca 840

aggtcacctc ctataggaag tatttgaaaa gatgagagtc atggtcattt gctatgataa 900

tattctgtgc ttatctccct gtaaaaagtt ggcttggggt ctctggcatg catctgacct 960

taaggttgga gctgcaccaa tatgttttta agcacccggc ataatgcttc gcaaaatttc 1020

agaacatggt ttgtacagaa tgtactttcc tccactcata caaacccttg taaaagagta 1080

gtttgaatcc caactcattc ttgaaggcca ccttttgtag ggtgacagaa tttaaaaata 1140

cagaatttaa aaatacttta tcccagggaa gctcacactt ctaaatccag aatgaaagaa 1200

gaaatagaaa cacacttgtg gtggcggtgg tggtggtgat ggtggtcgtg gtggtggtgg 1260

tggtggtggt ggtgatggtg gtggtggtgg tggtggtggt ggtcgtggtg gtgtaatgat 1320

cacagtaaag tgaggcatca tggcctgaga gagtcaggca tcacagctat tcaagtgaaa 1380

actacctact actgatttta gagttctata attttagtag cagccacagg cctggggcct 1440

gggcctatat tttcagagag gaaatgttca cagcaggtca actgcagaca gtgaagatca 1500

gaaatgtttc ataatcaggt catcagagaa aaggcaaagg agctgatgga ctttatcctg 1560

aaaaagcaaa atccaaccca cctcatgctt aatgcattca aaggtctgcg ggcagaagaa 1620

【図９Ｂ】

FIG. 9B

tacattttgc tttttattat tataaattac ctggagaata tttttgtctg aattatctcc 1680

caaatattaa ccataaaaat aaaaaattcc atgtgtgctt ctcccagggg ctataaagcc 1740

cctggtctta gagttgttgg ggcaaaacct gacctttgaa gtagttactt ttgaagatgc 1800

cataccatac atttggccac ttggagagag tctaatgtca catctaaagg gttactctga 1860

tgctctgttt tctcatatgc ccttggctta cagctaacta tggctccagc taaactataa 1920

agttccttgg caacagagat ggtacgctat gtgtctttga cacagcagaa taaatgctta 1980

gtgaacatta ctgattgcct gacaggacac ctcacacttt ggtactttca acagagggat 2040

gtaaacttat gaagaacaat gaagaatgaa tattggcaat aaaagcaaaa attggttaac 2100

ccaattctag ctctgaaatc atttttaggt agtgggaagt ctttttgttt tgtttattca 2160

ctttacatcc caattgctgt cctccctcca agttccccac caccaccaca gtccttttc 2220

cctccccttc tcctctgaga gaatggagaa ccctcctgga tattccccca tcatgaaaca 2280

ttaagtctct gcagggctag acacttcccc cagtgaggcc agtcagggca gcccagctag 2340

aaaaagcata tcccacagac agacaacagc ttttgggata gccccgttcc agttgtttag 2400

gatccacatg aaggctgagc tgcacatctg ctacatatga atgaggaggc ctaggtccag 2460

cctgtgtatg ttctttggtt ggtggttcag actctgagag ccccaagggt ccaggtcagt 2520

tgactctgtt ggtcttcctg tggacaccct gtcccccttcc agcccacaat ccttccccta 2580

atccttctcc ttctcacttc cataagagtg tgaggagtct ttaaaaacat gaagcatttt 2640

atctccccag ggcaacacat ggaaatgaaa gattgtgaaa agtaatttaa agaaaaagaa 2700

aaaaaaattt aacaaggaat aagaatcttg tttctctgaa aatgcttaag agtgtggaaa 2760

acataaactg gattctaata gaatgcaatt ggattgtaat gaaaacctat caaagttatg 2820

aaatagcttt cactaccttg cacaaaatct cttggcatgt gtgttgttgg caaatttttct 2880

tgttagttta aaaccacaac aataacaaca aaatagcaaa aattgggtct cagcctcatt 2940

catttttct catttcttgc tctgtgatcg tctgggtctt aagctgacac ctcaccaatt 3000

cctcatcaag acctttgtgg aaatttgcaa atgtcccaaa aaggagaatt acaataagtc 3060

agagaacgtt ctgtccaatt ctttatccct agtgatggat gagtaaagga tgtataagag 3120

atggataaat ggactgatgt acagataaat gaaggaatat gtacatggtt aggtggatag 3180

atgacttact caacagatga gtagaaggat gagaaataga tggacagctg gactgaggca 3240

【図９Ｃ】

FIG. 9C

```
tgcaaagtca actggagaac tgagtctctt gaccatgcac tgtccagggt ctcatattcc 3300
ctagagtcca gggcccatgg ctcctgtgcc atccccatgc aaatctaagg ttaatacgtt 3360
ctacagctga gtttccttac atatgtgtct cagtaagttt gtatcaacta attaaatctg 3420
aaaggagttc cttctgatct tcccaaacag agccacactc gtgatgaagt cagccctgct 3480
tcattgtggt tctctggatg catctggctt ccatcagcat aatctttcta ttcttgatcc 3540
ttccaacctc ttcaggtctc agacagaacc ccatggagca tcaaagaggt ttgaccccag 3600
cattgtttat gtagctgcaa aaccactaat aacacagtca atgacagtag ctacagagac 3660
agcaggtcag tgtctggcct ctgtcaaggc tttatgagtg actctctccc cttcccgcaa 3720
atactcatta atctccccac ctccttatta tttggactgt gttgaagata ttatgaaatc 3780
tctgggctct tcttcccgga tctagagcca attacagatt ctgtaggttt gacccaccct 3840
gaccagacat tataaacaca gtgctggtgc cctgaagaaa acagttggag actccaggca 3900
ttagaatcca ggcaccagga actacaggtc agtggtgaca gtcggtctct ctgtgtatct 3960
cttacacaca cacacataca cacacacaac acaacataca cacacataca acacacaaca 4020
catacacata caacacatac acacacacaa cacttttctg taatgtctcc aaaattctca 4080
ggctctaggg aagaagaaat gtcttttaga gaatgcggtg tgatgttcta taagtctagg 4140
aatacttgat agaatttaat gagaagtata gattaggtca aagcaagggt actacatatt 4200
tggaaccaca gagttttgaa agtcatctca aaagaaatta tttaggccag agatgttcaa 4260
aaaatgtttt gtttgtgaca tatggaagct cccatggaga cattctgtga ttctcatcaa 4320
tagacagtag ggatgccacc aaggtgctaa cgtcttcatc accccatcat ctatcataca 4380
tccaaatggt ttctttgaaa acaatctcct tgtgaaactt aaagtagcct tgaaaatata 4440
ataatcttgt ccagcctctc atttcaatgg gaatagattg aaggcctaag gaccaaaaca 4500
aaaaacaaaa caaacaaaat aaaaacacca aaaaaaaaac ccataaaatg aatgagtagc 4560
taagttattt ttagaatcca gcctttcagt caaagcttga ttcatgcata tctgtgttct 4620
gatcttaagg tgctgtgtct gtcagttgta tagttggata gaggtacaga tgagctatat 4680
acatcatgct tcaagatttc aggatcttat aacttttata aagcaaataa tttgtcttaa 4740
tgcacactaa taaacaatat agcaaagttt gacaggagtt cagagtactg ttagagaagt 4800
gaagggaaga attttgttat gatagtaaag gggaaaatca aattttgagt catggaatca 4860
```

【図９Ｄ】

FIG. 9D

tacatagttt gacatagaaa gaaccttggc aaccacataa tctaatgcat gagcccaaga 4920

actggcctgt gtttttaaga tctcattctc agctgttatg taactgaaca gacaagatac 4980

taagcccaag tatagtgaag ccatgtccag tgatcttaat aggagtgaca ggaatggttg 5040

gtgatgaaga ggggtggatt ttgagcagga ataccaaaag caatgctgac tgtgcccttg 5100

gagagaatta gcatgagtcc ttgagagaaa aatgagatgc tattgcacaa gcaacctagg 5160

gccagatggt gtcaagatag gtggccatcg tggactttag aaccaggcag gaatgtgatc 5220

agagatgtac tttatgtagg ttaggtttga ttcagaaacc aggagggtta gcatgtttac 5280

aatggtgact aaaaacaagc acaaggttat actttaaaga aataatctct gaaaagaagg 5340

gaggtatatt ttcagtgccg gaaagaggaa tattacaaaa gtgagaggag tagatttgag 5400

aaagagaagt ggattgtgga ggagcagatg ctcaccacgc ccttacactc acttgaactg 5460

acacccaaag atgaaggtgt gctgtggact gctgaagctc agcctgtggc tgggaagcag 5520

taaacaaaat tgctcatcac agctgtacaa gatattccat agcatataaa aataaaagtg 5580

cttaggctat tctcttacaa ctctcagcct tatgaatgac ccggaaggaa aagaactcta 5640

caatgtgcct gtgtctgttc ttacttcctc tgccacaagc aaaagagcct tgggaattgg 5700

ctcagaggga acgtcatcaa acaggctggc cttgaggctg ggctgttatt cgtctacctg 5760

ggatagagga attcgctatt cttttataat ccaagtgtgg cctggggacc agcagcatta 5820

ttaagacctg gttgcatgtt tgaaatgcag tctcagattt catcccagac ctaaagagta 5880

acactgtttt catgaggata caagattaag aaatatgcat tagagagtaa ttggctaaat 5940

gggtaaatgt catgcaagca ggaggatctg attgactccc caggacccac acagttccca 6000

tgccgtagag cacatctgta atcacagtag gcgtatgatg aaatgggagg tgaatcaaga 6060

gaatctctag cagctacggg ctggccagcc tcccatgcac agcactaaat aaggcaagga 6120

ccaatacctg aagttgtccc attaccttca catatacacc acggcatgtg tgtacttgta 6180

ctcacacata caaacaaata cacacgtgca cacatacaaa actcagagat taaggacaat 6240

tggcctgaca tatcagttcc taagcctggc tcattgcttg taacactaca agcagtatta 6300

aataaggata ggcgagagaa cagttaccga atggttcaga agtggggcca tgcctgtgac 6360

tttaaacaaa tgtttcatat ttttaaataa taacacttag attacaaaat aaatttacta 6420

caggaaaatg ttaagaacta tcaacaacca ttgactatcc tgtcggccac aaatgagtgt 6480

【図９Ｅ】

FIG. 9E

tataacaagc accagccgtc cttgtccaca tgtgtgtgtg tctacacagc tatgaattta 6540

attgggataa taatgtgcac attctttacg gcctgcagtt tttacttcat gtatttgaaa 6600

tgtttgtgcc acaaatgtca tctttaagga gcatatcctt atttcctgga tttatcattc 6660

cctttcagcc gactggacat tgacagcatt tccaactttt caaccttgta aaaataacta 6720

attgaactat tttataacta agcatttggg caatcaatta cctctgcctg gaatgggggc 6780

aacaacacat gcaatcatgg gaaagccagg atgctgctgt ctgatcccta gccctggcat 6840

tcgtgcagaa cctcactctc atctgtgccc tgatatcctt cactctcaag tcttttccca 6900

gtgactttta aaggcaacag aatcatatag ccaataatga aagctacttg gtctacagtt 6960

gtgtggcgtt ttttatagat attttcttca tttacatttc aaatgctatc ccaaaagtcc 7020

cctataccct cccccaccct gctcccctac ccactcactc ccacttcttg gccctggctt 7080

tcccccttac tggggcatat aaagtttgct agaccaaggg gcctctcttc ccaatgatgg 7140

ccaactaggc cattttctgc tacatatgca gctagagaca ccagttctgg ggttactggt 7200

tagttcatat tgttgttcta cctatggggt tgcagacccc ttcagctctt gagtactttc 7260

tctagctcct ccattgggag ccctgtgttc catcctatag atgactgtga gcatccactt 7320

ctgtatttgc caggcactgg catatgaaat agtatctgca tttggtggct gattatggga 7380

tggacccccg ggtggggcag tctctggatg gtccatcctt tcatcttagc tccaaacttt 7440

gtctctgcaa cttcttccat ggatatttta gtccctaatc tagggagaaa tgaagtatcc 7500

acaagttgat cttccttctt gattttctta tgttttagaa gttgtatctt ggatattcta 7560

ggtttctggg ctaatatcca cttatcagtg agtacatatc aagtgaattc ttttgtgatt 7620

aggttacctc actcaagatg atattctcca ctatgttcat agcagcccta tttatagtag 7680

ccagaagctg gaaagaaccc agtccctcaa cagaggaatg gatacagaaa atgtggcaca 7740

tttatgcaat ggagtaccac tcagatatta aaaacaacga atttatgaaa ttctcgggca 7800

aaaccctatc taaagaccag gaataaggaa aagatggact gcctgcctgc agctgggaga 7860

gctggggaga cctttgtgga ttctgtaata cttaggggta cggaacagct tgtggctgga 7920

taattctgag ctccagcatg tctgcccccc aaaaaacatt ctgtttttct gaaagccttt 7980

ttcttctttg cctcagtgaa gaccagacac tcccaactgc agga atg tgc tcc ctt 8036

ccc atg gca aga tac tac at gtaagtaa tcttaacgat cgctcaatca 8084

【図９Ｆ】

FIG. 9F

aggggcctgg agatcacatg agaagggaaa aggctgagtc aaagggacaa agctccctct 8144

agccacagaa atctcaaaca ctgaataatt gatcttcatc tttgtcaatc acaacagccc 8204

tctttcctgg tgacagaatg gaacaactgt aagagtggta ttgcttagtc cattttacag 8264

acccggaaac tcaacctcca cgaggttata caatttttcct catgtcatgc aattacccaa 8324

aagcagagag tgggatcgga ctctctgttc tctaaactga tgtagctagt tcttagaaag 8384

ctcaaacaat cttgagtccc aaggacagca cctttatggt cacctggatt gatacctata 8444

tcaaaaaaaa aaaaaggtct cactagatag ccctggctac cctgaaactc tcactgtgta 8504

catttaggtg accacgaact cacagagatc tgccttccaa gtgctgggat taaagtatgt 8564

accaccacac ctgcatcttt gacaataact gagtggtatc taaattcttc cagtggctaa 8624

acagttaagt cccagttccc aaagtctgag aaaaatgcca ggtggtgaaa tctgtacaga 8684

cctttgttct taatgtacaa gtgagcctgc tttaaaaaca atacgcaagc tgtttttgct 8744

attgctaagt gttgcagaga cagaaaaggc tcccagaagt ggtaactttg gtccagaggt 8804

tctgttctca aactcattgt gagctctgaa agcaactgat gggcagctct gaaatcagct 8864

gggcaattag gctaataaca ggcataattt taatgtttca cacgcatgac agttcctccc 8924

cagctgccct agtacatact taccctccta ggcacgtcat tagacccata ggtataacca 8984

gtgactaatc aggccctggt ctaattctaa gttggcctcc tatataagtg ccactcagag 9044

tgtacctcat catggctgta gtgggcccag agtctaggga catagacttt tctattgtcc 9104

aatttctgat ttgtgaattt tctacaaaaa gaatttttt taattttaca aatcaaatca 9164

cagttactac atcttcagtt ccttcattaa ttagtgttac tatttaaaaa aataaaataa 9224

atcaagctca gaaacatcat ggatagggtt cattgtatct ccagggtacc tgagcttcaa 9284

agcaactcct cagacagcca tgaaaacatc ctcaattacc tcatgagaag acactattgt 9344

catttctgga gcctctgata atcctgagcc taggcagctt tgggatgaaa caatttctac 9404

ccttattgga acagtgtccc tctcctgtct ggaaacaatt caccaaaggc tccatgtggt 9464

tgtccagtaa ggtggtatgg ggacagaaat ggacaatgat ccctgagggc agtgatccat 9524

taaccttgcc ctcctatttc ag a atc aag gat gca cat caa aag gct ttg tac 9577

aca cgg aat ggc cag ctc ctg ctg gga gac cct gat tca gac aat tat 9625

agt cca g gtgatcttc cggtggtggg ggtgggggag tggaggggag ggtgtggggg 9681

【図９Ｇ】

FIG. 9G

gggctctctt ccagaagttg cttagtgtcc atctgccaca aggccttgat tctttccttc 9741

aattgtgtct ctagagacat gagaatattg tcacagtgat aaggagaaga ggtaggggca 9801

gtttcttcct gtaaaaaatg aattccattt accctgcagt ctccatacag aaacaggcca 9861

gagggggggca gacccagtaa cttctagctg agccctacct tgcttaaaac ctgccatctg 9921

tggtcccctc actgtctgaa ttgcattctg tcttacctcc cag ag aag gtc tgt atc 9978

ctt cct aac cga ggc cta gac cgc tcc aag gtc ccc atc ttc ctg ggg 10026

atg cag gga gga agt tgc tgc ctg gcg tgt gta aag aca aga gag gga 10074

cct ctc ctg cag ctg gag gtgagacacc cctcctcatt gcagtcagta 10122

ctgccactgg aacatagtga catctttgaa cccacatgtc ccctctcttg tttcccatct 10182

atctctcttt gcctccagct gagggactct agcctttggg gatgtacaga aagaacatgg 10242

cttcggaaaa ctcttcccta ttgagtcctt ctttggccaa gcctctgagg cactaagggc 10302

tgacgtccca accaaacact catttcatct cacagctgtc tccctttccc cacag gat 10360

gtg aac atc gag gac cta tac aag gga ggt gaa caa acc acc cgt ttc 10408

acc ttt ttc cag aga agc ttg gga tct gcc ttc agg ctt gag gct gct 10456

gcc tgc cct ggc tgg ttt ctc tgt ggc cca gct gag ccc cag cag cca 10504

gtg cag ctc acc aaa gag agt gaa ccc tcc acc cat act gaa ttc tac 10552

ttt gag atg agt cgg taa agagacataa ggctggggcc tcgtctagtg 10600

cccccagtct gagatcttct tgctcagcat ctctggaaag cagaataagg aagataccaa 10660

agatgtttgg gtcttaatcc ccagaatctg tgaccgtgtt acattaaatg gcaaagggat 10720

ttttttttc cttcatggtc catttgggcc cattggaatc atctgaggcc tcatgaggag 10780

aaggaagagg tcagagggag actggggcaa actttggtac taaaagtaac aatggagaca 10840

gggaccataa gctgatgggt aacagtggtt tctagaaacc ggaaatgatg agagctctcc 10900

tgacacaggt tctggatttt tctggactga agaatggtga aataatacag ctccattatt 10960

ttaagccact gagtttgaga tcattcaatg aagctgtcat aataaaacct gtgcttcaca 11020

tacaattcaa tattggtagg caccccggtg atttcttgga aagacatcta gggattctcc 11080

tggatgctga ttccagggtc cagtggagtc cctgggttga agagatttca caacccagaa 11140

catcaggctc gactcttcta aaagtccgtc gttgcacccc ttgcctgaga gcattagcaa 11200

【図９Ｈ】

FIG. 9H

```
tttctatttc ataggaaatc tgtgtccctg cccctgctaa agcagggagc ctggaccgtc 11260
ctgatttagt gaggggtgag ctgctggcac ttttttgtgt caccagtgtc ttaagcagtg 11320
atggagcaca aaagatcttt actgagaaga tggccatgaa gctctggcta gacaccaaga 11380
atatgatata agcagagcta cagcacaaga tgagccaatg aggaaagcca ttcagggagg 11440
ctaagcccag cttcccaaag ggacagctaa ccctggactc aaatgaatag gggttttcct 11500
ggcagagaac ataggtcaag cattctaggt agaatcagca attcagaaag gtgtgagaga 11560
ggcatggaga gctccaggca tgtctgggct atggtgtgtc attcttgtgg caagaatcca 11620
acgtctgtgg ttaaggagtt gctgaaaatt aaaataggaa aatgggtaga gtctaattgt 11680
gaatgacttg caaaggagtt tagcccataa gtggggagct cagaggagtc atctaaggat 11740
tgcaagcagg ggccctgtga tcattgctgg accagcctag gtgctacaga gcctaccttc 11800
agctctgcat cctcactcac atccaggtac cttcagaggt caatttctgt gctctggttc 11860
tatgggtagc ctgaccctgt ttcatcttct tgtataactt aggcacataa gcttagggac 11920
tggtagagtt tacttgagtg attggtgaat caggcagcac caaactacaa gttgttcagg 11980
gctttaccaa gggggcactg attggagaat tggaatgagg gtggttagaa tgcattcaga 12040
aaacaagggg aagaaaaatt tgattgctta aagtggaaag tcccaactta aatgttagtc 12100
agtagtttct aattacttga gtctctaatt agaggttagt tggcagtttc tggttagtta 12160
atctaagttt cattttctta ggctatgacc attctctgag tcgcatgtta gcaatgcagt 12220
aagaactcaa gacccagaat agcctctgtt aattatttta gcaatgatca ctcatttctg 12280
ttgcctccta ttgagatctg ttcccatgga ccacccaggc acatcaggcc tcctagtacc 12340
aacataataa tgattgctgc acagacaaaa tatttttttt cagtatctgg tatttgctac 12400
atttccatta gtgctggagg gaaggctaca acgaccatga aggcatggcc cctgccttct 12460
aaggacttac aatgtaatag gagccctgac attataaagt gggtcacctt gtttcaaact 12520
gagccaaact gaggctgagg gcttagatta gtggtaggtc actttccaga catgttcagt 12580
gctaagaaaa acacattctg gggttagtta gatgttttag ttcatttgat aagaagccca 12640
atgattggac tttcaacttc tggaacccat gtggtggaag agagaaccaa cttctgacca 12700
tttgggtcat ggcacatccc ctaccatcac aagaactcac caaaataaat tagaaaaatc 12760
aagaaaaact catatcctat agacctctgg tagaattagc agaacgctgc tgtggcactt 12820
```

【図９Ｉ】

FIG. 9I

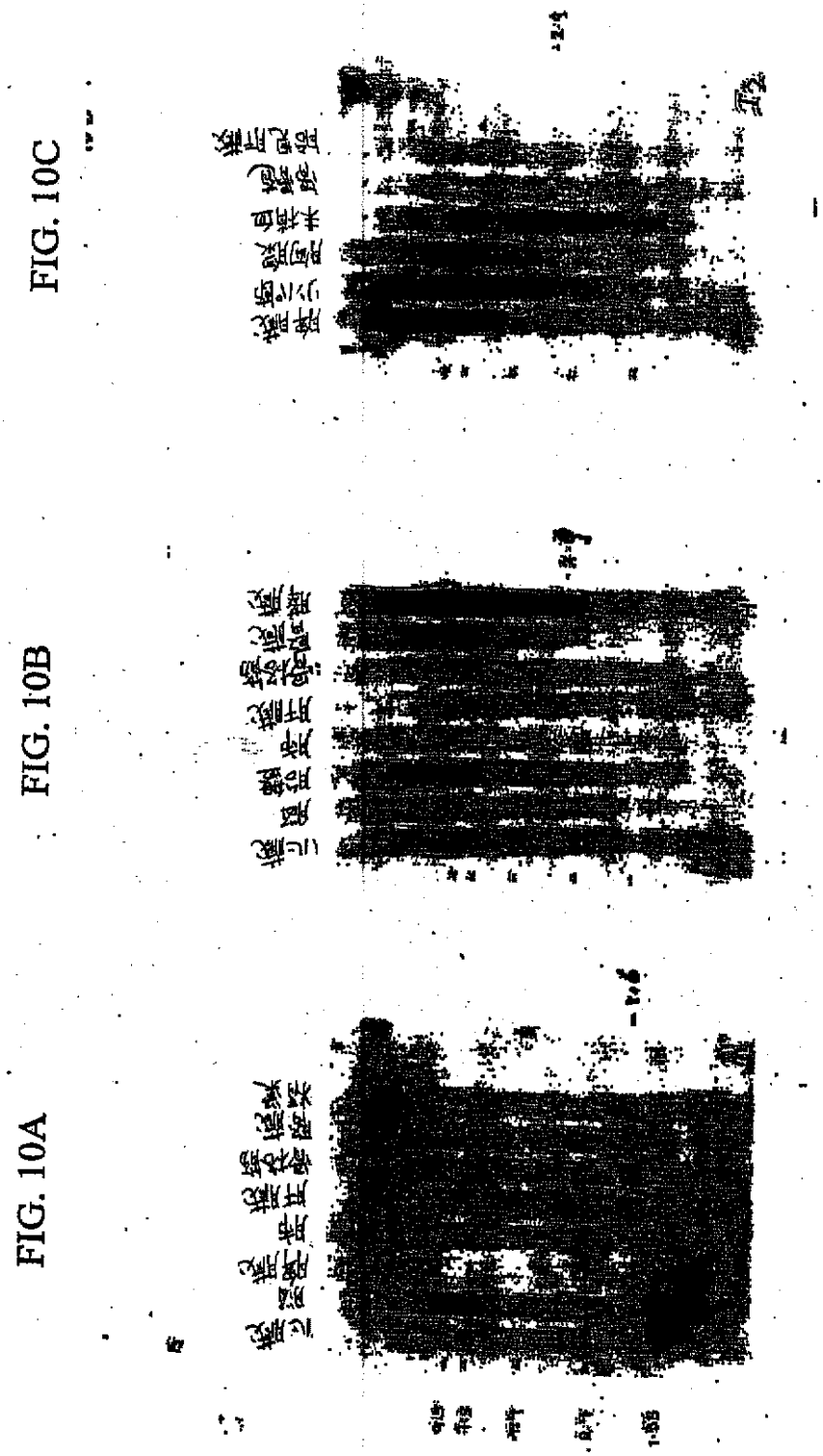
```
gggatttgaa actcaaaaat ggaagaagct acttgtgacc gttcaagact ccagggaggc 12880

tcctctgaca catcccacga ctcaggctta aattccttct tctccctaga aggccacgcc 12940

atcttctcaa ccaggccaca gatgctataa ttatgtaaat gtgtgggaga ggcacacttt 13000

agatcttatc cactagt                                              13017
```

【図１０】



【図１１】

FIG. 11A

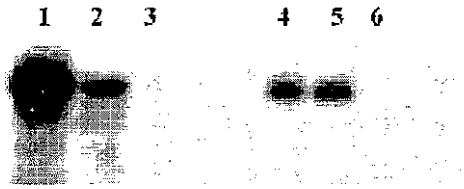
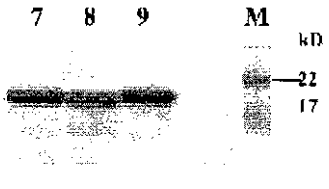


FIG. 11B



【図１２】

FIG. 12

脾臓

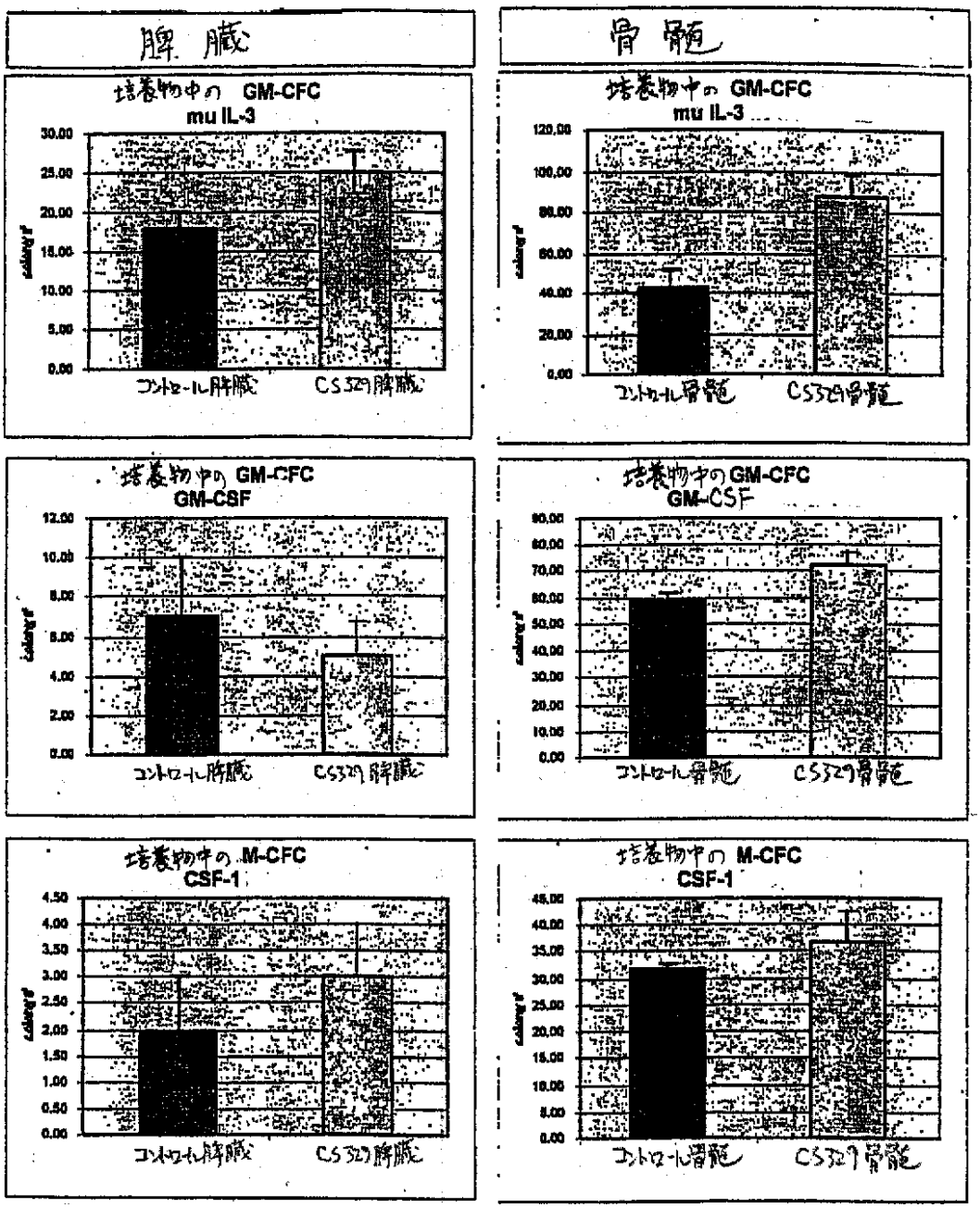
	CD4+	CD8+	CD4+ CD8+	CD3+	NK1.1+	CD3+ NK1.1+
コントロールマウス	20.18	3.72	1.67	24.07	3.06	1.4
CS329 マウス	15.89	3.99	0.37	22.9	2.08	1.1
差	-4.29	0.27	-1.3	-1.17	-0.98	-0.3

骨髄

	CD4+	CD8+	CD4+CD8+	CD3+	NK1.1+	CD3+/NK1.1+
コントロールマウス	2.62	2.54	0.49	3.88	1.26	0.49
CS329 マウス	2.46	2.35	0.41	4.42	1.53	0.57
差	0.16	0.19	0.08	0.54	0.27	0.08

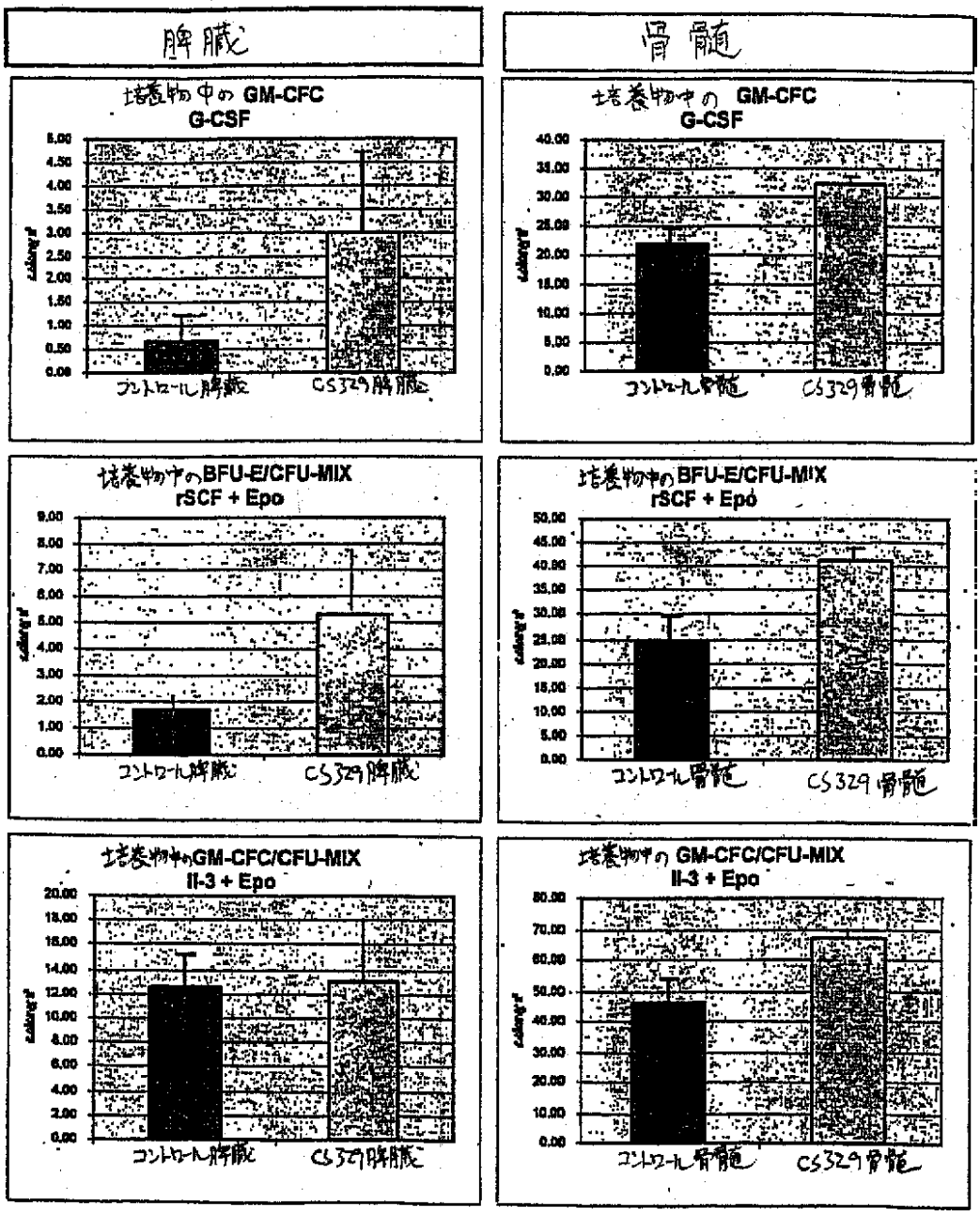
【図１３Ａ】

FIG. 13A


脾臓
骨髄
培養物中の GM-CFC
mu IL-3
コントロール脾臓
CS3Zの脾臓
コントロール骨髄
CS3Zの骨髄
培養物中の GM-CFC
GM-CSF
培養物中の M-CFC
CSF-1

【図１３Ｂ】

FIG. 13B


脾臓
骨髄
GM-CFC
G-CSF
BFU-E/CFU-MIX
rSCF + Epo
GM-CFC/CFU-MIX
Il-3 + Epo
コントロール脾臓
CS329脾臓
コントロール骨髄
CS329骨髄

【図１４】

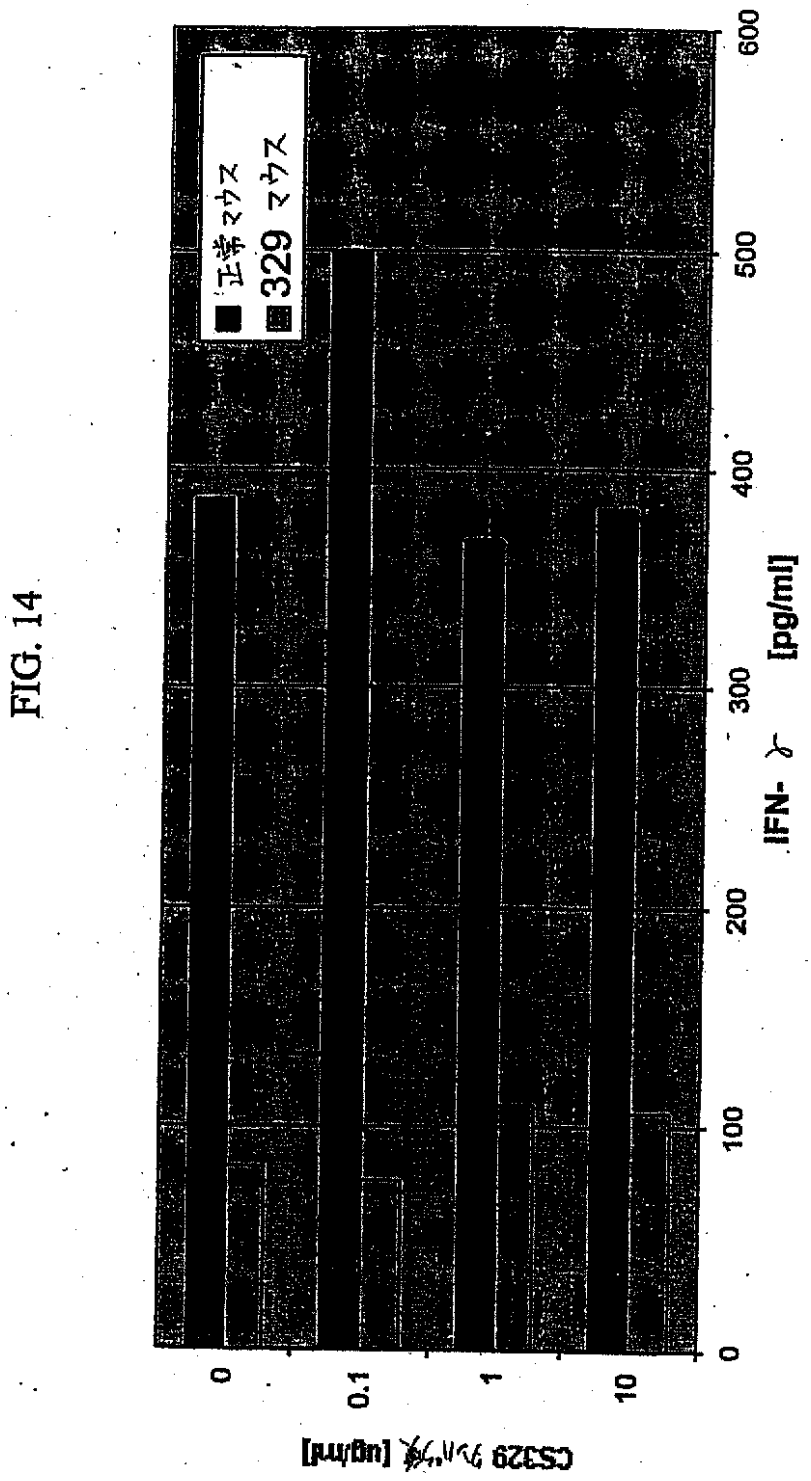
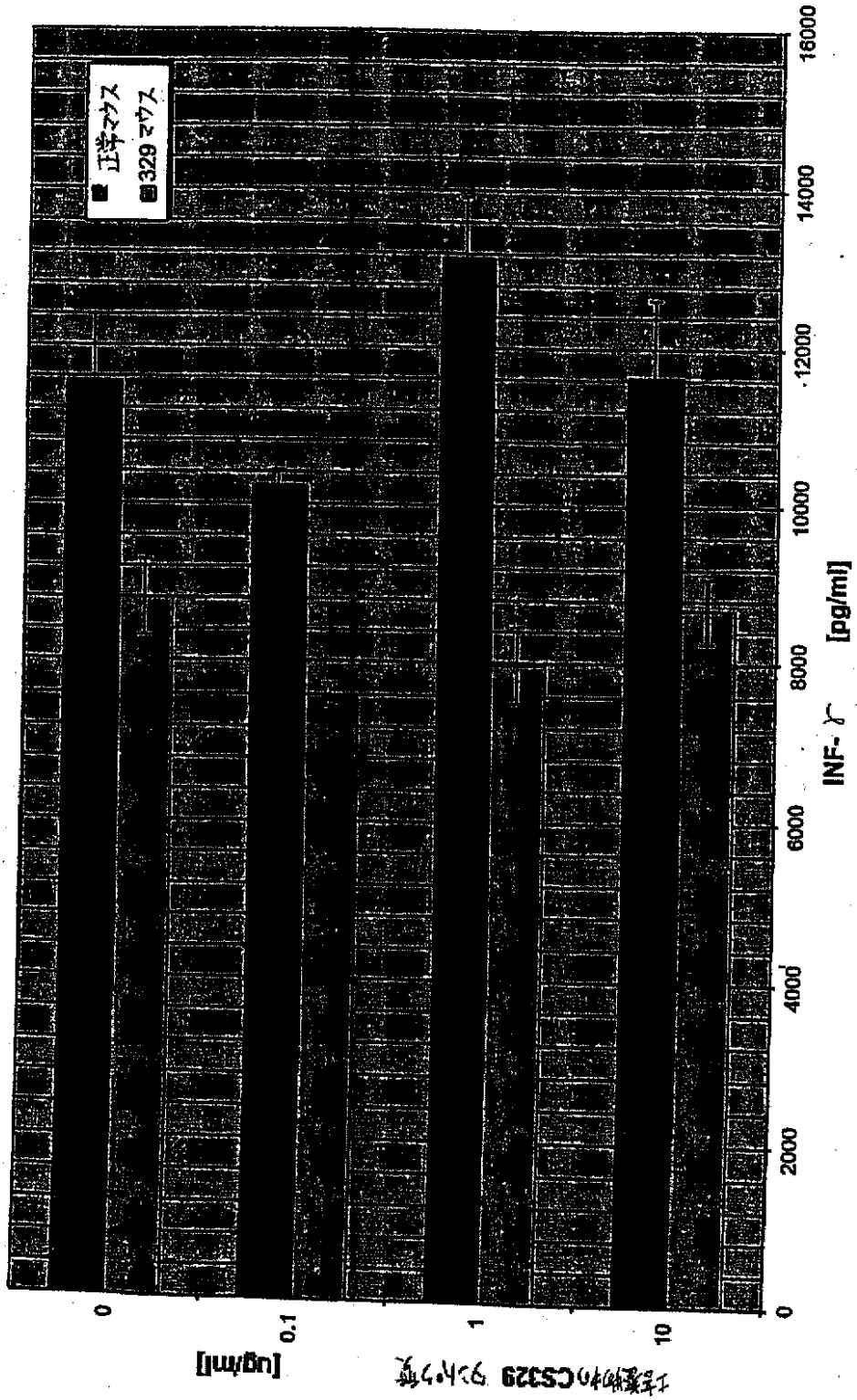

正常マウス
329 マウス
IFN-γ [pg/ml]
0
100
200
300
400
500
600
0
0.1
1
10
CS329 ペプチド [μg/ml]

FIG. 14

【図１５】

FIG. 15


正常マウス
329 マウス
INF-γ [pg/ml]
0
2000
4000
6000
8000
10000
12000
14000
16000
0
0.1
1
10
[ug/ml]

【手続補正書】

【提出日】平成１４年6月２５日（２００２．６．２５）

【手続補正１】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項１】　単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列；

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列；

（ｃ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；

（ｄ）（ａ）～（ｃ）のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および

（ｅ）（ａ）～（ｃ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項２】　単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドに少なくとも約７０％同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、または（ａ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、（ａ）または（ｂ）の領域であって、ここで、該ポリペプチドフラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域；

（ｄ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、または（ａ）～（ｃ）いずれかの領域；

（ｅ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｄ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｆ）（ａ）～（ｄ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項３】　単離された核酸分子であって、以下；

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプ

チドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、該コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｆ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む（ａ）～（ｅ）のいずれかのヌクレオチド配列；

（ｇ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｆ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｈ）（ａ）～（ｅ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項４】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかに記載の核酸分子を含む、ベクター。

【請求項５】　請求項４に記載のベクターを含む、宿主細胞。

【請求項６】　真核生物細胞である、請求項５に記載の宿主細胞。

【請求項７】　原核生物細胞である、請求項５に記載の宿主細胞。

【請求項８】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するためのプロセスであって、該ポリペプチドを発現するために適切な条件下で請求項５に記載の宿主細胞を培養する工程、および必要に応じて、該培養物から該ポリペプチドを単離する工程を包含する、プロセス。

【請求項９】　請求項８に記載のプロセスによって産生される、ポリペプチド。

【請求項１０】　請求項８に記載のプロセスであって、ここで、前記核酸分子が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードするｄｎａに作動可能に連結された、ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対するプロモーターＤＮＡ以外のプロモーターＤＮＡを含む、プロセス。

【請求項１１】　請求項２に記載の単離された核酸分子であって、ここで、前記パーセント同一性は、ＧＡＰ、ＢＬＡＳＴＮ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＸ、ＢｅｓｔＦｉｔ、およびＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムからなる群より選択されるコンピュータープログラムを用いて決定される、単離された核酸分子。

【請求項１２】　化合物がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を阻害するか否かを決定するためのプロセスであって、請求項５、請求項６、または請求項７のいずれかに記載の細胞を該化合物に曝露する工程、および該細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を測定する工程を包含する、プロセス。

【請求項１３】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列；および

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１４】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのオルソログに対するアミノ酸配列；

（ｂ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列に少なくとも約７０％同一であるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基を含む配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列のフラグメントで

あって、ここで、該フラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、フラグメント；ならびに

（ｄ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、（ａ）、または（ｂ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１５】　単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列

であって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項１６】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子によってコードされる単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチド。

【請求項１７】　請求項１４に記載の単離されたポリペプチドであって、ここで、前記パーセント同一性は、ＧＡＰ、ＢＬＡＳＴＰ、ＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴＸ、ＢｅｓｔＦｉｔ、およびＳｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムからなる群より選択されるコンピュータープログラムを用いて決定される、単離されたポリペプチド。

【請求項１８】　単離されたポリペプチドであって、以下：

２位のアルギニン；３位のアラニン、リジン、またはアルギニン；７位のセリン；８位のリジン；９位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；１０位のシステインまたはフェニルアラニン；１３位のアルギニンまたはトリプトファン；１５位のセリン；１８位のアルギニン；１９位のセリンまたはトレオニン；２１位のトレオニン；２３位のセリン；３４位のアルギニン；３７位のチロシン、セリン、またはアルギニン；３８位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；４１位のトレオニン；４３位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；４４位のアラニン；４８位のセリンまたはリジン；５２位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；５３位のセリン；５４位のセリン；５８位のアラニンまたはチロシン；６５位のリジン；６６位のフェニルアラニン；６７位のチロシン；６９位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；７３位のリジンまたはセリン；７８位のトレオニンまたはアルギニン；９０位のセリンまたはアラニン；９１位のアラニン；９６位のセリン；９７位のリジンまたはアルギニン；９８位のリジンまたはセリン；１００位のアラニン；１０２位のチロシン；１０４位のアルギニンまたはアラニン；１０５位のリジン；

１０６位のトレオニン；１０８位のアルギニン；１０９位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１１０位のトレオニンまたはセリン；１１１位のセリン；１１４位のセリン；１１６位のセリン；１１７位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１２１位のチロシン；１２３位のセリンまたはアラニン；１２６位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１３６位のセリン；１３８位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１４１位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１４２位のリジンまたはチロシン；１４３位のトリプトファンまたはトレオニン；１４５位のアラニン；１４７位のトレオニンまたはセリン；１５１位のシステイン；および１５２位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号１または配列番号３のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、
単離されたポリペプチド。

【請求項１９】単離されたポリペプチドであって、以下：
２１位のアルギニン；２２位のアラニン、リジン、またはアルギニン；２６位のセリン；２７位のリジン；２８位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；２９位のシステインまたはフェニルアラニン；３２位のアルギニンまたはトリプトファン；３４位のセリン；３７位のアルギニン；３８位のセリンまたはトレオニン；４０位のトレオニン；４２位のセリン；５３位のアルギニン；５６位のチロシン、セリン、またはアルギニン；５７位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；６０位のトレオニン；６２位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；６３位のアラニン；６７位のセリンまたはリジン；７１位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；７２位のセリン；７３位のセリン；７７位のアラニンまたはチロシン；８４位のリジン；８５位のフェニルアラニン；８６位のチロシン；８８位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；９２位のリジンまたはセリン；９７位のトレオニンまたはアルギニン；１０９位のセリンまたはアラニン；１１０位のアラニン；１１５位のセリン；１１６位のリジンまたはアルギニン；１１７位のリジンまたはセリン；１

１９位のアラニン；１２１位のチロシン；１２３位のアルギニンまたはアラニン；１２４位のリジン；１２５位のトレオニン；１２７位のアルギニン；１２８位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１２９位のトレオニンまたはセリン；１３０位のセリン；１３３位のセリン；１３５位のセリン；１３６位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１４０位のチロシン；１４２位のセリンまたはアラニン；１４５位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１５５位のセリン；１５７位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１６０位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１６１位のリジンまたはチロシン；１６２位のトリプトファンまたはトレオニン；１６４位のアラニン；１６６位のトレオニンまたはセリン；１７０位のシステイン；および１７１位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、
単離されたポリペプチド。

【請求項２０】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、または請求項１９のいずれかに記載のポリペプチドに特異的に結合する、選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項２１】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列を含むポリペプチドまたはそのフラグメントに特異的に結合する、請求項２０に記載の選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項２２】　抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２３】　ヒト化抗体である、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２４】　ヒト抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２５】　ポリクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２６】　モノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２７】　キメラ抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２８】　ＣＤＲ移植抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項２９】　抗イディオタイプ抗体またはそのフラグメントである、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項３０】　可変領域フラグメントである、請求項２０記載の選択的結合因子。

【請求項３１】　前記可変領域フラグメントがＦａｂフラグメントまたはＦａｂ’フラグメントである、請求項３０に記載の選択的結合因子。

【請求項３２】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を有するポリペプチドに特異性を有する少なくとも１つの相補性決定領域を含む、選択的結合因子またはそのフラグメント。

【請求項３３】　検出可能標識に結合される、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項３４】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性を拮抗する、請求項２０に記載の選択的結合因子。

【請求項３５】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド関連の疾患、状態、または障害を、処置、予防、または改善するための薬学的組成物であって、有効量の請求項２０に記載の選択的結合因子を含有する、薬学的組成物。

【請求項３６】　配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドで動物を免疫することによって産生される、選択的結合因子。

【請求項３７】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかに記載のポリペプチドを結合し得る選択的結合因子を産生する、ハイブリドーマ。

【請求項３８】　請求項２０に記載の抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体またはフラグメントを用いて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量を検出または定量する方法

。

【請求項３９】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、または請求項１９のいずれかのポリペプチド、および薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項４０】　前記薬学的に受容可能な処方剤が、キャリア、アジュバント、溶解剤、安定剤、または抗酸化剤である、請求項３９に記載の組成物。

【請求項４１】　請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、または請求項１９のいずれかのポリペプチドの誘導体を含む、ポリペプチド。

【請求項４２】　水溶性ポリマーを用いて共有結合的に改変された、請求項４１に記載のポリペプチド。

【請求項４３】　請求項４２に記載のポリペプチドであって、ここで、前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール、モノメトキシポリエチレングリコール、デキストラン、セルロース、ポリ－（Ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール、およびポリビニルアルコールからなる群より選択される、ポリペプチド。

【請求項４４】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかの核酸分子および薬学的に受容可能な処方剤を含む、組成物。

【請求項４５】　前記核酸分子が、ウイルスベクター中に含まれる、請求項４４に記載の組成物。

【請求項４６】　請求項１、請求項２または請求項３のいずれかの核酸分子を含む、ウイルスベクター。

【請求項４７】　異種アミノ酸配列に融合された、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、または請求項１９のいずれかのポリペプチドを含む、融合ポリペプチド。

【請求項４８】　前記異種アミノ酸配列が、ＩｇＧ定常ドメインまたはそのフラグメントである、請求項４７に記載の融合ポリペプチド。

【請求項４９】　医学状態を、処置、予防、または改善するための薬学的組成物であって、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、もしくは請

求項１９のいずれかのポリペプチド、または請求項１、請求項２、もしくは請求項３のいずれかの核酸によってコードされるポリペプチドを含有する、薬学的組成物。

【請求項５０】　被験体における病的状態または病的状態に対する感受性に関して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを検出するキットであって、該キットは、以下：

（ａ）サンプル中の、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、もしくは請求項１９のいずれかのポリペプチド、または請求項１、請求項２、もしくは請求項３のいずれかの核酸によってコードされるポリペプチドに結合するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド選択的結合因子；および

（ｂ）使用方法を示す指示書、

を備える、キット。

【請求項５１】　デバイスであって、以下：

（ａ）移植に適した膜；および

（ｂ）該膜内にカプセル化された細胞であって、該細胞は、請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、もしくは請求項１９のいずれかのタンパク質を分泌する、細胞；

を備え、

該膜は、該タンパク質に対して透過性であり、そして該細胞に有害な物質に対して不透過性である、デバイス。

【請求項５２】　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する化合物を同定する方法であって、以下：

（ａ）請求項１３、請求項１４、請求項１５、請求項１８、もしくは請求項１９のいずれかのポリペプチドを、化合物と接触させる工程；および

（ｂ）該化合物に対する該ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合の程度を決定する工程、

を包含する、方法。

【請求項５３】　前記化合物に結合した場合に、前記ポリペプチドの活性を決定する工程をさらに包含する、請求項５２に記載の方法。

【請求項５４】　動物においてポリペプチドのレベルを調節する薬学的組成物であって、請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子を含有する、薬学的組成物。

【請求項５５】　請求項１、請求項２、または請求項３のいずれかの核酸分子を含む、トランスジェニック非ヒト哺乳動物。

【請求項５６】　化合物がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を阻害するか否かを決定するためのプロセスであって、請求項５５に記載のトランスジェニック哺乳動物を該化合物に曝露する工程、および該哺乳動物におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を測定する工程を包含する、プロセス。

【手続補正２】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】発明の詳細な説明

【補正方法】変更

【補正の内容】

【発明の詳細な説明】

【０００１】

（発明の分野）

本発明は、新規インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト関連（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ）ポリペプチドおよびこれをコードする核酸分子に関する。本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するための、選択的結合因子、ベクター、宿主細胞および方法に関する。本発明はさらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと関連する疾患、障害、および状態の、診断、処置、改善、および／または予防のための薬学的組成物および方法に関する。

【０００２】

（発明の背景）

核酸分子の同定、クローニング、発現、および操作における技術進歩ならびにヒトゲノムの解読は、新規治療因子の発見を大きく加速した。現在、高速核酸配列決定技術は、前例のない速度で配列情報を作製し得、そしてコンピュータ分析

と結合されて、ゲノムの一部および全体への重複配列の集合ならびにポリペプチドコード領域の同定を可能にする。既知アミノ酸配列のデータベース編集物に対する推定アミノ酸配列の比較は、以前に同定された配列および／または構造の目印に対して相同性の程度を決定することを可能にする。核酸分子のポリペプチドコード領域のクローニングおよび発現は、構造分析および機能分析のためのポリペプチド産物を提供する。核酸分子およびコードされるポリペプチドの操作は、治療剤としての使用に関して生成物に対して有利な特性を与え得る。

【０００３】

過去１０年間にわたるゲノム研究における有意な技術進歩にも関わらず、ヒトゲノムに基づく新規治療剤の開発に対する可能性は、未だ広く理解されていない。潜在的に有利なポリペプチド治療剤をコードする多くの遺伝子またはこれらがコードするポリペプチド（これらは、治療分子に対して「標的」としてはたらき得る）は、未だ同定されていない。

【０００４】

従って、診断的な利点または治療的な利点を有する、新規ポリペプチドおよびこれらをコードする核酸分子を同定することが、本発明の目的である。

【０００５】

これまでに発見された最も強力な炎症性サイトカインのうちの１つは、インターロイキン－１（ＩＬ－１）である。ＩＬ－１は、多くの疾患および医学状態に関与すると考えられている。ＩＬ－１は、マクロファージ／単球系統の細胞によって（排他的にではないが）産生され、そして２つの形態：ＩＬ－１アルファ（ＩＬ－１α）およびＩＬ－１ベータ（ＩＬ－１β）で産生され得る。インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａ）は、インターロイキン－１の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。

【０００６】

（発明の要旨）

本発明は、新規ＩＬ－１ｒａ－Ｒの核酸分子およびコードされるポリペプチドに関する。

【０００７】

本発明は、単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：）１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列；

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列；

（ｃ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列；

（ｄ）（ａ）～（ｃ）のいずれかの相補体に、中程度または高度にストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列；および

（ｅ）（ａ）～（ｃ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【０００８】

本発明はまた、単離された核酸分子であって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドに少なくとも約７０％同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、または（ａ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体をコードするヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基のポリペプチドフラグメントをコードする、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、（ａ）または（ｂ）の領域であって、ここで、上記ポリペプチドフラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるコードされたポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、領域

；

（ｄ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかのヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサート、または（ａ）～（ｃ）いずれかの領域；

（ｅ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｄ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｆ）（ａ）～（ｄ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【０００９】

本発明はさらに、単離された核酸分子であって、以下；

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコード

するヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびN末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列であって、ここで、上記コードされたポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、ヌクレオチド配列；

（ｆ）少なくとも約１６ヌクレオチドのフラグメントを含む（ａ）～（ｅ）のいずれかのヌクレオチド配列；

（ｇ）中程度または高度にストリンジェントな条件下で、（ａ）～（ｆ）のいずれかの相補体にハイブリダイズする、ヌクレオチド配列；ならびに

（ｈ）（ａ）～（ｅ）のいずれかに相補的なヌクレオチド配列、

からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子を提供する。

【００１０】

本発明は、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列；および

（ｂ）ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１１】

本発明はまた、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのオルソログ（ｏｒｔｈｏｌｏｇ）に対するアミノ酸配列；

（ｂ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれか

のアミノ酸配列に少なくとも約７０％同一であるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも約２５アミノ酸残基を含む配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列のフラグメントであって、ここで、上記フラグメントは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有するか、または抗原性である、フラグメント；ならびに

（ｄ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３中のＤＮＡインサートによってコードされるアミノ酸配列、（ａ）、または（ｂ）の、対立遺伝子改変体またはスプライス改変体のアミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１２】

本発明はさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：

（ａ）少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｂ）少なくとも１つのアミノ酸挿入を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｃ）少なくとも１つのアミノ酸欠失を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；

（ｄ）Ｃ末端短縮および／またはＮ末端短縮を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列；ならびに

（ｅ）アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、Ｃ末端短縮、およびＮ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を有する配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるアミノ酸配列であって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、アミノ酸配列、

からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１３】

本発明はなおさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：

２位のアルギニン；３位のアラニン、リジン、またはアルギニン；７位のセリン；８位のリジン；９位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；１０位のシステインまたはフェニルアラニン；１３位のアルギニンまたはトリプトファン；１５位のセリン；１８位のアルギニン；１９位のセリンまたはトレオニン；２１位のトレオニン；２３位のセリン；３４位のアルギニン；３７位のチロシン、セリン、またはアルギニン；３８位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；４１位のトレオニン；４３位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；４４位のアラニン；４８位のセリンまたはリジン；５２位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；５３位のセリン；５４位のセリン；５８位のアラニンまたはチロシン；６５位のリジン；６６位のフェニルアラニン；６７位のチロシン；６９位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；７３位のリジンまたはセリン；７８位のトレオニンまたはアルギニン；９０位のセリンまたはアラニン；９１位のアラニン；９６位のセリン；９７位のリジンまたはアルギニン；９８位のリジンまたはセリン；１００位のアラニン；１

０２位のチロシン；１０４位のアルギニンまたはアラニン；１０５位のリジン；１０６位のトレオニン；１０８位のアルギニン；１０９位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１１０位のトレオニンまたはセリン；１１１位のセリン；１１４位のセリン；１１６位のセリン；１１７位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１２１位のチロシン；１２３位のセリンまたはアラニン；１２６位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１３６位のセリン；１３８位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１４１位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１４２位のリジンまたはチロシン；１４３位のトリプトファンまたはトレオニン；１４５位のアラニン；１４７位のトレオニンまたはセリン；１５１位のシステイン；および１５２位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号１または配列番号３のいずれかに示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１４】

本発明はなおさらに、単離されたポリペプチドであって、以下：

２１位のアルギニン；２２位のアラニン、リジン、またはアルギニン；２６位のセリン；２７位のリジン；２８位のアラニン、システイン、リジン、トレオニン、またはセリン；２９位のシステインまたはフェニルアラニン；３２位のアルギニンまたはトリプトファン；３４位のセリン；３７位のアルギニン；３８位のセリンまたはトレオニン；４０位のトレオニン；４２位のセリン；５３位のアルギニン；５６位のチロシン、セリン、またはアルギニン；５７位のリジン、アルギニン、トレオニン、またはセリン；６０位のトレオニン；６２位のセリン、フェニルアラニン、またはアラニン；６３位のアラニン；６７位のセリンまたはリジン；７１位のアラニン、トレオニン、またはフェニルアラニン；７２位のセリン；７３位のセリン；７７位のアラニンまたはチロシン；８４位のリジン；８５位のフェニルアラニン；８６位のチロシン；８８位のセリン、チロシン、またはフェニルアラニン；９２位のリジンまたはセリン；９７位のトレオニンまたはアル

ギニン；１０９位のセリンまたはアラニン；１１０位のアラニン；１１５位のセリン；１１６位のリジンまたはアルギニン；１１７位のリジンまたはセリン；１１９位のアラニン；１２１位のチロシン；１２３位のアルギニンまたはアラニン；１２４位のリジン；１２５位のトレオニン；１２７位のアルギニン；１２８位のリジン、トレオニン、またはトリプトファン；１２９位のトレオニンまたはセリン；１３０位のセリン；１３３位のセリン；１３５位のセリン；１３６位のフェニルアラニン、システイン、またはチロシン；１４０位のチロシン；１４２位のセリンまたはアラニン；１４５位のシステイン、セリン、またはトレオニン；１５５位のセリン；１５７位のフェニルアラニンまたはアルギニン；１６０位のトレオニン、アルギニン、またはアラニン；１６１位のリジンまたはチロシン；１６２位のトリプトファンまたはトレオニン；１６４位のアラニン；１６６位のトレオニンまたはセリン；１７０位のシステイン；および１７１位のセリン、システイン、またはフェニルアラニンからなる群より選択される少なくとも１つのアミノ酸置換を有する配列番号５に示されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドであって、ここで、上記ポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、または配列番号６のいずれかに示されるポリペプチドの活性を有する、単離されたポリペプチドを提供する。

【００１５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒアミノ酸配列を含む融合ポリペプチドがまた、提供される。

【００１６】

本発明はまた、本明細書中に示されるような単離された核酸分子を含む発現ベクター、本明細書中に示されるような組換え核酸分子を含む組換え宿主細胞、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する方法を提供し、この方法は、この宿主細胞を培養する工程、必要に応じてそのように産生されたポリペプチドを単離する工程を包含する。

【００１７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子を含むトランスジェニック非ヒト動物がまた、本発明に含まれる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの増加した

レベル（これは、増加した循環レベルを含み得る）を可能にする様式で、動物中に導入される。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、内因性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を阻害する様式で動物に導入される（すなわち、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子ノックアウトを保有するトランスジェニック動物を作製する）。トランスジェニック非ヒト動物は、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはげっ歯類（例えば、ラットまたはマウス）である。

【００１８】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの誘導体がまた、提供される。

【００１９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的に結合し得る選択的結合因子（例えば、抗体およびペプチド）が、さらに提供される。このような抗体およびペプチドは、アゴニストのものであってもアンタゴニストのものであってもよい。

【００２０】

本発明のヌクレオチド、ポリペプチド、もしくは選択的結合因子ならびに１つ以上の薬学的に受容可能な処方剤を含む薬学的組成物がまた、本発明によって含まれる。薬学的組成物は、治療有効量の本発明のヌクレオチドまたはポリペプチドを提供するために使用される。本発明はまた、このポリペプチド、核酸分子、および選択的結合因子を使用する方法に関する。

【００２１】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドおよびｉｌ－１ｒａ－Ｒ核酸分子は、疾患および障害（本明細書中に列挙されるものを含む）を処置、予防、改善、および／または検出するための使用され得る。

【００２２】

本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する試験分子を同定するために、試験分子をアッセイする方法を提供する。この方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを試験分子と接触させて、この試験分子のこのポリペプチドに対する結合の程度を決定する工程を包含する。この方法はさらに、このような試験分子が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストであ

るか否かを決定する工程を包含する。本発明はさらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの活性に対する分子の影響を試験する方法を提供する。

【００２３】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調整する方法およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのレベルを調節する（すなわち、レベルを増加するか、またはレベルを減少する）方法がまた、本発明によって含まれる。１つの方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子を動物に投与する工程を包含する。別の方法において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調整または調節するエレメントを含む核酸分子が、投与され得る。これらの方法の例としては、本明細書中にさらに記載されるように、遺伝子治療、細胞治療、およびアンチセンス治療が挙げられる。

【００２４】

本発明の別の局面において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、そのレセプター（「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター」）を同定するために使用され得る。種々の形態の「発現クローニング」は、タンパク質リガンドに対するレセプターをクローン化するために広範囲に使用されている。例えば、Ｓｉｍｏｎｓｅｎおよびｌｏｄｉｓｈ、１９９４、Ｔｒｅｎｄｓ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｃｉ．１５：４３７－４１ならびにＴａｒｔａｇｌｉａら、１９９５、Ｃｅｌｌ８３：１２６３－７１を参照のこと。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターの単離は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル伝達経路の新規アゴニストおよびアンタゴニストの同定または開発に有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター－選択的結合因子（例えば、抗体およびその誘導体）、小分子、およびアンチセンスオリゴヌクレオチドが挙げられ、これらのうちのいずれかは、１つ以上の疾患または障害（本明細書中に開示されるものを含む）の処置に有用であり得る。

【００２５】

（発明の詳細な説明）

本明細書中で使用される節の表題は、構成の目的のみのためであり、そして記載される内容を限定するようには解釈されるべきではない。本願において引用される全ての参考文献は、明確に本明細書中に参考として援用される。

【００２６】

（定義）

用語「ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子」または「ＩＬ－１ｒａ－R核酸分子」あるいは「ＩＬ－１ｒａ－Rポリヌクレオチド」とは、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるヌクレオチド配列、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列、ＡＴＣＣ受託番号ＰＴＡ－１４２３におけるＤＮＡインサートのヌクレオチド配列、および本明細書中で定義される核酸分子を含むか、またはこれらからなる核酸分子をいう。

【００２７】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド対立遺伝子改変体」とは、生物体または生物体の集団の染色体の所定の遺伝子座を占める遺伝子の、天然に存在する可能ないくつかの代替的な形態のうちの１つをいう。

【００２８】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドスプライス改変体」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドアミノ酸配列のＲＮＡ転写物中のイントロン配列の選択的プロセシングによって生成される、核酸分子（通常はＲＮＡ）をいう。

【００２９】

用語「単離された核酸分子」とは、（１）総核酸が供給源細胞から単離される場合に、これが天然で一緒に見出されるタンパク質、脂質、炭水化物、または他の物質のうち少なくとも約５０パーセントから分離された本発明の核酸分子か、（２）「単離された核酸分子」が天然で連結しているポリヌクレオチドの全てまたは一部に連結していない本発明の核酸分子か、（３）天然では連結しないポリヌクレオチドに作動可能に連結した本発明の核酸分子か、あるいは（４）より大きなポリヌクレオチド配列の一部として天然には存在しない、本発明の核酸分子

をいう。好ましくは、本発明の単離された核酸分子は、任意の他の混入核酸分子、または天然の環境において見出される他の混入物（これらは、ポリペプチド産生における使用、または治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用を妨げる）を実質的に含まない。

【００３０】

用語「核酸配列」または「核酸分子」は、ＤＮＡまたはＲＮＡ配列をいう。この用語は、ＤＮＡおよびＲＮＡの公知の塩基アナログのいずれかから形成される分子を含み、例えば、以下であるがこれらに限定されない：４－アセチルシトシン、８－ヒドロキシ－Ｎ６－メチルアデノシン、アジリジニル－シトシン、プソイドイソシトシン（ｐｓｅｕｄｏｉｓｏｃｙｔｏｓｉｎｅ）、５－（カルボキシヒドロキシルメチル）ウラシル、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、Ｎ６－イソ－ペンテニルアデニン、１－メチルアデニン、１－メチルプソイドウラシル、１－メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－メチルアデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシアミノ－メチル－２－チオウラシル、β－Ｄ－マンノシルキューオシン、５’－メトキシカルボニル－メチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、オキシブトキソシン、プソイドウラシル、キューオシン、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、Ｎ－ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸、プソイドウラシル、キューオシン、２－チオシトシン、および２，６－ジアミノプリン。

【００３１】

用語「ベクター」は、宿主細胞にコード情報を移すために使用される任意の分子（例えば、核酸、プラスミド、またはウイルス）をいうように使用される。

【００３２】

用語「発現ベクター」は、宿主細胞の形質転換に適切であり、そして挿入された異種核酸配列の発現を、指向および／または制御する核酸配列を含むベクターをいう。発現としては、転写、翻訳、およびＲＮＡスプライシング（イントロンが存在する場合）のようなプロセスが挙げられるがこれらに限定されない。

【００３３】

用語「作動可能に連結された」は、本明細書中で、隣接配列の配置をいうように使用され、ここで、このように記載される隣接配列は、その通常の機能を行うように配置またはアセンブルされる。従って、コード配列に作動可能に連結した隣接配列は、このコード配列の複製、転写および／または翻訳を行うことが可能であり得る。例えば、コード配列は、このプロモーターがコード配列の転写を指向し得る場合に、プロモーターに作動可能に連結されている。隣接配列は、これが正確に機能する限り、コード配列と連続する必要はない。したがって、例えば、介在する、翻訳されないが、なお転写される配列が、プロモーター配列とコード配列との間に存在し得、そしてこのプロモーター配列は、依然としてこのコード配列に「作動可能に連結」されているとみなされ得る。

【００３４】

用語「宿主細胞」は、核酸配列で形質転換されたか、または形質転換され得、次いで目的の選択された遺伝子を発現し得る細胞をいうように使用される。この用語には、選択された遺伝子が存在する限り、子孫が形態学または遺伝子構造において本来の親と同一であろうとなかろうと、親細胞の子孫を含む。

【００３５】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド、および関連するポリペプチドをいう。関連ポリペプチドとしては、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体が挙げられ、これらは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの少なくとも１つの活性を保有する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、本明細書中で定義される成熟ポリペプチドであ

り得、そしてこれらが調製される方法に依存して、アミノ末端メチオニン残基を有しても有さなくてもよい。

【００３６】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）での短縮化および／またはカルボキシ末端での短縮化を含むポリペプチドをいう。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント」はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体のアミノ末端および／またはカルボキシ末端短縮化、あるいはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体によってコードされるポリペプチドのアミノ末端および／またはカルボキシ末端短縮化をいう。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメントは、選択的ＲＮＡスプライシング、またはインビボプロテアーゼ活性から生じ得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの膜結合形態もまた、本発明によって意図される。好ましい実施形態において、短縮化および／または欠失は、約１０アミノ酸、または約２０アミノ酸、または約５０アミノ酸、または約７５アミノ酸、または約１００アミノ酸、または約１００より多くのアミノ酸を含む。このように生成されるポリペプチドフラグメントは、約２５個連続したアミノ酸、または約５０アミノ酸、または約７５アミノ酸、または約１００アミノ酸、または約１２５アミノ酸を含む。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメントは、必要に応じて、アミノ末端メチオニン残基を含み得る。このようなフラグメントは、例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する抗体を生成するために使用され得ることが理解される。

【００３７】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアミノ酸配列に対応する、別の種由来のポリペプチドをいう。例えば、マウスおよびヒトのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、互いにオルソログであ

るとみなされる。

【００３８】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変」は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアミノ酸配列（リーダー配列を有するかまたは有さない）と比較して、１つ以上のアミノ酸配列の置換、欠失（例えば、内部欠失および／またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント）、および／または付加（例えば、内部付加および／またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド）を有するアミノ酸配列を含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。改変体は、天然に存在する（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体）か、または、人工的に構築され得る。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体は、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに示されるＤＮＡ配列から変化するＤＮＡ配列を有する、対応する核酸分子から調製され得る。好ましい実施形態において、この改変体は、１～３、または１～５、または１～１０、または１～１５、または１～２０、または１～２５、または１～５０、または１～７５、または１～１００、または１００より多くのアミノ酸の置換、挿入、付加、および／または欠失を有し、ここで、この置換は、保存的、または非保存的、あるいはその任意の組み合わせであり得る。

【００３９】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体」は、本明細書中で定義されるような、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチド、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体をいい、これらは、化学的に改変されている。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体」はまた、本明細書中で定義されるようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体によってコードされるポリペプチドをいい、これは化学的に改変されている。

【００４０】

用語「成熟ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」は、リーダー配列を欠失したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。成熟ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、他の改変（例えば、アミノ末端（リーダー配列を有するかまたは有さない）および／またはカルボキシ末端のタンパク質分解性プロセシング、より大きな前駆体からのより小さなポリペプチドの切断、Ｎ連結および／またはＯ連結グリコシル化など）を含み得る。

【００４１】

用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド」は、本明細書中で定義されるような、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチド、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドオルソログ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ誘導体のアミノ末端またはカルボキシ末端での、１つ以上のアミノ酸の融合（例えば、異種タンパク質またはペプチド）をいう。用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチド」はまた、本明細書中で定義されるようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド対立遺伝子改変体またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体によってコードされるポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端での、１つ以上のアミノ酸の融合をいう。

【００４２】

用語「生物学的に活性なＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド」とは、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドの、少なくとも１つの活性特徴を有するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをいう。さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、免疫原としての活性を有し得る；すなわち、このＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、抗体が惹起され得る少なくとも１つのエピトープを含む。

【００４３】

用語「単離されたポリペプチド」とは、（１）供給源細胞から単離される場合に、天然で一緒に見出されるポリペプチド、脂質、炭水化物、または他の物質の少なくとも約５０％から分離された本発明のポリペプチド、（２）「単離されたポリペプチド」が天然で連結するポリペプチドの全てまたは一部に（共有結合的

または非共有結合的相互作用によって）連結しない、本発明のポリペプチド、（３）天然には連結しないポリペプチドに作動可能に（共有結合的または非共有結合的相互作用によって）連結する、本発明のポリペプチド、または（４）天然には存在しない本発明のポリペプチドをいう。好ましくは、この単離されたポリペプチドは、任意の他の混入ポリペプチドまたは天然の環境において見出される他の混入物（これは、その治療的使用、診断的使用、予防的使用、または研究的使用に干渉する）を実質的に含まない。

【００４４】

用語「同一性」とは、当該分野で公知のように、配列の比較によって決定される、２つ以上のポリペプチド分子または２つ以上の核酸分子の配列間の関係をいう。当該分野において、「同一性」はまた、場合に応じて、２つ以上のヌクレオチドまたは２つ以上のアミノ酸配列文字列の間の一致によって決定されるように、核酸分子の間またはポリペプチドの間の配列関連性の程度を意味する。「同一性」は、２つ以上の配列のうち小さなものと、特定の数理的モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち、「アルゴリズム」）によって焦点をあてられたギャップ整列（存在する場合）との間の一致の同一パーセントを評価する。

【００４５】

用語「類似性」は、概念に関するが、「同一性」とは対照的に、「類似性」は、同一的一致および保存的置換の一致の両方を含む関連性の基準をいう。２つのポリペプチド配列が、例えば１０／２０個同一のアミノ酸を有し、そして残りが全て非保存的置換である場合、同一性パーセントおよび類似性は、どちらも５０％である。同じ例において、保存的置換であるさらに５つの位置が存在する場合、同一性パーセントは５０％のままであるが、類似性パーセントは７５％（１５／２０）である。したがって、保存的置換が存在する場合、２つのポリペプチド間の類似性パーセントは、これらの２つのポリペプチド間の同一性パーセントよりも高い。

【００４６】

用語「天然に存在する」または「ネイティブの」は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的材料と関連して使用される場合、天然において

見出され、そしてヒトによって操作されていない材料をいう。同様に、「天然に存在しない」または「ネイティブではない」は、本明細書中で使用される場合、天然で見出されないか、またはヒトによって構造的に改変もしくは合成された材料をいう。

【００４７】

用語「有効量」および「治療有効量」は、各々、本明細書中に示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの１つ以上の生物学的活性の観察可能なレベルを支持するために使用されるＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の量をいう。

【００４８】

用語「薬学的に受容可能なキャリア」または「生理学的に受容可能なキャリア」は、本明細書中で使用される場合、薬学的組成物としてのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ選択的結合因子の送達の達成または増強に適切な１つ以上の処方材料をいう。

【００４９】

用語「抗原」とは、選択的結合因子（例えば、抗体）により結合され得、そしてさらに動物において使用されて、その抗原のエピトープに結合し得る抗体を産生じ得る分子または分子の一部をいう。抗原は、１つ以上のエピトープを有し得る。

【００５０】

用語「選択的結合因子」とは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異性を有する分子（単数または複数）をいう。本明細書中で使用される場合、用語「特異的」および「特異性」とは、選択的結合因子が、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合し、かつ非ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合しない能力をいう。しかし、選択的結合因子がまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載されるようなポリペプチドのオルソログ（すなわち、その種間変形（例えば、マウスＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドおよびラットＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド））に結合し得ることが、理解される。

【００５１】

用語「形質導入」を用いて、通常はファージによる１つの細菌から別の細菌への遺伝子の伝達をいう。「形質導入」はまた、レトロウイルスによる真核生物細胞配列の獲得および伝達をいう。

【００５２】

用語「トランスフェクション」は、細胞による異種または外因性ＤＮＡの取り込みをいうために使用され、そして細胞は、外因性ＤＮＡが細胞膜内に導入された場合には「トランスフェクトされ」ている。多数のトランスフェクション技術が、当該分野で周知であり、そして本明細書中に開示される。例えば、Ｇｒａｈａｍら，１９７３，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ ５２：４５６；Ｓａｍｂｒｏｏｋら，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，１９８９）；Ｄａｖｉｓら，Ｂａｓｉｃ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，１９８６）；ａｎｄ Ｃｈｕら，１９８１，Ｇｅｎｅ １３：１９７を参照のこと。このような技術を使用して、1つ以上の外因性ＤＮＡ部分を適切な宿主細胞に導入し得る。

【００５３】

本明細書中で使用される場合、用語「形質転換」とは、細胞の遺伝的特徴における変化をいい、そして細胞は、新しいＤＮＡを含有するように改変された場合に形質転換されている。例えば、細胞は、それがそのネイティブな状態から遺伝的に改変される場合に形質転換される。トランスフェクションまたは形質導入に続いて、ＤＮＡの形質転換は、物理的に細胞の染色体に組み込むことにより細胞のＤＮＡと組換わり得るか、複製されることなしにエピソームエレメントとして一時的に維持され得るか、またはプラスミドとして独立的に複製され得る。ＤＮＡが細胞分裂と共に複製される場合に、細胞は、安定に形質転換されたとみなされる。

【００５４】

（核酸分子および／またはポリペプチドの関連性）

関連した核酸分子が、配列番号１、配列番号３、配列番号５または配列番号３５のいずれかの核酸分子の対立遺伝子改変体またはスプライス改変体を包含する

こと、および上記のヌクレオチド配列のいずれかに相補的である配列を包含することが理解される。関連した核酸分子はまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかにおけるポリペプチドと比較して１以上のアミノ酸残基の置換、改変、付加および／または欠失を含むかまたは本質的にこれからなるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を包含する。このような関連したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、例えば、１以上のN結合型もしくはO結合型のグリコシル化部位の付加および／もしくは欠失、または１以上のシステイン残基の付加および／もしくは欠失を含み得る。

【００５５】

関連した核酸分子はまた、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも約２５個連続したアミノ酸、または少なくとも約５０個のアミノ酸、または少なくとも約７５個のアミノ酸、または少なくとも約１００個のアミノ酸、または少なくとも約１２５個のアミノ酸、または１２５個より多くのアミノ酸残基のポリペプチドをコードする、ＩＬ－１ｒａ－R核酸分子のフラグメントを包含する。

【００５６】

さらに、関連したＩＬ－１ｒａ－R核酸分子はまた、本明細書中で定義したとおりの中程度または高度にストリンジェントな条件下で、配列番号１、配列番号３、配列番号５もしくは配列番号３５のいずれかのＩＬ－１ｒａ－R核酸分子またはポリペプチドをコードする分子の十分に相補的な配列とハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む分子を包含し、このポリペプチドは、配列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６、または本明細書中に定義したとおりの核酸フラグメント、または本明細書中に定義したとおりのポリペプチドをコードする核酸フラグメントのいずれかに示されるアミノ酸配列を含む。ハイブリダイゼーションプローブは、本明細書中に提供されるＩＬ－１ｒａ－R配列を用いてｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡライブラリーまたは合成ＤＮＡライブラリーを関連した配列についてスクリーニングして調製され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの ＤＮＡ配列および／またはアミノ酸配列のうちの、既知配列に対して顕著な同一性を示す領域は、本明細書中に記載されるとおりの配列アラインメントアル

ゴリズムを用いて容易に決定され、そしてこれらの領域を用いて、スクリーニングのためのプローブを設計し得る。

【００５７】

用語「高度にストリンジェントな条件」とは、配列が非常に相補的であるＤＮＡ鎖のハイブリダイゼーションを許容し、かつ顕著に不一致のＤＮＡのハイブリダイゼーションを排除するように設計された条件をいう。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、温度、イオン強度および変性剤（例えば、ホルムアミド）の濃度によって主に決定される。ハイブリダイゼーションおよび洗浄についての「高度にストリンジェントな条件」の例は、６５～６８℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムまたは４２℃での０．０１５M塩化ナトリウム、０．００１５Mクエン酸ナトリウムおよび５０％ホルムアミドである。Ｓａｍｂｒｏｏｋ，Ｆｒｉｔｓｃｈおよびｍａｎｉａｔｉｓ，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（第2版，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，１９８９）；Ａｎｄｅｒｓｏｎら，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｓａｔｉｏｎ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ第4章（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ Ｌｉｍｉｔｅｄ）を参照のこと。

【００５８】

よりストリンジェントな条件（例えば、より高い温度、より低いイオン強度、より高いホルムアミドまたは他の変性剤）もまた用いられ得るが、ハイブリダイゼーションの速度が影響される。他の薬剤は、非特異的および／またはバックグラウンドのハイブリダイゼーションを減少させる目的のために、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の緩衝液中に含まれ得る。例は、０．１％ウシ血清アルブミン、０．１％ポリビニルピロリドン、０．１％ピロリン酸ナトリウム、０．１％ドデシル硫酸ナトリウム、ＮａＤｏｄＳＯ$_4$、（ＳＤＳ）、ｆｉｃｏｌｌ、デンハルト溶液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（または別の非相補的ＤＮＡ）および硫酸デキストランであるが、他の適切な薬剤もまた用いられ得る。これらの添加剤の濃度および種類は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を与えることなく変更され得る。ハイブリダイゼーション実験は通常、

ｐＨ６．８～７．４で実施される；しかし、代表的なイオン強度の条件では、ハイブリダイゼーションの速度は、ｐＨからほぼ独立する。Ａｎｄｅｒｓｏｎら，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｈｙｂｒｉｄｉｓａｔｉｏｎ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ第４章（ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ Ｌｉｍｉｔｅｄ）を参照のこと。

【００５９】

ＤＮＡ二重鎖の安定性に影響を与える因子としては、塩基組成、長さおよび塩基対の不一致程度が挙げられる。ハイブリダイゼーション条件は、これらの変動要因を適応させ、そして異なる配列関連性のＤＮＡがハイブリッドを形成するのを可能にするために当業者によって調整され得る。完全に一致したＤＮＡ二重鎖の融解温度は、以下の方程式によって評価され得る：

T_m（℃）＝８１．５＋１６．６（ｌｏｇ［Ｎａ＋］）＋０．４１（Ｇ＋Ｃ％＿）－６００／Ｎ－０．７２（％ホルムアミド）

ここで、Ｎは、形成される二重鎖の長さであり、［Ｎａ＋］は、ハイブリダイゼーション溶液または洗浄溶液中でのナトリウムイオンのモル濃度であり、Ｇ＋Ｃ％は、ハイブリッド中での（グアニン＋シトシン）塩基の百分率である。不完全に一致したハイブリッドについては、融解温度は、１％の不一致毎に約１℃下げられる。

【００６０】

用語「中程度にストリンジェントな条件」とは、「高度にストリンジェントな条件」下で生じ得るよりも高い程度の塩基対不一致を有するＤＮＡ二重鎖が形成され得る条件をいう。代表的な「中程度にストリンジェントな条件」の例は、５０～６５℃での０．０１５Ｍ塩化ナトリウム、０．００１５Ｍクエン酸ナトリウムまたは３７～５０℃での０．０１５Ｍ塩化ナトリウム、０．００１５Ｍクエン酸ナトリウムおよび２０％ホルムアミドである。例示として、０．０１５Ｍナトリウムイオン中での５０℃という「中程度にストリンジェントな条件」は、約２１％の不一致を可能にする。

【００６１】

「高度にストリンジェントな条件」と「中程度にストリンジェントな条件」と

の間に絶対的な区別が存在しないことが当業者によって認識される。例えば、０．０１５Mナトリウムイオン（ホルムアミドなし）では、完全に一致した長さのＤＮＡの融解温度は、約７１℃である。６５℃で（同じイオン強度で）の洗浄を用いると、約６％の不一致が可能になる。より関連性の遠い配列を捕獲するために、当業者は、単純に、温度を低くし得るかまたはイオン強度を高くし得る。

【００６２】

約２０ｎｔまでのオリゴヌクレオチドプローブについての１Ｍ　ＮａＣｌ*中での融解温度の良好な評価は、以下によって与えられる：

Ｔｍ＝Ａ－Ｔ塩基対あたり２℃　＋　Ｇ－Ｃ塩基対あたり４℃

*６×塩クエン酸ナトリウム（ＳＳＣ）中でのナトリウムイオン濃度は、１Mである。Ｓｕｇｇｓら，Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔａｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　Ｕｓｉｎｇ　Ｐｕｒｉｆｉｅｄ　Ｇｅｎｅｓ　６８３（ＢｒｏｗｎおよびＦｏｘ編，１９８１）を参照のこと。

【００６３】

オリゴヌクレオチドについての高度ストリンジェンシー洗浄条件は通常、６×ＳＳＣ、０．１％　ＳＤＳ中でのそのオリゴヌクレオチドのＴｍよりも０℃～５℃低い温度においてである。

【００６４】

別の実施形態では、関連した核酸分子は、配列番号１、配列番号３、配列番号５もしくは配列番号３５のいずれかに示されるとおりのヌクレオチド配列に対して少なくとも約７０パーセント同一であるヌクレオチド配列を含むかもしくはこれからなるか、または配列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６のいずれかに示すとおりのポリペプチドに対して少なくとも約７０パーセント同一であるポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくは本質的にこれからなる。好ましい実施形態では、ヌクレオチド配列は、配列番号１、配列番号３、配列番号５、もしくは配列番号３５のいずれかに示されるとおりのヌクレオチド配列に対して約７５パーセント、もしくは約８０パーセント、もしくは約８５パーセント、もしくは約９０パーセント、もしくは約９５、９６、９７、９８、もしくは９９パーセント同一であるか、またはヌクレオチド配列は、配

列番号２、配列番号４、配列番号６もしくは配列番号３６のいずれかに示されるとおりのポリペプチド配列に対して約７５パーセント、もしくは約８０パーセント、もしくは約８５パーセント、もしくは約９０パーセント、もしくは約９５、９６、９７、９８、もしくは９９パーセント同一であるポリペプチドをコードする。関連した核酸分子は、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかに示されるポリペプチドの少なくとも１つの活性を保有するポリペプチドをコードする。

【００６５】

核酸配列における相違は、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列と比較して、アミノ酸配列の保存的改変および／または非保存的改変をもたらし得る。

【００６６】

配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列に対する保存的改変（およびコードするヌクレオチドに対する、対応する改変）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能的特徴および化学的特徴と類似の機能的特徴および化学的特徴を有するポリペプチドを生じる。対照的に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能的特徴および／または化学的特徴における実質的な改変は、以下を維持することに対するその影響が顕著に異なる、配列番号２、配列番号４、配列番号６または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列における置換を選択することによって達成され得る：（ａ）例えば、シートコンホメーションもしくはヘリックスコンホメーションのような、置換領域における分子骨格の構造、（ｂ）標的部位での分子の電荷もしくは疎水性、または（ｃ）側鎖のかさ。

【００６７】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は、その位置でのアミノ酸残基の極性にも電荷にもほとんど影響がないかまたは全く影響がないような、非ネイティブ残基によるネイティブなアミノ酸残基の置換を含み得る。さらに、ポリペプチド中の任意のネイティブな残基はまた、「アラニンスキャニング変異誘発」について以前に記載されたように、アラニンによって置換され得る。

【００６８】

保存的アミノ酸置換はまた、生物学的系における合成によるよりむしろ、化学的なペプチド合成によって代表的に組み込まれる、天然には存在しないアミノ酸残基を含む。これらとしては、ペプチド模倣物、およびアミノ酸部分の他の逆転形態または反転形態が挙げられる。

【００６９】

天然に存在する残基は、共通の側鎖特性に基づいて、複数のクラスに分割され得る：

１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；

２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ；

３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；

４）塩基性：Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；

５）鎖の配向に影響を与える残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；および

６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ。

【００７０】

例えば、非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーの、別のクラス由来のメンバーに対する交換を包含し得る。このような置換された残基は、非ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相同なヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの領域またはこの分子の非相同領域に導入され得る。

【００７１】

このような変化を行う際に、アミノ酸のヒドロパシー指数が考慮され得る。各アミノ酸は、その疎水性特性および電荷特性に基づいて、ヒドロパシー指数を割り当てられている。ヒドロパシー指数は、以下である：イソロイシン（＋４．５）；バリン（＋４．２）；ロイシン（＋３．８）；フェニルアラニン（＋２．８）；システイン／シスチン（＋２．５）；メチオニン（＋１．９）；アラニン（＋１．８）；グリシン（－０．４）；スレオニン（－０．７）；セリン（－０．８）；トリプトファン（－０．９）；チロシン（－１．３）；プロリン（－１．６）；ヒスチジン（－３．２）；グルタミン酸（－３．５）；グルタミン（－３．５）；アスパラギン酸（－３．５）；アスパラギン（－３．５）；リジン（－

３．９）；およびアルギニン（－４．５）。

【００７２】

タンパク質に対する相互作用的な生物学的機能を確認する際の、ヒドロパシーアミノ酸指数の重要性は、当該分野において一般的に理解されている（Ｋｙｔｅら、１９８２，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－３１）。特定のアミノ酸が、類似のヒドロパシー指数またはスコアを有する他のアミノ酸に代えて置換され得、そして依然として類似の生物学的活性を維持し得ることが、公知である。ヒドロパシー指数に基づいて変化を起こす際に、ヒドロパシー指数が±２以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±１以内であるものが特に好ましく、そして±０．５以内であるものが、なおより特に好ましい。

【００７３】

類似のアミノ酸の置換が親水性に基づいて効果的になされ得る（特に、これによって作製された生物学的機能的に等価なタンパク質またはペプチドが、この場合においてと同様に、免疫学的実施形態における使用に関して考慮される場合）こともまた、当該分野において理解されている。タンパク質の最も大きな局所的平均親水性は、その隣接するアミノ酸の親水性によって支配される場合に、その免疫原性および抗原性、すなわち、そのタンパク質の生物学的特性に相関する。

【００７４】

以下の親水性の値が、これらのアミノ酸残基に割り当てられた：アルギニン（＋３．０）；リジン（＋３．０）；アスパラギン酸（＋３．０±１）；グルタミン酸（＋３．０±１）；セリン（＋０．３）；アスパラギン（＋０．２）；グルタミン（＋０．２）；グリシン（０）；スレオニン（－０．４）；プロリン（－０．５±１）；アラニン（－０．５）；ヒスチジン（－０．５）；システイン（－１．０）；メチオニン（－１．３）；バリン（－１．５）；ロイシン（－１．８）；イソロイシン（－１．８）；チロシン（－２．３）；フェニルアラニン（－２．５）；およびトリプトファン（－３．４）。類似の親水性の値に基づいて変化を行う際に、親水性値が±２以内であるアミノ酸の置換が好ましく、±１以内であるものが特に好ましく、そして±０．５以内であるものが、なおより特に好ましい。一次アミノ酸配列から、エピトープをまた、親水性に基づいて同定し

得る。これらの領域はまた、「エピトープコア領域」と呼ばれる。

【００７５】

所望のアミノ酸置換（保存的であれ非保存的であれ）は、当業者によって、このような置換が所望される時点で決定され得る。例えば、アミノ酸置換を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの重要な残基を同定し得るか、または本明細書中に記載されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの親和性を増加もしくは減少させ得る。例示的なアミノ酸置換は、表Ｉに記載される。

【００７６】

【表１】

表 I

アミノ酸置換

もとの残基	例示的な置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 ジアミノ酪酸、Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

当業者は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの適切な改変体を、周知の技術を使用して、決定し得る。生物学的活性を破壊することなく変化され得る分子の適切な領域を同定するために、当業者は、活性のために重要であるとは考えられない領域を標的化し得

る。例えば、同じ種由来かまたは他の種由来の、類似の活性を有する類似のポリペプチドが既知である場合には、当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列を、このような類似のポリペプチドと比較し得る。このような比較を用いて、類似のポリペプチド間で保存される分子の残基および部分を同定し得る。このような類似のポリペプチドに対して保存されていない、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の領域における変化が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性および／または構造にさほど不利に影響を与えるようではないことが、理解される。当業者にはまた、比較的保存された領域においてさえ、化学的に類似のアミノ酸を、活性を維持しながら天然に存在する残基に代わって置換し得ることが公知である（保存的アミノ酸残基置換）。従って、生物学的活性または構造のために重要であり得る領域でさえ、生物学的活性を破壊することなく、またはポリペプチド構造に不利に影響を与えることなく、保存的アミノ酸置換に供され得る。

【００７７】

さらに、当業者は、活性または構造のために重要である、類似のポリペプチドにおける残基を同定する、構造－機能研究を再調査し得る。このような比較の観点において、類似のポリペプチドにおける活性または構造のために重要なアミノ酸残基に対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドにおける、アミノ酸残基の重要性を予測し得る。当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのこのような予測された重要なアミノ酸残基に代わる化学的に類似のアミノ酸置換を、選択し得る。

【００７８】

当業者はまた、類似のポリペプチドにおける三次元構造およびその構造に関連するアミノ酸配列を分析し得る。このような情報の観点において、当業者は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸残基のアライメントを、その三次元構造に関して予測し得る。当業者は、そのタンパク質の表面上に存在すると予測されるアミノ酸残基に対する急激な変化を起こさないように、選択し得る。なぜなら、このような残基は、他の分子との重要な相互作用に関与し得るからである。さらに、当業者は、単一のアミノ酸置換を各アミノ酸残基に含む、試験改変体を生成し得る。これらの改変体は、当業者に公知の活性アッセイを使用して、スクリーニングされ得る。このような改変体は、適切な改変体に関する情報を集めるた

めに使用され得る。例えば、特定のアミノ酸残基に対する変化が、破壊された活性、望ましくなく減少した活性、または適切でない活性を生じたことを発見した場合には、このような変化を有する改変体は、回避される。換言すれば、このような慣用的な実験から集めた情報に基づいて、当業者は、さらなる置換が、単独でかまたは他の変異と組み合わせてかのいずれかで回避されるべきであるアミノ酸を、容易に決定し得る。

【００７９】

多数の科学刊行物が、二次構造の推定に充てられてきた。Ｍｏｕｌｔ，１９９６，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７：４２２－２７；Ｃｈｏｕら、１９７４，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １３：２２２－４５；Ｃｈｏｕら、１９７４，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ １１３：２１１－２２；Ｃｈｏｕら、１９７８，Ａｄｖ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．Ｒｅｌａｔ．Ａｒｅａｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４７：４５－４８；Ｃｈｏｕら、１９７８，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．４７：２５１－２７６；およびＣｈｏｕら、１９７９，Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｊ．２６：３６７－８４を参照のこと。さらに、コンピュータプログラムが、二次構造の推定を補助するために、現在利用可能である。二次構造を推定する１つの方法は、相同性モデリングに基づく。例えば、３０％より大きな配列同一性または４０％より大きな類似性を有する、２つのポリペプチドまたはタンパク質は、しばしば、類似の構造トポロジーを有する。タンパク質構造データベース（ＰＤＢ）の近年の成長は、二次構造（ポリペプチドまたはタンパク質の構造における可能な折り畳みの数を含む）の増強された予測性を提供してきた。Ｈｏｌｍら、１９９９，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２７：２４４－４７を参照のこと。所定のポリペプチドまたはタンパク質において制限された数の折り畳みが存在すること、および一旦、臨界数の構造が解明されると、構造推定は劇的により正確となることが、示唆されてきた（Ｂｒｅｎｎｅｒら、１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．７：３６９－７６）。

【００８０】

二次構造を推定するさらなる方法としては、「スレッディング（ｔｈｒｅａｄｉｎｇ）」（Ｊｏｎｅｓ，１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉ

ｏｌ．７：３７７－８７；Ｓｉｐｐｌら、１９９６，Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ　４：１５－１９）、「プロフィール分析」（Ｂｏｗｉｅら、１９９１，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５３：１６４－７０；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、１９９０，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８３：１４６－５９；Ｇｒｉｂｓｋｏｖら、１９８７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８４：４３５５－５８）、および「進化学的連鎖」（Ｈｏｌｍら、前出、およびＢｒｅｎｎｅｒら、前出を参照のこと）が挙げられる。

【００８１】

好ましいＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体としては、グリコシル化部位の数および／または型が、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列と比較して変化している、グリコシル化改変体が挙げられる。１つの実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列より多いかまたはより少ない数のＮ結合型グリコシル化部位を含む。Ｎ結合型グリコシル化部位は、配列Ａｓｎ－Ｘ－ＳｅｒまたはＡｓｎ－Ｘ－Ｔｈｒによって特徴付けられ、ここで、Ｘと印されるアミノ酸残基は、プロリン以外の任意のアミノ酸残基であり得る。この配列を作製するためのアミノ酸残基の置換は、Ｎ結合型糖鎖の付加のための潜在的な新たな部位を提供する。あるいは、この配列を排除する置換は、存在するＮ結合型糖鎖を除去する。１つ以上のＮ連結グリコシル化部位（代表的に、天然に存在するグリコシル化部位）が排除され、そして１つ以上の新たなＮ結合部位が作製される、Ｎ結合型糖鎖の再配列もまた、提供される。さらなる好ましいＩＬ－１ｒａ－Ｒ改変体としては、１つ以上のシステイン残基が、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列と比較して欠失しているか、または別のアミノ酸（例えば、セリン）で置換されている、システイン改変体が挙げられる。システイン改変体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、例えば不溶性の封入体の単離の後に、生物学的に活性な立体構造へとリフォールディングされなければならない場合に、有用である。システイン改変体は、一般に、ネイティブタンパク質より少ないシステイン残基を有し、そして代表的には同数のシステ

イン残基を有し、対合していないシステインから生じる相互作用を最小にする。

【００８２】

別の実施形態において、関連する核酸分子は、少なくとも１つのアミノ酸挿入を有しかつポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくはこの配列からなるか、あるいは少なくとも１つのアミノ酸欠失を有しかつポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むかもしくはこの配列からなる。関連する核酸分子はまた、ポリペプチドがカルボキシル末端および／またはアミノ末端の短縮を有しかつさらにこのポリペプチドが、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を、含むかまたはこの配列からなる。関連する核酸分子はまた、アミノ酸置換、アミノ酸挿入、アミノ酸欠失、カルボキシル末端短縮、およびアミノ末端短縮からなる群より選択される少なくとも１つの改変を含み、そしてここで、ポリペプチドが配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドの活性を有する、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を、含むかまたはこの配列からなる。

【００８３】

さらに、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドあるいは他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、同種ポリペプチドに融合してホモダイマーを形成し得るか、あるいは異種ポリペプチドに融合してヘテロダイマーを形成し得る。異種のペプチドおよびポリペプチドとしては、以下が挙げられるが、それらに限定されない：ＩＬ－１ｒ

ａ－Ｒ融合ポリペプチドの検出および／または単離を可能にするエピトープ；膜貫通レセプタータンパク質またはその部分（例えば、細胞外ドメインまたは膜貫通ドメインおよび細胞内ドメイン）；膜貫通レセプタータンパク質に結合する、リガンドまたはその部分；触媒的に活性である、酵素またはその部分；オリゴマー化を促進するポリペプチドまたはペプチド（例えば、ロイシンジッパードメイン）；安定性を増加させるポリペプチドまたはペプチド（例えば、免疫グロブリン定常領域）；ならびに配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列を含むポリペプチドあるいは別のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとは異なる治療活性を有する、ポリペプチド。

【００８４】

融合は、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかに記載のアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは他のＩＬ１ｒａ－Ｒポリペプチドの、アミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、なされ得る。融合は、リンカーもアダプター分子も用いずに直接であっても、リンカーもしくはアダプター分子を介してであってもよい。リンカーまたはアダプター分子は、１つ以上のアミノ酸残基であり得、代表的に、約２０～約５０アミノ酸残基である。ＤＮＡ制限エンドヌクレアーゼまたはプロテアーゼに対する切断部位を有するリンカーまたはアダプター分子がまた、設計されて、融合した部分の分離を可能にし得る。一旦構築されると、誘合ポリペプチドは、本明細書中に記載の方法に従って誘導体化され得ることが、理解される。

【００８５】

本発明のさらなる実施形態において、配列番号２、配列番号４、配列番号６、または配列番号３６のいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチド、あるいは他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ヒトＩｇＧのＦｃ領域の１つ以上のドメインに融合する。抗体は、以下の２つの機能的に独立した部分を含む；抗原を結合する「Ｆａｂ」として公知の可変ドメイン、ならびに相補的活性化および食作用細胞による攻撃のようなエフェクター機能に関与する、「Ｆｃ」として公知の定常ドメイン。Ｆｃは、長い血清半減期を有し、一方でＦａｂは、短寿命である。Ｃａｐｏｎら、１９８９，Ｎａｔｕｒｅ　３３７：５２５－３１。治療タンパク

質と一緒に構築される場合には、Ｆｃドメインは、より長い半減期を提供し得るか、またはＦｃレセプター結合、プロテインＡ結合、補体結合、および恐らく、胎盤移入のような機能を組み込み得る。同書。表ＩＩは、当該分野において公知の特定のＦｃ融合物の使用を要約する。

【００８６】

【表２】

表II

治療タンパク質とのFc融合物

Fcの形態	融合パートナー	治療の影響	参考文献
IgG1	CD30-Lの N末端	ホジキン病；未分化リンパ腫；T細胞白血病	U.S. Patent No. 5,480,981
マウス Fcγ2a	IL-10	抗炎症；移植片拒絶	Zheng *et al.*, 1995, *J. Immunol.* 154:5590-600
IgG1	TNFレセプター	敗血症性ショック	Fisher *et al.*, 1996, *N. Engl. J. Med.* 334:1697-1702; Van Zee *et al.*, 1996, *J. Immunol.* 156:2221-30
IgG, IgA, IgM, またはIgE (最初のドメインも除く)	TNFレセプター	炎症、自己免疫障害	U.S. Patent No. 5,808,029
IgG1	CD4レセプター	AIDS	Capon *et al.*, 1989, *Nature* 337: 525-31
IgG1, IgG3	IL-2の N末端	抗癌、抗ウイルス	Harvill *et al.*, 1995, *Immunotech.* 1:95-105
IgG1	OPGの C末端	変形性関節症；骨密度	WO 97/23614
IgG1	レプチンの N末端	抗肥満	PCT/US 97/23183, filed December 11, 1997
ヒト IgCγ1	CTLA-4	自己免疫障害	Linsley, 1991, *J. Exp. Med.*, 174:561-69

一例において、ヒトＩｇＧのヒンジ領域、ＣＨ２領域、およびＣＨ３領域は、当業者に公知の方法を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、融合し得る。別の例において、ヒトＩｇＧのヒンジ領域、ＣＨ２領域、およびＣＨ３領域は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドフラグメント（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定細胞外部分）のアミノ末端またはカルボキシル末端のいずれかにおいて、融合し得る。

【００８７】

得られるＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合ポリペプチドは、プロテインＡアフィニティー

カラムの使用によって、精製され得る。Ｆｃ領域に融合したペプチドおよびタンパク質は、融合していない対応物より実質的に長いインビボでの半減期を示すことが見出された。また、Ｆｃ領域への融合は、融合ポリペプチドの二量化／多量体化を可能にする。Ｆｃ領域は、天然に存在するＦｃ領域であり得るか、または治療品質、循環時間、もしくは減少した凝集のような特定の品質を改善するよう変更され得る。

【００８８】

関連する核酸分子およびポリペプチドの同一性および類似性は、公知の方法によって容易に計算され得る。このような方法としては、Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（A. M. Ｌｅｓｋ編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ １９８８）；Ｂｉｏｃｏｍｐｕｔｉｎｇ：Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ａｎｄ Ｇｅｎｏｍｅ Ｐｒｏｊｅｃｔｓ（D. W. Ｓｍｉｔｈ編、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９９３）；Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ｄａｔａ（Ｐａｒｔ １，A. M. ＧｒｉｆｆｉｎおよびH. G. Ｇｒｉｆｆｉｎ編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ １９９４）；G. ｖｏｎ Ｈｅｉｎｌｅ，Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８７）；Ｓｅｑｕｅｎｃｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ Ｐｒｉｍｅｒ（M. ＧｒｉｂｓｋｏｖおよびＪ. Ｄｅｖｅｒｅｕｘ編、M. Ｓｔｏｃｋｔｏｎ Ｐｒｅｓｓ １９９１）；ならびにＣａｒｉｌｌｏら、１９８８，ＳＩＡＭ Ｊ. Ａｐｐｌｉｅｄ Ｍａｔｈ.，４８：１０７３に記載されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【００８９】

同一性および／または類似性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間での最大の適合を与えるために、設計される。同一性および類似性を決定するための方法は、公共に利用可能なコンピュータプログラムにおいて記載されている。２つの配列間の同一性および類似性を決定するための、好ましいコンピュータプログラム方法としては、ＧＣＧプログラムパッケージ（ＧＡＰ（Ｄｅｖｅｒｅｕｘら、１９８４，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ. １２：３８７；

Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）、ＢＬＡＳＴＰ、ＢＬＡＳＴＮ、およびＦＡＳＴＡ（Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９０, Ｊ. Ｍｏｌ. Ｂｉｏｌ. ２１５：４０３－１０）を含む）が挙げられるが、これらに限定されない。ＢＬＡＳＴＸプログラムは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ＮＣＢＩ）および他の供給源（Ａｌｔｓｃｈｕｌら、ＢＬＡＳＴ Ｍａｎｕａｌ（ＮＣＢ ＮＬＭ ＮＩＨ, Ｂｅｔｈｅｓｄａ, ＭＤ）；Ａｌｔｓｃｈｕｌら、１９９０、前出）から公共に利用可能である。周知のＳｍｉｔｈ Ｗａｔｅｒｍａｎアルゴリズムもまた、同一性を決定するために使用され得る。

【００９０】

２つのアミノ酸配列を整列させるための特定のアライメントスキームは、これら２つの配列の短い領域のみの適合を生じ得、そしてこの小さな整列領域は、２つの全長配列間に有意な関連がない場合でさえも、非常に高い配列同一性を有し得る。従って、好ましい実施形態において、選択された整列方法（ＧＡＰプログラム）は、特許請求されるポリペプチドの少なくとも５０の連続するアミノ酸にわたる整列を生じる。

【００９１】

例えば、コンピュータアルゴリズムＧＡＰ（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）を使用して、配列同一性の百分率が決定されるべき２つのポリペプチドが、それらのそれぞれのアミノ酸の最適な適合（アルゴリズムによって決定される「適合したスパン」）のために、整列される。ギャップオープニングペナルティー（ｇａｐ ｏｐｅｎｉｎｇ ｐｅｎａｌｔｙ）（これは、平均対角の３倍として計算される：「平均対角」とは、使用される比較行列（ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｍａｔｒｉｘ）の対角の平均である；「対角」とは、特定の比較行列によって各完全なアミノ酸適合に対して割り当てられたスコアまたは数である）およびギャップエクステンションペナルティー（ｇａｐ ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ ｐｅｎａｌｔｙ）（これは通常、キャップオープニングペナルティーの０．１

倍である）、ならびにＰＡＭ　２５０またはＢＬＯＳＵＭ　６２のような比較行列が、このアルゴリズムと組み合わせて使用される。標準的な比較行列もまた、このアルゴリズムによって使用される（Ｄａｙｈｏｆｆら、５　Ａｔｌａｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ（補遺３　１９７８）（PAM２５０比較行列）；Ｈｅｎｉｋｏｆｆら、１９９２，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８９：１０９１５－１９（ＢＬＯＳＵＭ　６２比較行列）を参照のこと）。

【００９２】

ポリペプチド配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

Ａｌｇｏｒｉｔｈｍ：Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，１９７０，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３－５３；

Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ　ｍａｔｒｉｘ：ＢＬＯＳＵＭ　６２（Ｈｅｎｉｋｏｆｆら、前出）；

Ｇａｐ　Ｐｅｎａｌｔｙ：１２

Ｇａｐ　Ｌｅｎｇｔｈ　Ｐｅｎａｌｔｙ：４

Ｔｈｒｅｓｈｏｌｄ　ｏｆ　Ｓｉｍｉｌａｒｉｔｙ：０

このＧＡＰプログラムは、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、ＧＡＰアルゴリズムを用いるポリペプチド比較（末端ギャップに対してはペナルティーがないこととともに）のためのデフォルトパラメータである。

【００９３】

核酸分子配列比較のための好ましいパラメータは、以下を含む：

Ａｌｇｏｒｉｔｈｍ：Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｗｕｎｓｃｈ，前出；

Ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ　ｍａｔｒｉｘ：ｍａｔｃｈｅｓ＝＋１０，ｍｉｓｍａｔｃｈ＝０

Ｇａｐ　Ｐｅｎａｌｔｙ：５０

Ｇａｐ　Ｌｅｎｇｔｈ　Ｐｅｎａｌｔｙ：３

このＧＡＰプログラムはまた、上記パラメータを用いて有用である。上記パラメータは、核酸分子比較のためのデフォルトパラメータである。

【００９４】

Ｐｒｏｇｒａｍ Ｍａｎｕａｌ，Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ，Ｖｅｒｓｉｏｎ ９，Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ，１９９７に記載されるものを含む、他の例示的なａｌｇｏｒｉｔｈｍ、ｇａｐ ｏｐｅｎｉｎｇ ｐｅｎａｌｔｙ、ｇａｐ ｅｘｔｅｎｓｉｏｎ ｐｅｎａｌｔｙ、ｃｏｍｐａｒｉｓｏｎ ｍａｔｒｉｘ、およびｔｈｒｅｓｈｏｌｄ ｏｆ ｓｉｍｉｌａｒｉｔｙが使用され得る。なされるべき特定の選択は、当業者に明らかであり、そしてなされるべき特定の比較（例えば、ＤＮＡ対ＤＮＡ、タンパク質対タンパク質、タンパク質対ＤＮＡ）；ならびにさらに、その比較が所定の対の配列間（この場合には、ＧＡＰまたはＢｅｓｔＦｉｔが一般的に好ましい）であるか、１つの配列と大きなデータベースの配列との間（この場合には、ＦＡＳＴＡまたはＢＬＡＳＴＡが好ましい）であるかに依存する。

【００９５】

（核酸分子）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする核酸分子は、種々の様式（化学合成、ｃＤＮＡもしくはゲノムのライブラリーのスクリーニング、発現ライブラリースクリーニング、および／またはｃＤＮＡのＰＣＲ増幅が挙げられるが、これらに限定されない）で容易に得られ得る。

【００９６】

本明細書中において使用される組換えＤＮＡ法は、一般に、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，１９８９）および／またはＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ．およびＷｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ １９９４）に記載されている。本発明は、本明細書中に記載され得るような核酸分子、およびこのような分子を得るための方法を提供する。

【００９７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子が１つの種から同定された場合には、この遺伝子の全てまたは一部を、同じ種由来のオーソ

ログまたは関連する遺伝子を同定するためのプローブとして使用し得る。このプローブまたはプライマーを使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現すると考えられる種々の組織供給源由来のｃＤＮＡをスクリーニングし得る。さらに、配列番号１、配列番号３、配列番号５、または配列番号３５のいずれかに記載されるような配列を有する核酸分子の部分または全てを使用して、ゲノムライブラリーをスクリーニングし、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする遺伝子を同定および単離し得る。代表的に、中程度または高いストリンジェンシーの条件が、スクリーニングのために使用されて、このスクリーニングから得られる誤った陽性の数を最小にする。

【００９８】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子もまた、発現されたタンパク質の特性に基づいて陽性クローンの検出を使用する発現クローニングによって、同定され得る。代表的に、核酸ライブラリーは、抗体または他の結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）を、宿主細胞表面において発現および提示されたクローンタンパク質に結合させることによって、スクリーニングされる。抗体または結合パートナーは、所望のクローンを発現する細胞を同定するために、検出可能な標識で改変される。

【００９９】

以下に記載される説明に従って実施される組換え発現技術に従って、これらのポリヌクレオチドを産生し得、そしてコードされたポリペプチドを発現し得る。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸配列を適切なベクターに挿入することによって、当業者は、多量の所望のヌクレオチド配列を容易に生成し得る。次いで、これらの配列を使用して、検出プローブまたは増幅プライマーを生成し得る。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを、発現ベクターに挿入し得る。発現ベクターを適切な宿主に導入することによって、コードされたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、多量に産生され得る。

【０１００】

適切な核酸配列を得るための別の方法は、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）で

ある。この方法において、ｃＤＮＡは、酵素逆転写酵素を使用して、ｐｏｌｙ（Ａ）＋ＲＮＡまたは全ＲＮＡから調製される。次いで、２つのプライマー（代表的には、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするｃＤＮＡの２つの別個の領域に対して相補的である）が、ＴａｑポリメラーゼのようなポリメラーゼとともにこのｃＤＮＡに付加され、そしてこのポリメラーゼが、このｃＤＮＡのこれら２つのプライマー間の領域を増幅する。

【０１０１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を調製する別の手段は、Ｅｎｇｅｌｓら、１９８９，Ａｎｇｅｗ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｔｌ．Ｅｄ．２８：７１６－３４によって記載されるもののような、当業者に周知の方法を使用する、化学合成である。これらの方法としては、とりわけ、核酸合成のためのリン酸トリエステル、ホスホルアミダイト、およびＨ－ホスホネート方法が挙げられる。このような化学合成のために好ましい方法は、標準的なホスホルアミダイト化学を使用する、ポリマーにより支持される合成である。代表的に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードするＤＮＡは、数百ヌクレオチド長である。約１００ヌクレオチドより長い核酸は、これらの方法を使用して、いくつかのフラグメントとして合成され得る。次いで、これらのフラグメントが一緒に連結されて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の全長ヌクレオチド配列を形成し得る。通常、このポリペプチドのアミノ末端をコードするＤＮＡフラグメントは、ＡＴＧを有し、これは、メチオニン残基をコードする。このメチオニンは、宿主細胞において産生されたポリペプチドがその細胞から分泌されるよう設計されるか否かに依存して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの成熟形態で存在してもそうでなくてもよい。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【０１０２】

特定の実施形態において、核酸改変体は、所定の宿主細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの最適な発現のために変更されたコドンを含む。特定のコドン変更は、発現のために選択される宿主細胞およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに依存する。このような「コドン最適化」は、種々の方法によって（例えば、所定の宿主細胞において高度に発現される遺伝子における使用に好ましいコドン

を選択することによって）実施され得る。高度に発現された細菌遺伝子のコドン優先性のための「Ｅｃｏ＿ｈｉｇｈ．Ｃｏｄ」のようなコドン度数表を組み込むコンピュータアルゴリズムが使用され得、そしてＵｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ ９．０（Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ, Ｍａｄｉｓｏｎ, ＷＩ）によって提供される。他の有用なコドン度数表としては、「Ｃｅｌｅｇａｎｓ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｃｅｌｅｇａｎｓ＿ｌｏｗ．ｃｏｄ」、「Ｄｒｏｓｏｐｈｉｌａ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｈｕｍａｎ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、「Ｍａｉｚｅ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ」、および「Ｙｅａｓｔ＿ｈｉｇｈ．ｃｏｄ．」が挙げられる。

【０１０３】

いくつかの場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体をコードする核酸分子を調製することが所望であり得る。改変体をコードする核酸分子は、プライマーが所望の点変異を有する部位特異的変異誘発、ＰＣＲ増幅、または他の適切な方法を使用して生成し得る（変異誘発技術の記載に関しては、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、前出、およびＡｕｓｕｂｅｌら、前出を参照のこと）。Ｅｎｇｅｌｓら、前出によって記載される方法を使用する化学合成もまた、このような改変体を調製するために使用され得る。当業者に公知の他の方法が、同様に使用され得る。

【０１０４】

（ベクターおよび宿主細胞）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子を、標準的な連結技術を使用して適切な発現ベクターに挿入する。ベクターは、代表的に、使用される特定の宿主細胞において機能的であるように選択される（すなわち、ベクターは、遺伝子の増幅および／または遺伝子の発現が生じるように、宿主細胞機構と適合性である）。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアミノ酸配列をコードする核酸分子は、原核生物宿主細胞、酵母宿主細胞、昆虫（バキュロウイルス系）宿主細胞および／または真核生物宿主細胞において増幅／発現され得る。宿主細胞の選択は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが翻訳後修飾（例えば、グリコシル化および／またはホスホリル化）されるか否かに一部依存する。そうであ

る場合、酵母宿主細胞、昆虫宿主細胞、または哺乳動物宿主細胞が好ましい。発現ベクターの総説について、Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．，ｖｏｌ．１８５（Ｄ．Ｖ．Ｇｏｅｄｄｅｌ，ｅｄ．，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ　１９９０）を参照のこと。

【０１０５】

代表的に、任意の宿主細胞に使用される発現ベクターは、プラスミド維持のためならびに外来性ヌクレオチド配列のクローニングおよび発現のための配列を含む。このような配列（集合的に、「隣接配列」と呼ばれる）は、特定の実施形態において、代表的に、以下のヌクレオチド配列の１つ以上を含む：プロモーター、１つ以上のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタースプライス部位を含む完全なイントロン配列、ポリペプチド分泌のためのリーダー配列をコードする配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択マーカーエレメント。これらの配列のそれぞれが、以下に議論される。

【０１０６】

必要に応じて、ベクターは、「タグ」コード配列（すなわち、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード配列の５’末端または３’末端に配置されるオリゴヌクレオチド分子）を含み得；オリゴヌクレオチド配列は、ｐｏｌｙＨｉｓ（例えば、ｈｅｘａＨｉｓ）、または別の「タグ」（例えば、ＦＬＡＧ、ＨＡ（赤血球凝集素インフルエンザウイルス）またはｍｙｃ（これらには、市販の抗体が存在する））をコードする。このタグは、代表的には、ポリペプチドの発現の際にポリペプチドに融合され、宿主細胞からの、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのアフィニティー精製のための手段として役立ち得る。アフィニティー精製は、例えば、アフィニティーマトリクスとしてタグに対する抗体を使用するカラムクロマトグラフィーによって達成され得る。必要に応じて、タグは、続いて、切断のために特定のペプチダーゼを使用するような種々の手段によって、精製されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドから除去され得る。

【０１０７】

隣接配列は、同種（すなわち、宿主細胞と同じ種および／または系統由来）であり得るか、異種（すなわち、宿主細胞種または宿主細胞系統以外の種由来）であり得るか、ハイブリッド（すなわち、１つより多くの供給源由来の隣接配列の組み合わせ）であり得るか、または合成であり得るか、あるいは隣接配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を調節するために正常に機能するネイティブな配列であり得る。このように、隣接配列の供給源は、任意の原核生物または真核生物、任意の脊椎生物または無脊椎生物、あるいは任意の植物であり得、但し、隣接配列は、宿主細胞の機構において機能的であり、そして宿主細胞の機構によって活性化され得る。

【０１０８】

本発明のベクターに有用な隣接配列は、当該分野において周知である任意のいくつかの方法によって得られ得る。代表的には、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子隣接配列以外の、本明細書中で有用な隣接配列は、マッピングおよび／または制限エンドヌクレアーゼ消化によって以前に同定されており、従って、適切な制限エンドヌクレアーゼを使用して、適切な組織供給源から単離され得る。いくつかの場合において、隣接配列の全長ヌクレオチド配列は公知であり得る。ここで、隣接配列は、核酸合成またはクローニングのために本明細書中で記載される方法を使用して合成され得る。

【０１０９】

隣接配列の全てまたは一部のみが公知である場合、ＰＣＲを使用して、そして／あるいは適切なオリゴヌクレオチドならびに／または同じもしくは別の種由来の隣接配列フラグメントを用いてゲノムライブラリーをスクリーニングすることによって、隣接配列は得られ得る。隣接配列が公知でない場合、隣接配列を含むＤＮＡのフラグメントは、例えば、コード配列または別の遺伝子を含み得る大きなＤＮＡ断片から単離され得る。単離は、適切なＤＮＡフラグメントを生成するための制限エンドヌクレアーゼ消化、続くアガロースゲル精製を使用する単離、Ｑｉａｇｅｎ（登録商標）カラムクロマトグラフィー（Ｃｈａｔｓｗｏｒｔｈ、ＣＡ）、または当業者に公知の他の方法によって達成され得る。この目的を達成するための適切な酵素の選択は、当業者に容易に明かである。

【０１１０】

複製起点は、代表的に、市販から購入された原核生物発現ベクターの一部であり、この起点は、宿主細胞においてベクターの増幅に役立つ。特定のコピー数へのベクターの増幅は、いくつかの場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの最適な発現に重要であり得る。選択されたベクターが複製起点部位を含まない場合、公知の配列に基づいて化学的に合成され得、そしてベクターに連結され得る。例えば、プラスミドｐＢＲ３２２（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ，Ｂｅｖｅｒｌｙ，ＭＡ）からの複製起点は、大部分のグラム陰性細菌に適切であり、そして種々の起点（例えば、ＳＶ４０、ポリオーマ、アデノウイルス、水疱性口内炎ウイルス（ＶＳＶ）、またはＨＰＶもしくはＢＰＶのようなパピローマウイルス）は、哺乳動物細胞におけるクローニングベクターのために有用である。一般的に、複製起点の成分は、哺乳動物発現ベクターに必要とされない（例えば、ＳＶ４０起点は、ただそれが初期プロモーターを含むので、しばしば、使用される）。

【０１１１】

転写終結配列は、代表的にポリペプチドコード領域の末端の３’側に配置され、そして転写を終結させるのに役立つ。通常、原核生物細胞における転写終結配列は、Ｇ－Ｃリッチフラグメント、続いてポリ－Ｔ配列である。この配列はライブラリーから容易にクローン化され得るか、またはベクターの一部として市販で購入されるが、これはまた、本明細書中上記のような核酸合成のための方法を使用して容易に合成され得る。

【０１１２】

選択マーカー遺伝子エレメントは、選択培養培地において増殖される宿主細胞の生存および増殖に必要なタンパク質をコードする。代表的な選択マーカー遺伝子は、（ａ）原核生物宿主細胞に対して、抗生物質または他の毒素（例えば、アンピシリン、テトラサイクリン、またはカナマイシン）に対する耐性を与えるか；（ｂ）細胞の栄養要求性の欠損を補うか；あるいは（ｃ）複合培地から入手可能でない重要な栄養素を供給するタンパク質をコードする。好ましい選択マーカーは、カナマイシン耐性遺伝子、アンピシリン耐性遺伝子、およびテトラサイク

リン耐性遺伝子である。ネオマイシン耐性遺伝子もまた、原核生物宿主細胞および真核生物宿主細胞における選択のために使用され得る。

【０１１３】

他の選択遺伝子は、発現される遺伝子を増幅するために使用され得る。増幅は、増殖に重要なタンパク質の産生により大きく要求される遺伝子が、組換え細胞の染色体の連続的な生成の内にタンデムに反復されるプロセスである。哺乳動物細胞に対する適切な選択マーカーの例としては、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）およびチミジンキナーゼが挙げられる。哺乳動物細胞形質転換体は、選択圧下に置かれ、ここで、形質転換体のみが、ベクターに存在する選択遺伝子によって生存するように独特に適合される。選択圧は、培地中の選択因子の濃度が連続的に変化し、それによって選択遺伝子とＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡとの両方の増幅を導く条件下で、形質転換された細胞を培養することによって課される。結果として、増加した量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、増幅されたＤＮＡから合成される。

【０１１４】

リボソーム結合部位は、通常、ｍＲＮＡの翻訳開始に必要であり、そしてシャイン・ダルガルノ配列（原核性物）またはコザック配列（真核生物）によって特徴付けられる。このエレメントは、代表的に、発現されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのプロモーターの３’側およびコード配列の５’側に配置される。シャイン・ダルガルノ配列は、可変であるが、代表的には、ポリプリン（すなわち、高いＡ－Ｇ含有量）である。多くのシャイン・ダルガルノ配列は、同定されており、それぞれが、本明細書中に記載の方法を使用して、原核生物ベクターに使用して容易に合成され得る。

【０１１５】

リーダー配列、またはシグナル配列は、宿主細胞からＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを指向させるために使用され得る。代表的には、シグナル配列をコードするヌクレオチド配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子のコード領域に位置するか、または直接ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域の５’末端に位置する。多くのシグナル配列が同定されており、選択された宿主細胞において機能性である

任意のシグナル配列が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子と組み合わせて使用され得る。従って、シグナル配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子に対して同種（天然）または異種であり得る。さらに、シグナル配列は、本明細書中に記載される方法を使用して化学的に合成され得る。大部分において、シグナルペプチドの存在を介した宿主細胞からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの分泌は、分泌されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドからのシグナルペプチドの除去を生じる。シグナル配列は、ベクターの成分であり得るか、またはベクターに挿入されたＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の一部であり得る。

【０１１６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域に結合されたネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列をコードするヌクレオチド配列またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域に結合された異種シグナル配列をコードするヌクレオチド配列のいずれかの使用が本発明の範囲内に含まれる。選択された異種シグナル配列は、宿主細胞によって認識され、プロセスされる（すなわち、シグナルペプチダーゼによって切断される）ものであるべきである。ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列を認識せず、プロセスしない原核生物宿主細胞について、シグナル配列は、例えば、アルカリホスファターゼ、ペニシリナーゼ、または熱安定エンテロトキシンＩＩリーダーのグループから選択される原核生物シグナル配列によって置換される。酵母分泌について、ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル配列は、酵母インベルターゼ、α因子、または酸ホスファターゼリーダーによって置換され得る。哺乳動物細胞発現において、ネイティブなシグナル配列が十分であるが、他の哺乳動物シグナル配列が適切であり得る。

【０１１７】

グリコシル化が真核生物宿主細胞発現系において望ましいようないくつかの場合において、グリコシル化または収量を改善するために種々のプレ配列（ｐｒｅｓｅｑｕｅｎｃｅ）が操作され得る。例えば、特定のシグナルペプチドのペプチダーゼ切断部位を変更し得るかまたはプロ配列（ｐｒｏ－ｓｅｑｕｅｎｃｅ）（これはまた、グリコシル化に影響し得る）を加え得る。最後のタンパク質産物は

、１位に（成熟タンパク質の最初のアミノ酸に対して）、発現に付随して１つ以上のさらなるアミノ酸を有し得、これは、完全に除去されないかもしれない。例えば、最終のタンパク質産物は、アミノ末端に結合される、ペプチダーゼ切断部位において見出される１つまたは２つのアミノ酸残基を有し得る。あるいは、いくつかの酵素切断部位の使用は、酵素が成熟ポリペプチド内のこのような領域を切断する場合、所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少し短縮した形態を生じ得る。

【０１１８】

多くの場合において、核酸分子の転写は、ベクター内の１つ以上のイントロンの存在によって増加する；これは、ポリペプチドが真核生物宿主細胞（特に、哺乳動物宿主細胞）において産生される場合、特に当てはまる。使用されるイントロンは、特に使用される遺伝子が全長ゲノム配列またはそのフラグメントである場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子内に天然に存在し得る。イントロンが遺伝子内に天然に存在しない（大部分のｃＤＮＡについて）場合、イントロンは、別の供給源から得られ得る。隣接配列およびＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子に関してイントロンの位置は、イントロンが効果的に転写されなければならないので、一般的に重要である。従って、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｃＤＮＡ分子が転写される場合、イントロンの好ましい位置は、転写開始部位の３’側およびポリ－Ａ転写終止配列の５’側である。好ましくは、イントロンは、コード配列を妨害しないように、ｃＤＮＡの１つの側または他の側（すなわち、５’側または３’側）に配置される。任意の供給源（ウイルス、原核生物および真核生物（植物または動物）を含む）由来の任意のイントロンを使用して本発明を実行し得るが、但し、このイントロンは、挿入される宿主細胞に適合性である。合成イントロンもまた本明細書中に含まれる。必要に応じて、１つより多くのイントロンがベクター内で使用され得る。

【０１１９】

本発明の発現ベクターおよびクローニングベクターは、代表的には、宿主生物によって認識され、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする分子に作動可能に連結されたプロモーターを含む。プロモーターは、構造遺伝子の転写を制御す

る構造遺伝子（一般的に、約１００～１０００ｂｐ）の開始コドンに対して上流（すなわち、５’側）に配置される非転写配列である。プロモーターは、通常、２つのクラス（誘導プロモーターおよび構成プロモーター）の１つにグループ化される。誘導プロモーターは、培養条件におけるいくらかの変化（例えば、栄養の存在または非存在、あるいは温度の変化）に応答してそれらの制御下で、ＤＮＡからの増加したレベルの転写を開始する。他方、構成プロモーターは、連続的な遺伝子産物の産生を開始する；すなわち、遺伝子発現に対して遺伝子をほとんど制御しないかまたは制御しない。多数のプロモーター（種々の潜在的な宿主細胞によって認識される）が周知である。適切なプロモーターは、供給源のＤＮＡからプロモーターを制限酵素消化によって取り出し、そして所望のプロモーター配列をベクターに挿入することによって、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡに作動可能に連結される。ネイティブなＩＬ－１ｒａ－Ｒプロモーター配列は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の増幅および／または発現に指向させるために使用され得る。しかし、ネイティブなプロモーターと比較して大きい転写および発現タンパク質のより高い産生が可能であり、そして使用のために選択された宿主細胞系と適合性である場合、異種プロモーターが好ましい。

【０１２０】

原核生物宿主との使用に適切なプロモーターとしては、β－ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系；アルカリホスファターゼ；トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系；およびハイブリッドプロモーター（例えば、ｔａｃプロモーター）が挙げられる。他の公知の細菌プロモーターもまた、適切である。これらの配列は、公開されており、その結果、当業者は、任意の有用な制限部位を供給するのに必要とされるリンカーまたはアダプターを使用して、所望のＤＮＡにそれらの配列を連結し得る。

【０１２１】

酵母宿主との使用に適切なプロモーターはまた、当該分野において周知である。酵母エンハンサーは、酵母プロモーターと共に有利に使用される。哺乳動物宿主細胞との使用に適切なプロモーターは周知であり、限定しないが、ポリオーマウイルス、鶏痘ウイルス、アデノウイルス（例えば、Ａｄｅｎｏｖｉｒｕｓ２）

、ウシパピローマウイルス、鳥類肉腫ウイルス、サイトメガロウイルス、レトロウイルス、Ｂ型肝炎ウイルスおよび最も好ましいシミアンウイルス４０（ＳＶ４０）のようなウイルスのゲノムから得られるプロモーターが挙げられる。他の適切な哺乳動物プロモーターとしては、異種哺乳動物プロモーター（例えば、熱ショックプロモーターおよびアクチンプロモーター）が挙げられる。

【０１２２】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子発現を制御する際に関心があり得るさらなるプロモーターとしては、限定しないが、以下が挙げられる：ＳＶ４０初期プロモータ領域（Ｂｅｒｎｏｉｓｔ ａｎｄ Ｃｈａｍｂｏｎ，１９８１，Ｎａｔｕｒｅ ２９０：３０４－１０）；CMVプロモーター；ラウス肉腫ウイルスの３’側の長い末端反復に含まれるプロモーター（Ｙａｍａｍｏｔｏ，ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｃｅｌｌ ２２ ：７８７－９７）；ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター（Ｗａｇｎｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．７８：１４４４－４５）；メタロチオネイン遺伝子の調節配列（Ｂｒｉｎｓｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８２，Ｎａｔｕｒｅ ２９６：３９－４２）；β－ラクタマーゼプロモーターのような原核生物発現ベクター（Ｖｉｌｌａ－Ｋａｍａｒｏｆｆ ｅｔ ａｌ．，１９７８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．，７５：３７２７－３１）；またはｔａｃプロモーター（ＤｅＢｏｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．，８０：２１－２５）。組織特異性を示し、そしてトランスジェニック動物において利用されている以下の動物転写制御領域もまた関心がある：膵臓腺房細胞において活性なエラスターゼＩ遺伝子制御領域（Ｓｗｉｆｔ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｃｅｌｌ ３８：６３９－４６；Ｏｒｎｉｔｚ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｓｙｍｐ．Ｑｕａｎｔ．Ｂｉｏｌ．５０：３９９－４０９（１９８６）；ＭａｃＤｏｎａｌｄ，１９８７，Ｈｅｐａｔｏｌｏｇｙ ７：４２５－５１５）；膵臓β細胞において活性なインシュリン遺伝子制御領域（Ｈａｎａｈａｎ，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１５：１１５－２２）；リンパ球において活性な免疫グロブリン遺伝子制御領域（Ｇｒｏｓｓｃｈｅｄｌ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｃｅｌｌ ３８

：６４７－５８；Ａｄａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１８：５３３－３８；Ａｌｅｘａｎｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，７：１４３６－４４）；精巣、乳房、リンパ球、および肥満細胞において活性なマウス乳腺癌ウイルス制御領域（Ｌｅｄｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｃｅｌｌ ４５：４８５－９５）；肝臓において活性なアルブミン遺伝子制御領域（Ｐｉｎｋｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌ．１：２６８－７６）；肝臓において活性なα－フェトプロテイン遺伝子制御領域（Ｋｒｕｍｌａｕｆ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，５：１６３９－４８；Ｈａｍｍｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３５：５３－５８）；肝臓において活性なα１－抗トリプシン遺伝子制御領域（Ｋｅｌｓｅｙ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｇｅｎｅｓ ａｎｄ Ｄｅｖｅｌ．１：１６１－７１）；骨髄性細胞において活性なβ－グロビン遺伝子制御領域（Ｍｏｇｒａｍ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１５：３３８－４０；Ｋｏｌｌｉａｓ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｃｅｌｌ ４６：８９－９４）；脳の稀突起神経膠細胞において活性なミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域（Ｒｅａｄｈｅａｄ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｃｅｌｌ ４８：７０３－１２）；骨格筋において活性なミオシン軽鎖－２遺伝子制御領域（Ｓａｎｉ，１９８５，Ｎａｔｕｒｅ ３１４：２８３－８６）；ならびに視床下部において活性なゴナドトロピン放出ホルモン遺伝子制御領域（Ｍａｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８６，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３４：１３７２－７８）。

【０１２３】

エンハンサー配列は、より高等な真核生物によって本発明のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡの転写を増加するように、ベクターに挿入され得る。エンハンサーは、転写を増加させるためにプロモーターに作用する、通常約１０～３００ｂｐの長さのＤＮＡのシスに作用するエレメントである。エンハンサーは、相対的な方向非依存性および位置非依存性である。これらは、転写ユニットに対して５’側および３’側に見出された。哺乳動物遺伝子から入手可能ないくつかのエンハンサー配列が公知である（例えば、グロビン、エラスターゼ、アルブミン、α－フェトプロテインおよびインシュリン）。しかし、代表的に

は、ウイルス由来のエンハンサーが、使用される。ＳＶ４０エンハンサー、サイトメガロウイルス初期プロモーターエンハンサー、ポリオーマエンハンサー、およびアデノウイルスエンハンサーは、真核生物プロモーターの活性化について例示的に増強するエレメントである。エンハンサーは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子に対して５’位または３’位でベクターにスプライシングされ得るが、代表的には、プロモーターから５’位側に配置される。

【０１２４】

本発明の発現ベクターは、市販のベクターのような開始ベクターから構築され得る。このようなベクターは、全ての所望な隣接配列を含んでも良いし、含まなくても良い。本明細書中に記載される隣接配列の１つ以上がすでにベクター内にない場合、これらは、個々に得られ得、ベクターに連結され得る。隣接配列のそれぞれを得るために使用される方法は、当業者に周知である。

【０１２５】

本発明を実行するために好ましいベクターは、細菌宿主細胞、昆虫宿主細胞、および哺乳動物宿主細胞と適合性のベクターである。このようなベクターとしては、特に、ｐＣＲＩＩ、ｐＣＲ３、およびｐｃＤＮＡ３．１（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）、ｐＢＳＩＩ（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ、Ｌａ Ｊｏｌｌａ、ＣＡ）、ｐＥＴ１５（Ｎｏｖａｇｅｎ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）、ｐＧＥＸ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）、ｐＥＧＦＰ－Ｎ２（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）、ｐＥＴＬ（ＢｌｕｅＢａｃＩＩ、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ｐＤＳＲ－ａｌｐｈａ（ＰＣＴ公開番号ＷＯ ９０／１４３６３）ならびにｐＦａｓｔＢａｃＤｕａｌ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ、Ｇｒａｎｄ Ｉｓｌａｎｄ、ＮＹ）が挙げられる。

【０１２６】

さらなる適切なベクターとしては、限定しないが、コスミド、プラスミド、または改変ウイルスが挙げられるが、これらのベクター系は、選択された宿主細胞と適合性でなければならないことが理解される。このようなベクターとしては、限定しないが、Ｂｌｕｅｓｃｒｉｐｔ（登録商標）プラスミド誘導体（高コピー数ＣｏｌＥｌ－ベースのファージミド、Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ Ｃｌｏｎｉｎｇ

Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ ＣＡ）、Ｔａｑ増幅ＰＣＲ産物をクローニングするために設計されたＰＣＲクローニングプラスミド（例えば、ＴＯＰＯ™ ＴＡ Ｃｌｏｎｉｎｇ（登録商標）Ｋｉｔ、ＰＣＲ２．１（登録商標）プラスミド誘導体、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）、ならびにバキュロウイルス発現系のような哺乳動物ベクター、酵母ベクターまたはウイルスベクター（ｐＢａｃＰＡＫプラスミド誘導体、Ｃｌｏｎｔｅｃｈ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）のようなプラスミドが挙げられる。

【０１２７】

ベクターが構築され、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子がベクターの適切な部位に挿入された後に、完全なベクターが増幅発現および／またはポリペプチド発現に適切な宿主細胞に挿入され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する発現ベクターの選択された宿主細胞への形質転換は、トランスフェクション、感染、塩化カルシウム、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、リポフェクチン、ＤＥＡＥ－デキストラン法、または他の公知の技術のような方法を含む周知の方法によって達成され得る。選択される方法は、一部、使用される宿主細胞の種類の機能である。これらの方法および他の適切な方法は、当業者に周知であり、例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、上記に記載される。

【０１２８】

宿主細胞は、原核生物宿主細胞（例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ）または真核生物宿主細胞（例えば、酵母細胞、昆虫細胞、または脊椎動物細胞）であり得る。宿主細胞は、適切な条件下で培養される場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを合成し、これは、続いて、培養培地から（宿主細胞がそのポリペプチドを培地に分泌する場合）収集され得るか、直接そのポリペプチドを産生する宿主細胞から収集される（そのポリペプチドが分泌されない場合）。適切な宿主細胞の選択は、所望の発現レベル、活性（例えば、グリコシル化またはホスホリル化）に望ましいかまたは必要なポリペプチド修飾、および生物学的に活性な分子に折り畳まれる容易さなどの種々の因子に依存する。

【０１２９】

多くの適切な宿主細胞が当該分野において公知であり、多くが、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ），Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡから入手可能である。例としては、限定しないが、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）、ＣＨＯ ＤＨＦＲ（－）細胞（Ｕｒｌａｕｂ ｅｔ ａｌ．，１９８０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳ．Ａ．９７：４２１６－２０）、ヒト胚性腎臓（ＨＥＫ）２９３または２９３Ｔ細胞、あるいは３Ｔ３細胞のような哺乳動物細胞が挙げられる。適切な哺乳動物宿主細胞の選択および形質転換、培養、増幅、スクリーニング、産物生成、および精製のための方法が当該分野において公知である。他の適切な哺乳動物細胞株は、サルＣＯＳ－１およびＣＯＳ－７細胞株、およびＣＶ－１細胞株である。さらなる例示的な哺乳動物宿主細胞としては、霊長動物細胞株およびゲッ歯類動物細胞株（形質転換細胞株を含む）が挙げられる。正常な二倍体細胞、初代組織のインビトロ培養物から誘導される細胞菌株、ならびに初代外植片もまた適切である。候補細胞は、選択遺伝子を遺伝子型的に欠き得るか、または優先的に作用する選択遺伝子を含み得る。他の適切な哺乳動物細胞株としては、限定しないが、マウス神経芽細胞腫Ｎ２Ａ細胞、ＨｅＬａ、マウスＬ－９２９細胞、Ｓｗｉｓｓから誘導された３Ｔ３株、Ｂａｌｂ－ｃまたはＮＩＨマウス、ＢＨＫまたはＨａｋハムスター細胞株が挙げられる。これらの細胞株のそれぞれは、タンパク質発現の当業者によって公知であり入手可能である。

【０１３０】

同様に、細菌細胞が、本発明に適切な宿主細胞として有用である。例えば、Ｅ．ｃｏｌｉ（例えば、ＨＢ１０１、ＤＨ５α、ＤＨ１０、およびＭＣ１０６１）の種々の菌株は、生物工学の分野において宿主細胞として周知である。Ｂ．ｓｕｂｔｉｌｉｓ、Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｓｐｐ．，他のＢａｃｉｌｌｕｓ ｓｐｐ．、Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ ｓｐｐ．などの種々の菌株がまた本方法において使用され得る。

【０１３１】

当業者に公知の酵母細胞の多くの菌株はまた、本発明のポリペプチドの発現のため宿主細胞として入手可能である。好ましい酵母細胞としては、例えば、Ｓａ

ｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｉｖｉｓａｅおよびＰｉｃｈｉａ ｐａｓｔｏｒｉｓが挙げられる。

【０１３２】

さらに、望ましい場合、昆虫細胞系が、本発明の方法において利用され得る。このような系は、例えば、Ｋｉｔｔｓ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，１４：８１０－１７；Ｌｕｃｋｌｏｗ，１９９３，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．４：５６４－７２；およびＬｕｃｋｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，１９９３，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．，６７：４５６６－７９に記載される。好ましい昆虫細胞は、Ｓｆ－９およびＨｉ５（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）である。

【０１３３】

グリコシル化ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現するためにトランスジェニック動物もまた使用し得る。例えば、トランスジェニック乳産生動物（例えば、雌ウシまたはヤギ）を使用し、本発明のグルコシル化ポリペプチドを動物の乳に得ることができる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生するために植物もまた使用し得るが、しかし、一般的に、植物において生じるグリコシル化は、哺乳動物細胞において産生されるものとは異なり、ヒト治療用途に適切ではないグリコシル化産物を生じ得る。

【０１３４】

（ポリペプチド産生）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ベクターを含む宿主細胞は、当業者に周知の標準的な培地を使用して培養され得る。この培地は、通常、細胞の増殖および生存に必要な全ての栄養分を含む。Ｅ．ｃｏｌｉ細胞を培養するための適切な培地としては、例えば、Ｌｕｒｉａ Ｂｒｏｔｈ（ＬＢ）および／またはＴｅｒｒｉｆｉｃ Ｂｒｏｔｈ（ＴＢ）が挙げられる。真核生物細胞を培養するための適切な培地としては、Ｒｏｓｗｅｌｌ Ｐａｒｋ Ｍｅｍｏｒｉａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ ｍｅｄｉｕｍ １６４０（ＲＰＭＩ １６４０）、Ｍｉｎｉｍａｌ Ｅｓｓｅｎｔｉａｌ Ｍｅｄｉｕｍ（ＭＥＭ）および／またはＤｕｌｂｅｃｃｏ’ｓ Ｍｏｄｉｆｉｅｄ Ｅａｇｌｅ Ｍｅｄｉｕｍ（ＤＭＥＭ）が挙げられ、

これらの全ては、培養される特定の細胞株に必要な血清および／または増殖因子を補充され得る。昆虫細胞についての適切な培地は、必要に応じて、イーストレート（ｙｅａｔｏｌａｔｅ）、ラクトアルブミン加水分解産物、および／または胎仔ウシ血清を補充したグレース培地である。

【０１３５】

代表的に、トランスフェクトされた細胞または形質転換された細胞の選択的な増殖に有用な構成物質または他の化合物が、培地に補充物質として加えられる。使用される化合物は、宿主細胞が形質転換されるプラスミドに存在する選択マーカーエレメントによって検出可能である。例えば、選択マーカーエレメントがカナマイシン耐性である場合、培養倍地に加えられる化合物は、カナマイシンである。選択的増殖のための他の化合物としては、アンピシリン、テトラサイクリン、およびネオマイシンが挙げられる。

【０１３６】

宿主細胞によって産生されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量は、当該分野において公知の標準的な方法を使用して評価され得る。このような方法としては、限定しないが、ウェスタンブロット分析、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動、非変性ゲル電気泳動、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）分離、免疫沈降、および／またはＤＮＡ結合ゲル移動アッセイのような活性アッセイが挙げられる。

【０１３７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが宿主細胞から分泌されるように設計される場合、ポリペプチドの大部分は、細胞培養培地中で見出され得る。しかし、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが宿主細胞から分泌されない場合、細胞質および／または核（真核宿主細胞について）に、あるいは、細胞質ゾル（グラム陰性細菌宿主細胞について）に存在する。

【０１３８】

宿主細胞細胞質および／または核（真核生物宿主細胞について）に位置するかまたは細胞質ゾル（細菌宿主細胞について）に位置するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについて、細胞内物質（グラム陰性細菌についての封入体を含む）は、当

業者に公知の任意の標準的な技術を使用して宿主細胞から抽出され得る。例えば、宿主細胞は、フレンチプレス、均質化、および／または超音波処理、続く遠心分離によって、ペリプラズム／細胞質の含有量を放出するように溶解され得る。

【０１３９】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが細胞質ゾル内に封入体を形成した場合、この封入体は、しばしば、内部および／または外部細胞膜に結合され得、従って、主に、遠心分離後にペレット材料において見出される。次いで、ペレット材料は、ｐＨ極限値で処理され得るか、あるいはジチオトレイトールのような還元剤の存在下アルカリ性のｐＨで、またはトリスカルボキシエチルホスフィンの存在下酸性のｐＨで、界面活性剤、グアニジン、グアニジン誘導体、尿素、または尿素誘導体のようなカオトロピック剤で処理して、封入体を放出させ、分断させ、そして溶解させ得る。次いで、溶解されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ゲル電気泳動、免疫沈降などを使用して分析され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを単離することが望ましい場合、単離は、本明細書中およびＭａｒｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９０，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．，１８２：２６４－７５に記載される方法のような標準的な方法を使用して達成され得る。

【０１４０】

いくつかの場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、単離の際、生物学的に活性でなくても良い。「再折り畳みする」、つまり、ポリペプチドをその三次構造に変換し、ジスルフィド連結を生成するための種々の方法を使用して、生物学的活性を回復し得る。このような方法は、溶解されたポリペプチドをあるｐＨ（通常７より上）および特定の濃度のカオトロピック剤（ｃｈａｏｔｒｏｐｅ）の存在に曝露する工程を包含する。カオトロピック剤の選択は、封入体溶解に使用される選択肢に非常に類似するが、通常、カオトロピック剤は低い濃度で使用され、溶解に使用されるカオトロピック剤と必ずしも同一ではない。多くの場合、再折り畳み／酸化溶液はまた、還元剤、または特定の比の還元剤およびその酸化形態を含んで、特定の酸化還元電位を生成し、タンパク質のシステイン架橋の形成を生じるジスルフィドシャフリングを可能にする。通常使用される酸化還元対のいくつかとしては、システイン／シスタミン、グルタチオン（ＧＳＨ）／ジチオ

ビスＧＳＨ、塩化銅（ＩＩ）、ジチオトレイトール（ＤＴＴ）／ジチアンＤＴＴ、および２，２－メルカプトエタノール（ｂＭＥ）／ジチオ－ｂ（ＭＥ）が挙げられる。多くの場合において、共溶媒が使用され得るか、または再折り畳みの効率を増加するのに必要であり得、この目的のために使用されるより一般的な試薬としては、グリセロール、種々の分子量のポリエチレングリコール、アルギニンなどが挙げられる。

【０１４１】

封入体がＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現において有意な程度まで形成されない場合、ポリペプチドは、主に、細胞ホモジネートの遠心分離後に上清中に見出される。ポリペプチドは、さらに、本明細書中に記載されるような方法を使用して上清から単離され得る。

【０１４２】

溶液からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの精製は、種々の技術を使用して達成され得る。ポリペプチドが、ヘキサヒスチジン（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／ｈｅｘａＨｉｓ）のようなタグまたは他の小さなペプチド（例えば、ＦＬＡＧ（Ｅａｓｔｍａｎ Ｋｏｄａｋ Ｃｏ．，Ｎｅｗ Ｈａｖｅｎ，ＣＴ）またはｍｙｃ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ））をそのカルボキシル末端またはアミノ末端のいずれかにおいて含むように合成された場合、カラムマトリクスがタグについて高い親和性を有するアフィニティーカラムに溶液を通すことによって一工程で精製され得る。

【０１４３】

例えば、ポリヒスチジンは、ニッケルに対して大きな親和性および特異性を有して結合する。従って、ニッケルのアフィニティーカラム（例えば、Ｑｉａｇｅｎ（登録商標）ニッケルカラム）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／ｐｏｌｙＨｉｓの精製のために使用され得る。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ § １０．１１．８（Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ． ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ １９９３）を参照のこと。

【０１４４】

さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを特異的に認識し得、そして結合し得るモノクローナル抗体の使用によって精製され得る。

【０１４５】

精製のための他の適切な手段はとしては、限定しないが、アフィニティークロマトグラフィー、免疫親和性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、モレキュラーシーブクロマトグラフィー、ＨＰＬＣ、電気泳動（ネイティブな電気泳動を含む）、続くゲル溶出、および分取用等電集束法（「Ｉｓｏｐｒｉｍｅ」ｍａｃｈｉｎｅ／ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ，Ｈｏｅｆｅｒ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ，Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，ＣＡ）が挙げられる。いくつかの場合において、２つ以上の精製技術を、増加した純度を達成するために組み合わせられ得る。

【０１４６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，１９６３，Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．８５：２１４９；Ｈｏｕｇｈｔｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８５，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：５１３２；およびＳｔｅｗａｒｔ　ａｎｄ　Ｙｏｕｎｇ，Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏ．１９８４）に記載されるような当該分野で公知の技術を使用する、化学合成法（例えば、固相ペプチド合成）によって調製され得る。このようなポリペプチドは、アミノ末端にメチオニンを有するかまたは有さないで合成され得る。化学的に合成されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、これらの参考文献に記載される方法を使用して酸化され得て、ジスルフィド結合を形成し得る。化学的に合成されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、組換え的に産生されるかまたは天然の供給源から精製される対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに匹敵する生物学的活性を有すると期待され、従って、組換えまたは天然のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互交換可能に使用され得る。

【０１４７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを得る別の手段は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプ

チドが天然に見出される供給源の組織および／または流体のような生物学的サンプルからの精製による。このような精製は、本明細書中に記載されるようなタンパク質精製のための方法を使用して行われ得る。精製の間、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの存在が、例えば、組換え的に産生されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはそのペプチドフラグメントに対して調製される抗体を使用してモニターされ得る。

【０１４８】

核酸およびポリペプチドを産生するための多くのさらなる方法は、当該分野において公知であり、この方法は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対して特異性を有するポリペプチドを産生するために使用され得る。例えば、Ｒｏｂｅｒｔｓ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９４：１２２９７－３０３を参照のこと。これは、mRNAとそのコードされるペプチドとの間の融合タンパク質の産生を記載する。Ｒｏｂｅｒｔｓ，１９９９，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｃｈｅｚ．ｂｏｌ　３：２６８－７３もまた参照のこと。さらに、米国特許第５，８２４，４６９号は、特定の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドを得るための方法を記載する。この手順は、異種プールのオリゴヌクレオチドを生成する工程を包含し、それぞれが、５’ランダム化配列、中心予備選択配列、および３’ランダム化配列を有する。得られる異種プールは、所望の生物学的機能を示さない細胞の集団に導入される。次いで、細胞の亜集団を、所定の生物学的機能を示すものについてスクリーニングする。その亜集団から、所望の生物学的機能を実行し得るオリゴヌクレオチドが単離される。

【０１４９】

米国特許第５，７６３，１９２号；同第５，８１４，４７６号；同第５，７２３，３２３号；および同第５，８１７，４８３号は、ペプチドまたはポリペプチドを産生するためのプロセスを記載する。これは、確率論的遺伝子またはそのフラグメントを産生し、次いで、確率論的遺伝子によってコードされた１以上のタンパク質を産生する宿主細胞にこれらの遺伝子を導入することによって達成される。次いで、この宿主は、所望の活性を有するペプチドまたはポリペプチドを産

生する、これらのクローンを同定するためにスクリーニングされる。

【０１５０】

ペプチドまたはポリペプチドの産生するための別の方法は、Ａｔｈｅｒｓｙｓ，Ｉｎｃ．によって出願されたＰＣＴ／ＵＳ９８／２００９４（ＷＯ９９／１５６５０）（「Ｒａｎｄｏｍ Ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ ｏｆ Ｇｅｎｅ Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｆｏｒ Ｇｅｎｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ」（ＲＡＧＥ－ＧＤ）として知られている）に記載されており、このプロセスは、インサイチュ組換え方法によって、内因性遺伝子の発現または遺伝子の過剰発現の活性化を含む。例えば、内因性遺伝子の発現は、非相同性組換えまたは異常な組換えによって、遺伝子の発現を活性化し得る標的細胞中に、調節配列を組み込むことによって、活性化または増加される。この標的ＤＮＡは、まず、放射線に供せられ、そして遺伝子プロモーターが挿入される。このプロモーターは、遺伝子の前方の分岐点に最終的に配置され、遺伝子の転写を開始する。これは、所望のペプチドまたはポリペプチドの発現より生じる。

【０１５１】

これらの方法はまた、包括的なＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ライブラリーを作製するために使用され得、これは、続いて、種々のアッセイ（例えば、生化学的アッセイ、細胞アッセイおよび全生物アッセイ（例えば、植物、マウスなど））において、高スループット表現型スクリーニングのために使用され得ることが理解される。

【０１５２】

（合成）

本明細書中に記載される核酸およびポリペプチド分子が、組換えおよび他の手段によって産生され得ることは、当業者によって理解される。

【０１５３】

（選択的結合因子）

用語「選択的結合因子」は、１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対して特異性を有する分子を言及する。適切な選択的結合因子としては、抗体およびその誘導体、ポリペプチド、ならびに小分子が挙げられるが、これらに限定されな

い。適切な選択的結合因子は、当該分野で公知の方法を使用して調製され得る。本発明の例示的なＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチド選択的結合因子は、ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチドの特定の部分を結合し得、これにより、ポリペプチドのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターへの結合を阻害する。

【０１５４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合する抗体および抗体フラグメントのような選択的結合因子は、本発明の範囲内である。この抗体は、単一特異的なポリクローナルを含むポリクローナル；モノクローナル（ＭＡｂ）；組換え；キメラ；ヒト化（例えば、ＣＤＲ移植化）；ヒト；単鎖；および／または二重特異的；ならびにそれらのフラグメント；改変体；または誘導体であり得る。抗体フラグメントとしては、ＩＬ－１ＲＡ－Ｒポリペプチド上のエピトープに結合する抗体の一部を含む。このようなフラグメントの例としては、全長抗体の酵素学的切断によって産生されたＦａｂおよびＦ（ａｂ’）フラグメントが挙げられる。他の結合フラグメントとしては、組換えＤＮＡ技術（例えば、抗体可変領域をコードする核酸配列を含む、組換えプラスミドの発現）によって産生されたフラグメントが挙げられる。

【０１５５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対するポリクローナル抗体は、一般に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドおよびアジュバンドの複数回の皮下注射または腹腔内注射によって動物（例えば、ウサギまたはマウス）において産生される。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをキャリアタンパク質に結合させることは、有用であり得、このタンパク質は、キーホールリンペットヘモシアニン、血清、アルブミン、ウシサイログロブリン、またはダイズトリプシンインヒビターのように、免疫化される種において免疫原性である。また、ミョウバンのような凝集剤は、免疫応答を増強させるために使用される。免疫化後、この動物は採血され、そして血清を、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体力価についてアッセイする。

【０１５６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対するモノクローナル抗体は、培地中の連続的細胞株によって抗体分子を産生するために提供される、任意の方法を使用して

産生される。モノクローナル抗体を調製するために適切な方法の例は、Ｋｏｈｌｅｒら、１９７５、Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５－９７のハイブリドーマ法、およびヒトＢ細胞ハイブリドーマ法（Ｋｏｚｂｏｒ、１９８４、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３３：３００１；Ｂｒｏｄｅｕｒら、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ５１－６３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，１９８７））が挙げられる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと反応する、モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株がまた、本発明によって提供される。

【０１５７】

本発明のモノクローナル抗体は、治療剤として使用するために、改変され得る。１実施形態は、「キメラ」抗体であり、この重鎖（Ｈ）および／または軽鎖（Ｌ）の一部が、特定の種から誘導されるか、または別の抗体のクラスもしくはサブクラスの属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である一方で、この鎖の残りは、別の種から誘導されるか、または特定の抗体のクラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一であるか、または相同性である。抗体のフラグメントが所望の生物学的活性を示す限り、これらの抗体のフラグメントも含まれる。米国特許第４，８１６，５６７号；Ｍｏｒｒｉｓｏｎら、１９８５、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８１：６８５１－５５を参照のこと。

【０１５８】

別の実施形態において、本発明のモノクローナル抗体は、「ヒト化」抗体である。非ヒト抗体をヒト化するための方法は、当該分野で周知である。米国特許第５，５８５，０８９号および５，６９３，７６２号を参照のこと。一般に、ヒト化した抗体は、非ヒトである供給源から導入された１以上のアミノ酸残基有する。ヒト化は、例えば、当該分野（Ｊｏｎｅｓら、１９８６、Ｎａｔｕｒｅ３２１：５２２－２５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、１９９８、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－２７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎら、１９８８、Ｓｃｉｅｎｃｅ２３９：１５３４－３６）で記載される方法を使用して、げっ歯類相補的決定領域（ＣＤＲ）の少なくとも一部をヒトの抗体の対応する領域と置換することによって、実施され

得る。

【０１５９】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合するヒト抗体がまた、本発明によって包含される。内因性の免疫グロブリンの産物の非存在下で、ヒト抗体のレパートリーを産生し得る、トランスジェニック動物（例えば、マウス）を使用して、このような抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗原（すなわち、少なくとも６連続するアミノ酸を有する）を用いて免疫化することによって産生され、必要に応じて、キャリアに結合される。例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ　Ｓｃｉ．９０：２５５１－５５；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓら，１９９３，Ｎａｔｕｒｅ　３６２：２５５－５８；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎら，１９９３，Ｙｅａｒ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏ．７：３３を参照のこと。１つの方法において、このようなトランスジェニック動物は、本明細書中の重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードする内因性遺伝子座を無能にし、そしてヒトの重鎖および軽鎖タンパク質をコードする遺伝子座をそのゲノムに挿入することによって産生される。次いで、部分的に改変された動物（この動物は、完全に相補性ではない改変を有する）は、所望の免疫系の改変の全てを有する動物を得るために交雑される。免疫原が投与される場合、これらのトランスジェニック動物が、ヒト（例えば、マウスではない）アミノ酸配列（このアミノ酸配列は、これらの抗原に対して免疫特異性である可変領域を含む）を有する抗体を産生する。例えば、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９６／０５９２８およびＰＣＴ／ＵＳ９３／０６９２６を参照のこと。さらなる方法は、米国特許第５，５４５，８０７、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９１／２４５およびＰＣＴ／ＧＢ８９／０１２０７、ならびに欧州特許第５４６０７３Ｂ１および５４６０７３Ａ１に記載される。ヒト抗体はまた、宿主細胞中の組換えＤＮＡの発現または本明細書中に記載されるようなハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【０１６０】

代替の実施形態において、ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリから産生され得る（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：３８１；Ｍａｒｋｓら，１９９１，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２２：

５８１）。これらにより、糸状のバクテリオファージの表面上の抗体レパートリーの提示を介した模倣免疫選択、および選択した抗原への結合によるファージの続く選択を処理する。１つのこのような技術は、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９８／１７３６４に記載されており、これには、このようなアプローチを使用して、ＭＰＬ－およびｍｓｋ－レポーターについて、高い親和性および機能的なアンタゴニスト抗体の単離が記載される。

【０１６１】

キメラ抗体、ＣＤＲ移植化抗体、およびヒト化抗体は、代表的に組換え方法によって産生される。抗体をコードする核酸は、宿主細胞中に導入され、そして本明細書中に記載される材料および手順を使用して発現される。好ましい実施形態において、この抗体は、哺乳動物宿主細胞（例えば、ＣＨＯ細胞）中で産生される。モノクローナル（例えば、ヒト）抗体は、本明細書中に記載されるように、宿主細胞中での組換えＤＮＡの発現またはハイブリドーマ細胞中での発現によって産生され得る。

【０１６２】

本発明の抗－ＩＬ－１ｒａ－R抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの検出および定量のために、任意の公知のアッセイ方法（例えば、競合結合アッセイ、直接的および間接的サンドイッチアッセイ、および免疫沈降アッセイ）において使用され得る（Ｓｏｌａ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ　ｏｆ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１４７－１５８（ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，１９８７））。この抗体は、使用されるアッセイ方法に対して、適切である親和性でＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドと結合する。

【０１６３】

診断適用のために、特定の実施形態において、抗－ＩＬ－１ｒａ－R抗体は、検出可能な部分で標識され得る。この検出可能な部分は、直接的または間接的のいずれかで、検出可能なシグナルを産生し得る任意の部分であり得る。例えば、検出可能な部分は、放射性同位体（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{125}Ｉ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、または^{67}Ｇａ）；蛍光化合物または化学的蛍光化合物（フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、もしくはルシフェ

リン）；または酵素（アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、もしくは西洋ワサビペルオキシダーゼ）であり得る（Ｂａｙｅｒら，１９９０，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚ．１８４：１３８－６３）。

【０１６４】

競合結合アッセイは、標識した標準物質（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、またはその免疫学的に反応性な部分）の能力に依存し、限定された量の抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体との結合に関して、試験サンプル検体（ＩＬ－１ｒａ－Ｒペプチド）と競合する。試験サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの量は、抗体と結合する標準物質の量と反比例する。結合する標準物質の量を決定するのを容易にするために、この抗体は、競合前または後に、代表的に不溶化され、その結果この抗体と結合する標準物質および検体は、結合しないままの標準物質および検体から好都合に分離され得る。

【０１６５】

サンドイッチアッセイは、２つの抗体の使用を代表的にを含み、各々は、決定および／または定量されるタンパク質の異なる免疫部分またはエピトープに結合し得る。サンドイッチアッセイにおいて、この試験サンプル検体は、固体支持体上に固定化される第１抗体によって代表的に結合され、その後、第２抗体が、この検体に結合され、従って不溶の３部の複合体を形成する。例えば、米国特許第４，３７６，１１０を参照のこと。第２抗体自体は、検出可能な部分で標識されるか（直接的なサンドイッチアッセイ）、または検出可能な部分で標識される抗－免疫グロブリン抗体を使用して測定され得る（間接的なサンドイッチアッセイ）。例えば、サンドイッチアセイの１つの型は、酵素結合イムノソルベント検定法（ＥＬＩＳＡ）（この場合、検出可能な部分は、酵素である）である。

【０１６６】

抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体を含む、選択的結合因子はまた、インビボイメージングのために有用である。検出可能な部分で標識した抗体は、動物に、好ましくは、血流に投与され得、宿主中で標識した抗体の存在および位置がアッセイされる。この抗体は、核磁気共鳴、放射線学、または当該分野で公知の他の検出手段のいずれかによって、動物中で検出可能である任意の部分で標識され得る。

【０１６７】

抗体を含む、本発明の選択的結合因子は、治療剤として使用され得る。これらの治療剤は、一般に、アゴニストまたはアンタゴニストであり、これらは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも１つの生物学的活性を、それぞれ増強または減少させるかのいずれかである。１実施形態中で、本発明のアンタゴニスト抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的に結合し得、そしてインビボまたはインビトロでＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能活性を阻害または排除し得る、抗体またはその結合フラグメントである。好ましい実施形態において、選択的結合因子（例えば、アンタゴニスト抗体）は、少なくとも約５０％、および好ましくは、少なくとも約８０％、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能活性を阻害する。別の実施形態において、選択的結合アッセイは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（リガンドまたはレセプター）と相互作用し得る抗－ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体であり得、これにより、インビトロまたはインビボにおいてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を阻害または排除する。アゴニストおよびアンタゴニスト抗体－ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体を含む、選択的結合因子は、当該分野で周知であるスクリーニングアッセイによって同定される。

【０１６８】

本発明はまた、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ選択的結合因子（例えば、抗体）を含むキットおよび生物学的サンプル中でＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレベルを検出するために有用である他の試薬に関する。このような試薬は、検出可能な標識、ブロッキングの血清、ポジティブおよびネガティブコントロールサンプル、および検出試薬を含み得る。

【０１６９】

（マイクロアレイ）

ＤＮＡマイクロアレイ技術は、本発明に従って利用され得ることが理解される。ＤＮＡマイクロアレイは、固体支持体（例えば、ガラス）上に配置された核酸の小型高密度アレイである。このアレイ内の各細胞またはエレメントは、相補的核酸配列（例えば、ｍＲＮＡ）とハイブリダイゼーションするための標識として

作用する、単一の核酸種の複数のコピーを含む。ＤＮＡマイクロアレイ技術を使用する発現プロファイリングにおいて、ｍＲＮＡは、細胞サンプルまたは組織サンプルからまず抽出され、次いで、酵素標識されたｃＤＮＡを蛍光標識されたｃＤＮＡに変換する。この材料は、マイクロアレイにハイブリダイズされ、そして未結合のｃＤＮＡは、洗浄により除去される。次いで、このアレイ上に示された個々の遺伝子の発現は、各標的核酸分子に特異的に結合される、標識されたｃＤＮＡの量を定量することによって視覚化される。この方法において、数千の遺伝子の発現が、生物学的材料の単一サンプルから、高スループットの並行様式で定量され得る。

【０１７０】

この高スループット発現プロファイリングは、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子に関連して広範の適用を有し、これには、以下が挙げられるが、これに限定されない：治療のための標的として、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ疾患関連遺伝子の同定および確認；関連するＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子およびそのインヒビターの分子毒性；臨床試験のための代替マーカーの集団および産生の階層化；および高スループットスクリーニングにおいて、選択化合物の同定を援助することによって、関連するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド小分子薬物探索を増強すること。

【０１７１】

（化学的誘導体）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの化学的に改変された誘導体は、この開示が、本明細書中に記載されると、当業者によって調製され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、このポリペプチドに天然で結合した分子の型または位置のいずれかで、異なる様式で改変される。誘導体は、１以上の天然で結合した化学的な基の除去によって形成される分子を含み得る。配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６、または他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドは、１以上のポリマーの共有結合によって改変され得る。例えば、選択されたポリマーは、代表的に水溶性であり、その結果、結合するタンパク質は、水環境（例えば、生理学的な環境）下で沈殿しない。ポリマーの混合物が、適切なポリマーの範囲内に含まれる。好ましくは

、最終生成物の調製物の治療学的使用のために、このポリマーは、薬学的に受容可能である。

【０１７２】

このポリマーの各々は、任意の分子量を有し得、そして分枝または非分枝であり得る。このポリマーの各々は、代表的に、約２ｋＤａと約１００ｋＤａとの間の平均分子量を有する（この用語「約（およそ）」は、水溶性ポリマーの調製の際に、幾つかの分子が、上記の分子量より多い、いくらか少ない重量を有することを示す）。各ポリマーの平均分子量は、好ましくは、約５ｋＤａと約５０ｋＤａの間、より好ましくは、約１２ｋＤａと約４０ｋＤａとの間、そして最も好ましくは、約２０ｋＤａと約３５Ｄａとの間である。

【０１７３】

適切な水溶性ポリマーまたはその混合物としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：Ｎ－連結またはＯ－連結炭水化物、糖、リン酸、ポリエチレン、グリコール（ＰＥＧ）（これは、モノ－（C_1－C_{10}）、アルコキシ－、またはアリールオキシ－ポリエチレングリコールを含む、タンパク質を誘導するために使用されたＰＥＧの形態を含む）、モノメトキシ－ポリエチレングリコール、デキストラン（例えば、低分子量（例えば、約６ｋＤのデキストラン））、セルロース、または他の炭水化物ベースのポリマー、ポリ－（Ｎ－ビニルピロリジン）ポリエチレングリコール、プロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、およびポリビニルアルコール。共有結合したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドマルチマーを調製するために使用され得る、二官能性架橋分子もまた、本発明に含まれる。

【０１７４】

一般に、化学的誘導体化は、活性化したポリマー分子とタンパク質を反応させるために使用される任意の適切な条件下で、実施され得る。ポリペプチドの化学的誘導体を調製するための方法は、以下の工程を包含する：（ａ）配列番号２、配列番号４、配列番号６、もしくは配列番号３６、または他のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのいずれかのアミノ酸配列を含むポリペプチドが、１以上のポリマ

ー分子に結合する条件下で、活性化したポリマー分子（例えば、ポリマー分子の反応性エステルまたはアルデヒド誘導体）とポリペプチドを反応させる工程、ならびに（ｂ）反応生成物を得る工程。最適の反応条件は、既知のパラメータおよび所望の結果に基づいて決定される。例えば、ポリマー分子のタンパク質に対する比が大きくなるほど、結合したポリマー分子の割合も大きくなる。１実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、アミノ末端の単一ポリマー分子部分を有する。例えば、米国特許第５，２３４，７８４号を参照のこと。

【０１７５】

ポリペプチドのペギル化（ｐｅｇｙｌａｔｉｏｎ）は、当該分野で公知の任意のペギル化反応を使用して特異的に実施され得る。このような反応は、例えば、以下の参考文献に記載されている：Ｆｒａｎｃｉｓら，１９９２，Ｆｏｃｕｓ ｏｎ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒｓ ３：４－１０；欧州特許第０１５４３１６号および０４０１３８４号；ならびに米国特許第４，１７９，３３７号。例えば、ペギル化は、本明細書中に記載されるように、反応性ポリエチレングリコール分子（または、類似の反応性水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施され得る。アシル化反応のために、選択されたポリマーは、単一の反応性エステル基を有する。還元的アルキル化について、選択されたポリマーは、単一の反応性アルデヒド基を有する。例えば、反応性アルデヒドは、ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドであり、これは、水安定性、またはモノC_1－C_{10}アルコキシもしくはそのアリールオキシ誘導体である（米国特許第５，２５２，７１４号を参照のこと）。

【０１７６】

別の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ビオチンに化学的に連結され得る。次いで、このビオチン／ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド分子は、アビジンに結合され得、その結果、４価のアビジン／ビオチン／ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド分子が得られる。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドはまた、ジニトロフェノール（ＤＮＰ）またはトリニトロフェノール（ＴＮＰ）に共有結合され得、そして得られた結合体は、抗－ＤＮＰまたは抗－ＴＮＰ－ＩｇＭと共に沈殿し、１０価の十量体の結合体を形成する。

【０１７７】

一般に、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体の投与によって、緩和または調節され得る条件は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについて本明細書中に記載されたものを含む。しかし、本明細書中に開示されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド誘導体は、非誘導体化分子と比較した場合、さらなる活性、増強または減少した生物学的活性、または他の特性（例えば、増加または減少した半減期）を有し得る。

【０１７８】

（遺伝子操作した非ヒト動物）

マウス、ラット、または他のげっ歯類；ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物が、さらに本発明の範囲内に含まれ、ここで、天然のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子は分裂（すなわち「ノックアウト」）され、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現レベルは、有意に減少するか、または完全に破壊される。このような動物は、米国特許第５，５５７，０３２号に記載されるような技術および方法を使用して調製され得る。

【０１７９】

本発明は、マウス、ラット、または他のげっ歯類；ウサギ、ヤギ、ヒツジ、または他の家畜のような非ヒト動物をさらに含み、この動物のＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の天然の形態または非相同性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のいずれかが、動物によって過剰発現され、これによって、「トランスジェニック」動物を作製する。このようなトランスジェニック動物は、米国特許第５，４８９，７４３号およびＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／２８１２２号に記載されるような周知の方法を使用して調製され得る。

【０１８０】

本発明は、非ヒト動物をさらに含み、ここで、本発明の１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのプロモーターは、（例えば、相同的な組換え方法を使用することによって）活性化されるか、または活性化されず、１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現のレベルを改変する。

【０１８１】

これらの非ヒト動物は、薬物候補物スクリーニングのために使用され得る。このようなスクリーニングにおいて、動物での薬物候補物の影響が測定され得る。例えば、薬物候補物は、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、産生されるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの量は、動物を薬物候補物に曝露した後に測定され得る。さらに、特定の実施形態において、動物での薬物候補物の実際の影響を検出し得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、遺伝子の発現を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。別の例において、ポリペプチドのフラグメントのような、特定の代謝産物の産生により、疾患状態または病理学的状態を生じるか、または関連する。このような場合において、このような代謝産物の産生を減少させるための薬物候補物の能力または病理学的状態を防止または阻害するための能力を試験し得る。

【０１８２】

（ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド活性の他の修飾因子についてのアッセイ）

いくつかの状態において、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの活性の修飾因子である分子（例えば、アゴニストまたはアンタゴニスト）を同定することが所望され得る。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドを調節する天然または合成分子は、本明細書中に記載されるように、１以上のスクリーニングアッセイを使用して同定され得る。このような分子は、インビボ様式またはインビトロ様式のいずれかで、注射、または経口送達、移植デバイスなどによって投与され得る。

【０１８３】

「試験分子」とは、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの活性を調節する（すなわち、増加または減少させる）ための能力について評価する分子を言う。最も一般的に、試験分子は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドと直接的に相互作用する。しかし、試験分子はまた、例えば、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子発現に影響を与えることによって、またはＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）に結合することによって、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド活性を直接的に調節し得る。１実施形態において、試験分子は、少なくとも

約１０$^{-6}$M、好ましくは、約１０$^{-8}$M、より好ましくは、約１０$^{-9}$M、そしてさらにより好ましくは約１０$^{-10}$Mの親和性定数（ａｆｆｉｎｉｔｙ　ｃｏｎｓｔａｎｔ）でＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと結合する。

【０１８４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用する化合物を同定するための方法は、本発明によって包含される。特定の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用が可能な条件下で、試験分子と共にインキュベートされ、そして相互作用の範囲が測定される。試験分子は、実質的に精製された形態または粗製の混合物中でスクリーニングされ得る。

【０１８５】

特定の実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質、または低分子量の分子であり得、これは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用して、その活性を調節する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を調節する分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸と相補的であるか、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を指向または制御する核酸配列に対して相補的である核酸分子、および発現のアンチセンス制御因子として作用する核酸分子を含む。

【０１８６】

一旦、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用する場合に、試験化合物が、同定されると、この分子は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を増加または減少させる能力についてさらに評価され得る。試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用の測定は、いくつかの形態で実施され得、これには、細胞ベースの結合アッセイ、膜結合アッセイ、液相アッセイ、および免疫アッセイが挙げられる。一般に、試験分子は、特定の期間、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと共にインキュベートされ、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性が、生物学的活性を測定するために１以上のアッセイによって決定される。

【０１８７】

試験分子とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの相互作用はまた、免疫アッセイ

において、ポリクローナルまたはモノクローナル抗体を使用して直接的にアッセイされ得る。あるいは、本明細書中に記載されるようなエピトープタグを含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの改変形態は、溶液および免疫アッセイ中で使用され得る。

【０１８８】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、結合パートナー（例えば、レセプターまたはリガンド）との相互作用を介して、生物学的活性を示す場合において、種々のインビトロアッセイが、対応する結合パートナー（選択的結合因子、レセプター、またはリガンド）へのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合を測定するために使用され得る。これらのアッセイは、結合パートナーに対するＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの結合の速度および／または速度を増加または減少させるために、試験分子をスクリーニングするために使用され得る。１アッセイにおいて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、マイクロタイタープレートのウェル中に固定化される。次いで、放射標識したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（例えば、ヨウ素化したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー）および試験化合物は、このウェルに、一時に一方を（いずれかの順序で）または同時に添加され得る。インキュベーション後に、この壁を洗浄し、そしてシンチレーション計数器を使用して、放射活性を計数し、結合パートナーがＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合する範囲を決定する。代表的に、分子は、濃度範囲にわたって試験され、そして試験アッセイの１以上を欠く一連のコントロールウェルは、結果の評価の正確性のために使用され得る。この方法の代わりは、タンパク質の「位置」を逆にする工程を逆にする工程（すなわち、マイクロタイタープレートウェルにＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーを固定化し、試験分子および放射標識したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをインキュベートし、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合の範囲を決定する工程）を包含する。例えば、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、第１８章（Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｇｒｅｅｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ Ｉｎｃ．ならびにＷｉｌｅｙおよびＳｏｎｓ１９９５）を参照のこと。

【０１８９】

放射性標識に対する代替として、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはその結合パートナーは、ビオチンと結合体化され得、そしてビオチン化されたタンパク質の存在が、次いで、酵素（例えば、わさびペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）またはアルカリホスファターゼ（ＡＰ））に結合したストレプトアビジンを使用して検出され得、これらは、比色定量的に検出され得るか、またはストレプトアビジンの蛍光タグ化によって検出され得る。ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナー（これらは、ビオチンに結合されている）に対する抗体はまた、ＡＰまたはＨＲＰに連結した酵素連結ストレプトアビジンとの複合体のインキュベーションに続いて、検出の目的のために使用され得る。

【０１９０】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーは、アガロースビーズ、アクリルビーズ、または他の型のこのような不活性な固体相基材への付着によって固定化され得る。基材－タンパク質複合体は、相補タンパク質および試験化合物を含む溶液内に配置され得る。インキュベーション後、これらのビーズは、遠心分離によって沈澱され得、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとその結合パートナーとの間の結合の量が、本明細書中に記載の方法を使用して評価され得る。あるいは、基材－タンパク質複合体は、カラムを通過する、試験分子および相補タンパク質を用いてカラム内に固定化され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドトその結合パートナーとの間の複合体の形成が、次いで、本明細書中に記載の技術（例えば、放射性標識または抗体結合）のいずれかを使用して評価され得る。

【０１９１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合タンパク質とＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーとの間の複合体の形成を増加または減少させる試験分子を同定するために有用な別のインビトロアッセイは、表面プラズモン共鳴検出器システム（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅアッセイシステム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ））である。ＢＩＡｃｏｒｅシステムは、製造業者によって特定されるように利用される。このアッセイは、本質的に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポ

リペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーのいずれかの、デキストランでコートされたセンサーチップ（これは、検出器に存在する）への共有結合を含む。次いで、この試験化合物および他の相補タンパク質が、同時にかまたは連続的にかのいずれかで、センサーチップを含むチャンバーに注入され得る。結合する相補タンパク質の量は、センサーチップのデキストランコート側面に物理的に関係する分子の質量の変化に基づいて評価され得、この分子の質量の変化は、検出器システムによって測定される。

【０１９２】

いくつかの場合において、２つ以上の試験化合物を一緒に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの間の複合体の形成を増加または減少させるそれらの能力について評価することが所望され得る。これらの場合において、本明細書中に記載のアッセイは、第一の試験化合物と同時にか、またはそれに続いてのいずれかで、このようなさらなる試験化合物を添加することによって容易に改変され得る。このアッセイにおける工程の残りは、本明細書中に記載される。

【０１９３】

インビトロアッセイ（例えば、本明細書中に記載されるもの）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの間の複合体の形成に対する効果について、多数の化合物をスクリーニングするために、有利に使用され得る。これらのアッセイは、ファージディスプレイ、合成ペプチド、および化学合成ライブラリーにおいて生成された化合物をスクリーニングするために、自動化され得る。

【０１９４】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドとの間の複合体の形成を増加または減少される化合物はまた、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーＦのいずれかを発現する細胞および細胞系列を使用して、細胞培養物においてスクリーニングされ得る。細胞および細胞系列は、任意の哺乳動物から得られ得るが、好ましくは、ヒト、または他の霊長類、イヌ類またはげっ歯類の供給源由来である。Ｉ

Ｌ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーを発現する細胞への、その表面での結合は、試験化合物の存在または非存在下で評価され、そして結合の程度が、例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド結合パートナーに対するビオチン化抗体を使用するフローサイトメトリーによって決定され得る。細胞培養アッセイは、本明細書中に記載されるタンパク質結合アッセイにおいて、陽性であるとスコア付けされる化合物をさらに特徴付けするために有利に使用され得る。

【０１９５】

細胞培養物はまた、薬物候補の影響をスクリーニングするために使用され得る。例えば、薬物候補は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の発現を減少または増加させ得る。特定の実施形態において、生成されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはフラグメントの量は、細胞培養物の薬物候補への曝露の後に測定され得る。特定の実施形態において、細胞培養物への薬物候補の実質的な影響が検出され得る。例えば、特定の遺伝子の過剰発現は、細胞培養物への特定の影響を有し得る。このような場合に、遺伝子の発現を増加または減少させる薬物候補の能力、または細胞培養物に対する特定の影響を予防または阻害するその能力が試験され得る。他の例において、特定の代謝産物（例えば、ポリペプチドのフラグメントなど）の生成が、疾患または病的状態を生じ得るか、またはそれらと関連し得る。このような場合、細胞培養物におけるこのような代謝産物の生成を減少する薬物候補の能力が試験され得る。

【０１９６】

（内部移行タンパク質）

ｔａｔタンパク質配列（ＨＩＶ由来）が、タンパク質を細胞内に内部移行させるために、使用され得る。例えば、Ｆａｌｗｅｌｌら、１９９４、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９１：６６４－６８を参照のこと。例えば、ＨＩＶ　ｔａｔタンパク質の１１アミノ酸の配列（Ｙ－Ｇ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｒ－Ｑ－Ｒ－Ｒ－Ｒ；配列番号１８）（「タンパク質形質導入ドメイン」、またはＴＡＴ　ＰＤＴを称される）は、細胞の細胞質膜および核膜を横切る送達を媒介するとして記載されている。Ｓｃｈｗａｒｚｅら，１９９９，Ｓｃｉｅｎ

ｃｅ ２８５：１５６９－７２；およびＮａｇａｈａｒａら，１９９８，Ｎａｔ．Ｍｅｄ．４：１４４９－５２を参照のこと。これらの手順において、ＦＩＴＣ構築物（ＦＩＴＣ標識Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｙ－Ｇ－Ｒ－Ｋ－Ｋ－Ｒ－Ｒ－Ｑ－Ｒ－Ｒ－Ｒ；配列番号１９）（これは、腹腔内投与に続いて組織を貫通する）が調製され、そしてこのような構築物の細胞への結合が、蛍光細胞分析分離（ＦＡＣＳ）分析によって検出される。ｔａｔ－β－ｇａｌ融合タンパク質で処置された細胞は、β－ｇａｌ活性を示す。注入に続いて、このような構築物の発現が、多くの組織（肝臓、腎臓、肺、心臓および脳組織）において検出され得る。このような構築物は、細胞に入るためにある程度の変性を受け、そしてそれ自体、細胞内への移入に続いて、再折り畳みを必要とし得ると考えられる。

【０１９７】

従って、ｔａｔタンパク質配列は、所望のポリペプチドを細胞に内部移入させるために使用され得ることが理解される。例えば、ｔａｔタンパク質配列を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒアンタゴニスト（例えば、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ選択的結合因子、低分子、可溶性レセプター、またはアンチセンスオリゴヌクレオチド）は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の活性を阻害するために、細胞内投与され得る。本明細書中で使用される場合、用語「ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子」は、本明細書中に規定されるような、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの両方をいう。所望ならば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒタンパク質自体はまた、これらの手順を使用して、細胞に内部投与され得る。Ｓｔｒａｕｓ，１９９９，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８５：１４６６－６７をまた参照のこと。

【０１９８】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを使用する細胞供給源の同定）

本発明の特定の実施形態に従って、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと関連する特定の細胞型の供給源を決定することを可能することが有用であり得る。例えば、適切な治療を選択する際の補助として疾患または病的状態の起源を決定することが有用であり得る。特定に実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸は、プローブとして使用されて、このようなプローブを用いて細胞の核酸をスクリーニングすることによって、本明細書中に記載の細胞を同定

し得る。他の実施形態において、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体を使用して、細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの存在について試験し得、従って、このような細胞が本明細書中に記載される型の細胞か否かを決定し得る。

【０１９９】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド組成物および投与）

治療組成物は、本発明の範囲内である。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド薬学的組成物は、治療有効量のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドまたはＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。薬学的組成物は、治療有効量の１以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド選択的結合因子を、投与の様式と適合するように選択された薬学的にまたは生理学的に受容可能な処方薬剤との混合物中に、含み得る。

【０２００】

受容可能な処方物材料は、好ましくは、使用される投薬量および濃度で、レシピエントに対して非毒性である。

【０２０１】

薬学的組成物は、例えば、ｐＨ、浸透圧、粘度、清澄性、色、等張性、におい、無菌性、安定性、解離または放出の速度、吸着、または組成物の浸透を改変、維持または保存するための処方物材料を含み得る。適切な処方物材料としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジン）、抗菌剤、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、または亜硫酸水素ナトリウム（ｓｏｄｉｕｍ　ｈｙｄｒｏｇｅｎ－ｓｕｌｆｉｔｅ））、緩衝液（例えば、ホウ酸塩、炭酸水素塩、Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、クエン酸塩、リン酸塩、または他の有機酸）、バルキング剤（例えば、マンニトールまたはグリシン）、キレート化剤（エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ））、複合体化剤（例えば、カフェイン、ポリビニルピロリドン、β－シクロデキストリン、またはヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン）、フィラー、単糖類、二糖類、および他の炭水化物（例えば、グルコース、マンノースまたはデキストリン）、タンパク質（例えば、血清ア

ルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン）、着色剤、味付け剤および希釈剤、乳化剤、親水性ポリマー（例えば、ポリビニルピロリドン）、低分子量ポリペプチド、塩形成対イオン（例えば、ナトリウム）、保存剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、サリチル酸、チメロサール、フェネチルアルコール、メチルパラベン、プロピルパラベン、クロルヘキシジン、ソルビン酸、または過酸化水素）、溶媒（例えば、グリセリン、プロピレングリコール、またはポリエチレングリコール）、糖アルコール（例えば、マンニトールまたはソルビトール）、懸濁剤、表面活性剤または湿潤剤（例えば、プルロニック（ｐｌｕｒｏｎｉｃ）；ＰＥＧ；ソルビタンエステル；ポリソルビテート（例えば、ｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ　２０またはｐｏｌｙｓｏｒｂａｔｅ　８０）；トリトン；トロメタミン；レシチン；コレステロールまたはチロキサポール（ｔｙｌｏｘａｐａｌ））、安定性増強剤（例えば、スクロースまたはソルビトール）、張度増強剤（例えば、ハロゲン化アルカリ金属（好ましくは塩化ナトリウムまたは塩化カリウム）、またはマンニトール、ソルビトール）、送達ビヒクル、希釈剤、賦形剤および／または薬学的なアジュバント。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（第１８版，Ａ．Ｒ．Ｇｅｎｎａｒｏ，編，Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏｍｐａｎｙ　１９９０を参照のこと。

【０２０２】

最適な薬学的組成物は、当業者によって、例えば、意図される投与経路、送達形式、および所望の投薬量に依存して決定される。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，前出を参照のこと。このような組成物は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の、物理的な状態、安定性、インビボ放出の速度、およびインビボクリアランスの速度に影響し得る。

【０２０３】

薬学的組成物における主要なビヒクルまたはキャリアは、本来水性または非水性のいずれかであり得る。例えば、注入のための適切なビヒクルまたはキャリアは、水、生理学的な生理食塩水溶液、または人工脳脊髄液であり、おそらく非経口投与のための組成物において一般的な他の材料で補充されている。中性の緩衝化生理食塩水または血清アルブミンと混合された生理食塩水は、さらなる例示的

なビヒクルである。他の例示的な薬学的組成物は、約ｐＨ７．０－８．５のＴｒｉｓ緩衝液または約ｐＨ４．０－５．５の酢酸塩緩衝液を含み、これはさらに、ソルビトールまたは適切な置換物を含み得る。本発明の１つの実施形態において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド組成物は、所望の程度の純度を有する選択された組成物を、任意の処方薬剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，前出）と混合することによって、凍結乾燥ケークまたは水溶液の形態で、保存のために調製され得る。さらに、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産物は、スクロースのような適切な賦形剤を使用して凍結乾燥物として処方され得る。

【０２０４】

このＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物は、非経口送達のために選択され得る。あるいは、これらの組成物は、吸入または消化管を介する送達（例えば、経口的に）のために、選択され得る。このような薬学的に受容可能な組成物の調製は、当該分野の技術内にある。

【０２０５】

処方成分が、投与の部位に受容可能な濃度で存在する。例えば、緩衝液は、生理学的ｐＨまたは多少より低いｐＨ（典型的に、約５～約８のｐＨ範囲内）にこの組成物を維持するために使用される。

【０２０６】

非経口投与が意図される場合、本発明における使用のための治療組成物は、薬学的に受容可能なビヒクルに所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子を含む、発熱物質を含まない非経口的に受容可能な水溶液の形態であり得る。非経口注入のために特に適切なビヒクルは、滅菌蒸留水であり、ここで、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子が、滅菌で、等張溶液として処方され、適切に保存される。なお別の調製は、所望の分子と、薬剤（例えば、注入可能なミクロスフィア、生体侵食（ｂｉｏ－ｅｒｏｄｉｂｌｅ）薬剤、ポリマー化合物（ポリ乳酸またはポリグリコール酸）、ビーズまたはリポソーム）との処方物に関係し、これは、次いで蓄積注射を介して送達され得る産物の制御されたまたは持続された放出を提供し得る。ヒアルロン酸がまた、使用され得、そしてこれは、循環において、維持された持続時間を促進する

効果を有し得る。所望の分子の導入のための他の適切な手段は、移植可能な薬物送達デバイスを含む。

【０２０７】

１つの実施形態において、薬学的組成物は、吸入のために処方され得る。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、吸入のための乾燥粉末として処方され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたは核酸分子の吸入溶液はまた、エアロゾル送達のための噴霧体と共に処方され得る。なお別の実施形態において、溶液は、噴霧され得る。肺投与が、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９４／２００６９にさらに記載され、これは化学的に改変されたタンパク質の肺送達を記載する。

【０２０８】

特定の処方物が、経口投与され得ることがまた意図される。本発明の１つの実施形態において、このよう様式で投与されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、固体投薬形態（例えば、錠剤またはカプセル）の調合において慣用的に使用されるキャリアを伴うか、または伴わず処方され得る。例えば、カプセルは、バイオアベイラビリティーが最大化され、そして前全身分解が最小化される場合、胃腸管内で処方物の活性部分を放出するように設計され得る。さらなる薬剤が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの吸収を容易にするために含まれ得る。希釈剤、味付け剤、低融点ワックス、植物油、潤滑剤、懸濁剤、錠剤崩壊剤、およびバインダーがまた、使用され得る。

【０２０９】

別の薬学的組成物は、錠剤の製造に適切な非毒性賦形剤との混合物中に、有効量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含み得る。錠剤を滅菌水または別の適切なビヒクルに溶解することによって、溶液が、単位用量形態で調製され得る。適切な賦形剤は以下を含むが、これらに限定されない：不活性な希釈剤（炭酸カルシウム、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウム、ラクトース、あるいはリン酸カルシウム）；または結合剤（例えば、デンプン、ゼラチンまたはアラビアゴム）；あるいは潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク）。

【０２１０】

さらなるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物は、当業者に明らかであり、持続または制御送達処方物中にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含む処方物を含む。種々の他の持続または制御送達手段（例えば、リポソームキャリア、生体侵食マイクロスフィアあるいは多孔性ビーズおよび蓄積注射）を処方するための技術はまた、当業者に公知である。例えば、ＰＣＴ／ＵＳ９３／００８２９（これは、薬学的組成物の送達のための多孔性ポリマー性ミクロ粒子の制御放出を記載する）を参照のこと。

【０２１１】

徐放性調製物のさらなる例としては、成形された物品の形態（例えば、フィルム、またはマイクロカプセル）の半透過性ポリマーマトリックスを含む。徐放性マトリックスとしては、ポリエステル、ヒドロゲル、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号および欧州特許第０５８４８１号）、Ｌ－グルタミン酸とγエチル－Ｌ－グルタメートとのコポリマー（Ｓｉｄｍａｎら，１９８３，Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ　２２：５４７－５６）、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）（Ｌａｎｇｅｒら，１９８１，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．１５：１６７－２７７およびＬａｎｇｅｒ，１９８２，Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．１２：９８－１０５）、エチレンビニルアセテート（Ｌａｎｇｅｒら，前出）またはポリ－Ｄ（－）－３－ヒドロキシ酪酸（欧州特許第１３３９８８号）。徐放性組成物はまた、リポソームを含み得、これは、当該分野で公知のいくつかの方法のいずれかによって調製され得る。例えば、Ｅｐｐｓｔｅｉｎら，１９８５，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８２：３６８８－９２；および欧州特許第０３６６７６号、同第０８８０４６号、および同第１４３９４９号を参照のこと。

【０２１２】

インビボ投与のために使用されるＩＬ－１ｒａ－Ｒの薬学的組成物は、代表的に滅菌でなければならない。このことは、滅菌濾過膜を介する濾過によって達成され得る。組成物が、凍結乾燥される場合、この方法を使用する滅菌は、凍結乾燥および再構成の前に、またはそれに続いてのいずれかで実施され得る。非経口投与のための組成物は、凍結乾燥された形態または溶液で保存され得る。さらに

、非経口組成物は、一般に、滅菌アクセスポートを有する容器（例えば、静脈内溶液バッグまたは皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアル）内に配置される。

【０２１３】

一旦、薬学的組成物が処方されると、それは、滅菌バイアル中に溶液、懸濁液、ゲル、エマルジョン、固体、または脱水和粉末または凍結乾燥粉末として保存され得る。このような処方物は、すぐに使用できる形態または投与の前に再構成を必要とする形態（凍結乾燥された形態）のいずれかで保存され得る。

【０２１４】

特定の実施形態において、本発明は、単一用量投与単位を生成するためのキットに関する。このキットは、各々、乾燥タンパク質を有する第一の容器および水性処方物を有する第二の容器の両方を含み得る。また、本発明の範囲内には、単一および多チャンバーの予め充填されたシリンジ（例えば、液体シリンジおよび分散シリンジ（ｌｙｏｓｙｒｉｎｇｅ））を含むキットが含まれる。

【０２１５】

治療的に使用されるＩＬ－１ｒａ－Ｒの薬学的組成物の有効量は、例えば、治療の内容および目的に依存する。当業者は、処置のための適切な投薬レベルが、従って、送達される分子、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子が使用されている指標、投与の経路、および患者のサイズ（体重、体表面、または器官の大きさ）および状態（年齢および一般的な健康）に、部分的に依存して変化することを理解する。従って、臨床家は、最適な治療効果を得るために、投薬量を力価決定し（ｔｉｔｅｒ）、投与経路を改変し得る。代表的な投薬量は、上記の因子に依存して、約０．１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇ以上までの範囲であり得る。他の実施形態において、投薬量は、０．１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまで；または１μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまで；または５μｇ／ｋｇ～約１００ｍｇ／ｋｇまでの範囲であり得る。

【０２１６】

投薬の頻度は、使用される処方物中でのＩＬ－１ｒａ－Ｒ分子の薬物動態学のパラメーターに依存する。典型的に、臨床家は、所望の効果を達成する投薬量に

達するまで組成物を投与する。組成物は、従って、組成物が、経時的な単一用量として、２以上の用量（これは、同量の所望の分子を含んでも、含まなくてもよい）として、あるいは移植デバイスまたはカテーテルを介する連続的な注入として、投与され得る。適切な投薬量のさらなる改良は、当業者によって慣用的になされ、そしてそれらによって慣用的に実施される課題の範囲内である。適切な投薬量は、適切な用量－応答データの使用を介して確認され得る。

【０２１７】

薬学的組成物の投与の経路は、例えば、以下のような公知の方法と一致する：経口的に；静脈内、腹腔内、脳内（実質内の）、脳室内、筋肉内、眼内、動脈内、門脈内、または病巣内の経路による注入を介して；徐放性系によって；または移植デバイスによって。所望される場合、これらの組成物は、ボーラス注射によって投与され得るか、または注入によって連続的に投与され得るか、または移植デバイスによって投与され得る。

【０２１８】

あるいはまたはさらに、組成物は、その上に所望の分子が吸収されるかまたはカプセル化される膜、スポンジ、または他の適切な材料の移植を介して局所的に投与され得る。移植デバイスが使用される場合、このデバイスは、任意の適切な組織または器官に移植され得、そして所望の分子の送達は、拡散、時限放出ボーラスまたは連続的な投与を介し得る。

【０２１９】

いくつかの場合において、エキソビボ様式において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物を使用することが所望され得る。このような例において、患者から除去された細胞、組織、または器官は、これらの細胞、組織、または器官が引き続いて患者に移植して戻された後にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬学的組成物に曝露される。

【０２２０】

他の場合において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、本明細書中に記載される方法を使用して、遺伝的に操作されて、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現および分泌する特定の細胞を移植することによって送達され得る。このような細

胞は、動物またはヒト細胞であり得、そして自己、異種、または外因性の細胞であり得る。必要に応じて、細胞は、不死化され得る。免疫学的応答の機会を減少するために、細胞は、周囲の組織の浸潤を回避するために、カプセル化され得る。カプセル化材料は、典型的に、生体適合性の半浸透性ポリマー性包囲物または膜であり、これらは、タンパク質産物の放出を可能にするが、患者の免疫系または周囲の組織からの他の有害な因子による細胞の破壊を防止する。

【０２２１】

本明細書中において議論されるように、単離された細胞集団（例えば、幹細胞、リンパ球、赤血球、軟骨細胞、ニューロンなど）を１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドで処理することが、望ましくあり得る。このことは、このポリペプチドが細胞膜に対して透過性の形態である場合には、単離された細胞をこのポリペプチドに直接曝露することによって達成され得る。

【０２２２】

本発明のさらなる実施形態は、治療ポリペプチドのインビトロ産生と、遺伝子治療または細胞治療による治療ポリペプチドの産生および送達との両方のための、細胞および方法（例えば、相同組換えおよび／または他の組換え産生方法）に関する。相同組換えおよび他の組換えの方法を使用して、通常は転写に対してサイレントなＩＬ－１ｒａ－R遺伝子（すなわち、過少発現される遺伝子）を含む細胞を改変し得、これによって、治療有効量のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを発現する細胞を産生し得る。

【０２２３】

相同組換えは、もともとは、遺伝子を標的化して転写活性な遺伝子における変異を誘導するか、または修正するために開発された技術である。Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉ，１９８９，Ｐｒｏｇ．ｉｎ Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．＆ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．３６：３０１。基本的な技術が、特定の変異を哺乳動物ゲノムの特定の領域に導入するため（Ｔｈｏｍａｓら、１９８６，Ｃｅｌｌ ４４：４１９－２８；ＴｈｏｍａｓおよびＣａｐｅｃｃｈｉ，１９８７，Ｃｅｌｌ ５１：５０３－１２；Ｄｏｅｔｓｃｈｍａｎら、１９８８，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８５：８５８３－８７）、または欠損遺伝子にお

ける特定の変異を修正するため（Ｄｏｅｔｓｃｈｍａｎら、１９８７，Ｎａｔｕｒｅ　３３０：５７６－７８）の方法として、開発された。例示的な相同組換え技術は、米国特許第５，２７２，０７１号；欧州特許第９１９３０５１号および同第５０５５００号；ＰＣＴ／ＵＳ９０／０７６４２、ならびにＰＣＴ公開番号ＷＯ　９１／０９９５５）に記載されている。

【０２２４】

相同組換えによって、ゲノムに挿入されるべきＤＮＡ配列は、このＤＮＡ配列に標的化ＤＮＡを結合することによって、目的の遺伝子の特定の領域に指向され得る。この標的化ＤＮＡは、ゲノムＤＮＡの領域に相補的（相同）であるヌクレオチド配列である。ゲノムの特定の領域に対して相補的な標的化ＤＮＡの小さな断片は、ＤＮＡ複製プロセスの間に親鎖と接触される。これは、細胞に挿入されて、共有される相同領域を介して内因性ＤＮＡの他の断片とハイブリダイズし、そして従って、その内因性ＤＮＡの他の断片と組み換わる、ＤＮＡの一般的特性である。この相補鎖に、変異または異なる配列あるいはさらなるヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドが結合される場合には、このオリゴヌクレオチドもまた、この組換えの結果としてその新たに合成された鎖に組み込まれる。プルーフリーディング機能の結果として、ＤＮＡのこの新たな配列がテンプレートとして働くことが可能である。従って、この移入されたＤＮＡは、ゲノムに組み込まれる。

【０２２５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用し得るかまたはその発現を制御し得るＤＮＡの領域（例えば、隣接配列）に、標的化ＤＮＡのこれらの断片を結合する。例えば、プロモーター／エンハンサーエレメント、サプレッサ、または外因性転写調節エレメントが、意図される宿主細胞のゲノムにおいて、所望のＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡの転写に影響を与えるに十分な近接性および方向で、挿入される。制御エレメントは、この宿主細胞ゲノムに存在するＤＮＡの一部を制御する。従って、所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子自体をコードするＤＮＡのトランスフェクションによってではなく、むしろ、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写のための認識可能な

シグナルを有する内因性遺伝子配列を提供するＤＮＡ調節セグメントと結合した標的化ＤＮＡ（目的の内因性遺伝子と相同の領域を含む）の使用によって、達成され得る。

【０２２６】

例示的な方法において、細胞における所望の標的遺伝子（すなわち、所望の内因性細胞遺伝子）の発現は、予め選択された部位における細胞ゲノムへの相同組換えを介して、少なくとも調節配列、エキソン、およびスプライスドナー部位を含むＤＮＡの導入によって、変更される。これらの構成成分は、新たな転写単位の産生を実際に生じるような様式で、染色体（ゲノム）ＤＮＡに導入される（ここで、ＤＮＡ構築物に存在する調節配列、エキソン、およびスプライスドナー部位は、内因性遺伝子に作動可能に連結される）。染色体ＤＮＡへのこれらの構成成分の導入の結果として、所望の内因性遺伝子の発現が変化する。

【０２２７】

本明細書中で記載されるように、変化された遺伝子発現は、得られたままの細胞において通常にはサイレントな（発現されていない）遺伝子を活性化すること（または発現させること）、ならびに得られたままの細胞において生理学的に有意なレベルでは発現されない遺伝子の発現を増加させることを包含する。この実施形態はさらに、調節または誘導のパターンを変化させる工程を包含し、その結果、このパターンは、得られたままの細胞において生じる調節または誘導のパターンとは異なり、そしてその得られたままの細胞において発現される遺伝子の発現を減少（排除を含む）させる。

【０２２８】

細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの産生を増加するかまたはこれを引き起こすために相同組換えが使用され得る、１つの方法は、最初に、相同性組換えを使用して、部位特異的組換え系由来の組換え配列（例えば、Ｃｒｅ／ｌｏｘＰ、ＦＬＰ／ＦＲＴ）（Ｓａｕｅｒ，１９９４，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，５：５２１－２；Ｓａｕｅｒ，１９９３，Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．，２２５：８９０－９００）を、その細胞の内在性ゲノムＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域の上流（す

なわち、５’側）に配置する工程を包含する。ゲノムＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置されたこの部位に対して相同性の組換え部位を含むプラスミドは、適切なリコンビナーゼ酵素と共に、その改変された細胞株に導入される。このリコンビナーゼは、このプラスミドを、このプラスミドの組換え部位を介して、この細胞株のゲノムＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域のすぐ上流に位置するその組換え部位に組込む（ＢａｕｂｏｎｉｓおよびＳａｕｅｒ、１９９３，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２１：２０２５－２９；Ｏ’Ｇｏｒｍａｎら、１９９１，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５１：１３５１－５５）。転写を増加させることが知られている任意の隣接配列（例えば、エンハンサー／プロモーター、イントロン、翻訳エンハンサー）は、このプラスミド中に適切に配置される場合、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を生じる、新たなまたは改変された転写単位を作製するような様式で組み込む。

【０２２９】

部位特異的組換え配列が細胞の内在性ゲノムＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドコード領域のすぐ上流に配置された細胞株を使用するさらなる方法は、相同組換えを使用して細胞株のゲノムの他の位置に第２の組換え部位を導入することである。次いで、適切なリコンビナーゼ酵素が、この二組換え部位細胞株に導入され、組換え事象（欠失、反転、および転移）を生じ（Ｓａｕｅｒ，１９９４，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，５：５２１－２７；Ｓａｕｅｒ，１９９３，Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｘｙｍｏｌ．，２２５：８９０－９００）、これは、その細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からの新規なまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生を生じる、新しいかまたは改変された転写単位を作製する。

【０２３０】

細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を増加するため、または引き起こすためのさらなるアプローチは、細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの産生を生じる様式で、遺伝子（単数または複数）（例えば、転写因子

）の発現を増加するかまたは引き起こす工程、および／または遺伝子（単数または複数）（例えば、転写リプレッサー）の発現を減少する工程を包含する。この方法は、天然に存在しないポリペプチド（例えば、転写因子ドメインに融合した部位特異的ＤＮＡ結合ドメインを含むポリペプチド）を、その細胞の内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子からの新たなまたは増加したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの産生が起こるように、細胞に導入する工程を包含する。

【０２３１】

本発明はさらに、標的遺伝子の発現を変化させる方法において有用なＤＮＡ構築物に関する。特定の実施形態において、代表的なＤＮＡ構築物は、以下を含む：（ａ）１つ以上の標的化配列、（ｂ）調節配列、（ｃ）エキソン、および（ｄ）不対スプライスドナー部位。ＤＮＡ構築物中の標的化配列は、細胞中の標的遺伝子へのエレメント（ａ）～（ｄ）の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（ｂ）～（ｄ）が、その内在性標的遺伝子の配列に作動可能に連結される。別の実施形態において、ＤＮＡ構築物は、以下を含む：（ａ）１つ以上の標的化配列、（ｂ）調節配列、（ｃ）エキソン、（ｄ）スプライスドナー部位、（ｅ）イントロン、および（ｆ）スプライスアクセプター部位。ここで、標的化配列は、エレメント（ａ）～（ｆ）の組込みを指向し、その結果、これらのエレメント（ｂ）～（ｆ）が、その内在性遺伝子に作動可能に連結される。この標的化配列は、相同性組換えが生じる細胞染色体ＤＮＡの予め選択された部位に対して相同性である。この構築物において、エキソンは、一般的に、制御配列の３’側であり、そしてスプライスドナー部位は、このエキソンの３’側である。

【０２３２】

特定の遺伝子の配列（例えば、本明細書中で記載されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの核酸配列）が公知である場合、この遺伝子の選択された領域に対して相補的なＤＮＡの断片が、合成され得るか、またはそうでなければ、例えば、目的の領域に結合している特定の認識部位におけるそのネイティブのＤＮＡの適切な制限処理によって得られ得る。この断片は、細胞に挿入された際に、標的化配列として働き、そしてそのゲノム内の相同性領域にハイブリダイズする。このハイブリダイゼーションが、ＤＮＡ複製の間に生じる場合、このＤＮＡの断片およ

びそれに結合した任意のさらなる配列は、岡崎フラグメントとして作用し、そしてＤＮＡの新たに合成された娘鎖に組み込まれる。従って、本発明は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードするヌクレオチドを含み、このヌクレオチドは、標的化配列として使用され得る。

【０２３３】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド細胞治療（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する細胞の移植）もまた企図される。この実施形態は、生物学的に活性な形態のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを合成および分泌し得る細胞を移植する工程を包含する。このようなＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド産生細胞は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの天然の産生者である細胞であり得るか、またはそのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する能力が、所望のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を増大する遺伝子で形質転換することによって増大された、組換え細胞であり得る。このような改変は、遺伝子を送達しそしてその遺伝子の発現および分泌を促進するために適切なベクターによって達成され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを投与されている患者における強力な免疫学的反応を最小化するために、外来種のポリペプチドの投与と共に生じ得る場合、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する天然の細胞が、ヒト起源であり、そしてヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生することが好ましい。同様に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを産生する組換え細胞が、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子を含む発現ベクターで形質転換されることが好ましい。

【０２３４】

移植細胞は、周辺組織の浸潤を回避するようにカプセル化され得る。ヒトまたは非ヒト動物細胞は、生体適合性の半透性ポリマー封入物または膜（これは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの放出を可能にするが、患者の免疫系によるかまたは周辺組織からの他の有害な因子による細胞の崩壊を防止する）の形態で患者に移植され得る。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをエキソビボで産生するように形質転換された患者自身の細胞が、このようなカプセル化なしで、患者に直接移植され得る。

【０２３５】

生きた細胞をカプセル化するための技術は当該分野で公知であり、そしてカプセル化された細胞の調製およびそれらの患者への移植は、慣用的に達成され得る。例えば、Ｂａｅｔｇｅら（ＰＣＴ公開WO９５／０５４５２およびＰＣＴ／ＵＳ９４／０９２９９）は、生物学的に活性な分子の効果的な送達のために遺伝子操作された細胞を含む膜カプセルを記載する。このカプセルは、生体適合性であり、そして容易に回収可能である。このカプセルは、生物学的に活性な分子をコードするＤＮＡ配列を含む組換えＤＮＡ分子でトランスフェクトされた細胞をカプセル化し、このＤＮＡ配列は、哺乳動物宿主に移植された際にインビボで下方制御に供されないプロモーターに作動可能に連結されている。このデバイスは、レシピエント内の特定の部位への生きた細胞由来の分子の送達を提供する。さらに、米国特許第４，８９２，５３８号；同第５，０１１，４７２号；および同第５，１０６，６２７号を参照のこと。生きた細胞をカプセル化するためのシステムは、ＰＣＴ公開WO９１／１０４２５（Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら）に記載される。ＰＣＴ公開WO９１／／１０４７０（Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら）；Ｗｉｎｎら、１９９１，Ｅｘｐｅｒ．Ｎｅｕｒｏｌ．１１３：３２２－２９；Ａｅｂｉｓｃｈｅｒら、１９９１，Ｅｘｐｅｒ．Ｎｅｕｒｏｌ．１１１：２６９－７５；およびＴｒｅｓｃｏら、１９９２，ＡＳＡＩＯ　３８：１７－２３もまた参照のこと。

【０２３６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのインビボおよびインビトロの遺伝子治療送達もまた想定される。遺伝子治療技術の一例は、構成的または誘導性プロモーターに作動可能に連結され得るＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡおよび／または合成ＤＮＡのいずれか）を使用して、「遺伝子治療ＤＮＡ構築物」を形成することである。このプロモーターは、内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子に対してホモ接合性またはヘテロ接合性であり得るが、ただし、これは、構築物が挿入される細胞または組織型において活性である。遺伝子治療ＤＮＡ構築物の他の成分は、必要に応じて、部位特異的組込みのために設計されるＤＮＡ分子（例えば、相同性組換えのために有用な内在性配列）、組織特異的プロモーター、エンハンサーまたはサイレンサー、親

細胞を越える選択的優性を提供し得るＤＮＡ分子、形質転換された細胞を同定するための標識として有用なＤＮＡ分子、ネガティブ選択系、細胞特異的結合因子（例えば、細胞標的化について）、細胞特異的内部移行因子、ベクターからの発現を増大する転写因子、およびベクターの産生を可能にする因子を含み得る。

【０２３７】

遺伝子治療ＤＮＡ構築物は、次いで、ウイルスベクターまたは非ウイルスベクターを使用して細胞に導入され得る（エキソビボまたはインビボのいずれか）。遺伝子治療ＤＮＡ構築物を導入するための１つの方法は、本明細書中に記載されるようなウイルスベクターの使用による。特定のベクター（例えば、レトロウイルスベクター）は、ＤＮＡ構築物を細胞の染色体ＤＮＡに送達し、そしてこの遺伝子は、染色体ＤＮＡに組み込まれ得る。他のベクターは、エピソームとして機能し、そして遺伝子治療ＤＮＡ構築物は、細胞質に残る。

【０２３８】

さらに他の実施形態において、調節エレメントが、標的細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の制御された発現のために含められ得る。このようなエレメントは、適切なエフェクターに応答して刺激される。このようにして、治療的ポリペプチドは、所望の場合に発現され得る。１つの従来の制御手段は、低分子結合ドメインおよび生物学的プロセスを開始し得るドメインを含むキメラタンパク質（例えば、ＤＮＡ結合タンパク質または転写活性タンパク質）を二量化する低分子二量化剤またはラパログ（ｒａｐａｌｏｇ）の使用を包含する（ＰＣＴ公開ＷＯ９６／４１８６５、ＷＯ９７／３１８９８およびＷＯ９７／３１８９９を参照のこと）。タンパク質の二量化は、導入遺伝子の転写を開始するために使用され得る。

【０２３９】

代替の調節技術は、目的の遺伝子から発現されたタンパク質を、凝集体またはクラスターとして細胞の内側に貯蔵する方法を使用する。目的の遺伝子は、小胞体における凝集タンパク質の保持を生じる、条件的凝集ドメインを含む融合タンパク質として発現される。貯蔵されたタンパク質は安定であり、そして細胞の内側で不活性である。しかし、このタンパク質は、条件的凝集ドメインを除去する

薬物（例えば、低分子リガンド）を投与することによって放出され得、それにより、凝集体またはクラスターを破壊し、その結果、このタンパク質は細胞から分泌され得る。Ａｒｉｄｏｒら、２０００，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８７：８１６－１７およびＲｉｖｅｒａら、２０００，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８７：８２６－３０を参照のこと。

【０２４０】

他の適切な制御手段または遺伝子スイッチとしては、本明細書中で記載される系が挙げられるが、これらに限定されない。Ｍｉｆｅｐｒｉｓｔｏｎｅ（ＲＵ４８６）は、プロゲステロンアンタゴニストとして使用される。改変されたプロゲステロンレセプターリガンド結合ドメインのプロゲステロンアンタゴニストへの結合は、２つの転写因子のダイマーを形成することによって、転写を活性化し、次いで、核に至り、ＤＮＡに結合する。このリガンド結合ドメインは、天然のリガンドに結合するレセプターの能力を排除するように改変される。改変されたステロイドホルモンレセプター系はさらに、米国特許第５，３６４，７９１号、ならびにＰＣＴ公開WO９６／４０９１１およびWO９７／１０３３７に記載される。

【０２４１】

さらに別の制御系は、エクジソンレセプター（細胞質レセプター）に結合し、そしてこれを活性化するエクジソン（ショウジョウバエステロイドホルモン）を使用する。次いで、このレセプターは核に転移し、特定のＤＮＡ応答エレメント（エクジソン応答性遺伝子由来のプロモーター）に結合する。エクジソンレセプターは、トランス活性化ドメイン、ＤＮＡ結合ドメイン、およびリガンド結合ドメインを含み、転写を開始する。エクジソン系はさらに、米国特許第５，５１４，５７８、およびＰＣＴ公開WO９７／３８１１７、WO９６／３７６０９、およびWO９３／０３１６２に記載される。

【０２４２】

別の制御手段は、陽性テトラシクリン制御可能トランス活性化因子を使用する。この系は、転写を活性化するポリペプチドに連結された変異したｔｅｔレプレッサタンパク質ＤＮＡ結合ドメイン（逆テトラサイクリン調節トランス活性化因

子タンパク質を生じた変異したｔｅｔＲ－４アミノ酸の変化、すなわち、これは、テトラサイクリンの存在下でｔｅｔオペレーターに結合する）を含む。このような系は、米国特許第５，４６４，７５８号、同第５，６５０，２９８号、および同第５，６５４，１６８号に記載される。

【０２４３】

さらなる発現制御系および核酸構築物は、米国特許第５，７４１，６７９号および同第５，８３４，１８６号（Ｉｎｎｏｖｉｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ Ｉｎｃ．）に記載される。

【０２４４】

インビボ遺伝子治療は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子を、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の局所注射によって、またはその他の適切なウイルスもしくは非ウイルス送達ベクターによって、細胞に導入することにより達成され得る。Ｈｅｆｔｉ，１９９４，Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ２５：１４１８－３５。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸分子は、標的細胞への送達のためのアデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）ベクターに含まれ得る（例えば、Ｊｏｈｎｓｏｎ，ＰＣＴ公開ＷＯ９５／３４６７０；ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＵＳ９５／０７１７８を参照のこと。組換えＡＡＶゲノムは、典型的に、機能的プロモーターに作動可能に連結したＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするＤＮＡ配列およびポリアデニル化配列に隣接するＡＡＶ逆末端反復を含む。

【０２４５】

代替の適切なウイルスベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、レンチウイルス、肝炎ウイルス、パルボウイルス、パポバウイルス、ポックスウイルス、アルファウイルス、コロナウイルス、ラブドウイルス、パラミクソウイルス、および乳頭腫ウイルスベクターが挙げられるがこれらに限定されない。米国特許第５，６７２，３４４号は、組換え神経栄養性ＨＳＶ－１ベクターを含むインビボウイルス媒介遺伝子移入系を記載する。米国特許第５，３９９，３４６号は、治療タンパク質をコードするＤＮＡセグメントを挿入するためにインビトロで処置されたヒト細胞の送達によって、治療タンパク質を患者に提供するためのプロセスの例を提供する。遺伝子治療技術の実施のた

めのさらなる方法および材料は、米国特許第５，６３１，２３６号（アデノウイルスベクターを含む）、同第５，６７２，５１０号（レトロウイルスベクターを含む）、同第５，６３５，３９９号（サイトカインを発現するレトロウイルスベクターを含む）に記載される。

【０２４６】

非ウイルス送達法としては、リポソーム媒介移入、裸のＤＮＡ送達（直接注射）、レセプター媒介送達（リガンド－ＤＮＡ複合体）、エレクトロポレーション、リン酸カルシウム沈降、および微粒子ボンバードメント（例えば、遺伝子銃）が挙げられるが、これらに限定されない。遺伝子治療材料および方法はまた、誘導性プロモーター、組織特異的エンハンサープロモーター、部位特異的組込みのために設計されたＤＮＡ配列、親細胞を越える選択的優性を提供し得るＤＮＡ配列、形質転換された細胞を同定するための標識、ネガティブな選択系および発現制御系（安全性の指標）、細胞特異的結合因子（細胞ターゲッティングのため）、細胞特異的内部移行因子、およびベクターならびにベクター製造の方法による発現を増大する転写因子を含み得る。遺伝子治療技術の実施のためのこのようなさらなる方法および材料は、米国特許第４，９７０，１５４号（エレクトロポレーション技術を含む）、同第５，６７９，５５９号（遺伝子送達のためのリポタンパク質含有系を記載する）、同第５，６７６，９５４号（リポソームキャリアを含む）、同第５，５９３，８７５号（リン酸カルシウムトランスフェクションのための方法を記載する）、および同第４，９４５，０５０同第（生物学的に活性な粒子がある速度で細胞に噴霧され、それによりこの粒子がこの細胞の表面に浸透し、そしてこの細胞の内側に組み込まれるプロセスを記載する）、およびＰＣＴ公開ＷＯ９６／４０９５８（核リガンドを含む）に記載される。

【０２４７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子治療または細胞治療はさらに、同じか異なる細胞（単数または複数）における１つ以上のさらなるポリペプチドの送達を含み得ることもまた企図される。このような細胞は、患者に別々に導入され得るか、この細胞は、単一の移植可能デバイス（例えば、上記のカプセル化膜）に含められ得るか、あるいはこの細胞は、ウイルスベクターによって別々に改変され得る。

【０２４８】

遺伝子治療による細胞における内在性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を増加する手段は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドプロモーターに１つ以上のエンハンサーエレメントを挿入することであり、ここでエンハンサーエレメントは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写活性を増加させるように働き得る。使用されるエンハンサーエレメントは、遺伝子を活性化することを所望する組織に基づいて選択される－エンハンサーエレメントは、組織が選択されるという点で、プロモーター活性化を与えることが知られている。例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子がＴ細胞において「オンに変わる」場合、ｌｃｋプロモーターエンハンサーエレメントが使用され得る。従って、付加される転写エレメントの機能的部分は、標準的なクローニング技術を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドプロモーターを含むＤＮＡのフラグメントに挿入され得る（そして必要に応じて、ベクターおよび／または５’および／または３’隣接配列に挿入される）。「相同性組換え構築物」として公知のこの構築物は、次いで、エキソビボまたはインビボノいずれかで、所望の細胞に導入され得る。

【０２４９】

遺伝子治療はまた、内在性プロモーターのヌクレオチド配列を改変することによって、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を減少するために使用され得る。このような改変は、典型的に、相同性組換え方法によって達成される。例えば、不活性化のために選択されたＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のプロモーターの全てまたは一部を含むＤＮＡ分子は、転写を調節するプロモーターの断片を除去および／または置換するように操作され得る。例えば、プロモーターの転写活性化因子のＴＡＴＡボックスおよび／または結合部位は、標準的な分子生物学的技術を使用して欠失され得；このような欠失は、プロモーター活性を阻害し得、それにより対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子の転写を阻止し得る。プロモーターにおけるＴＡＴＡボックスまたは転写活性化因子結合部位の欠失は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドプロモーター（調節されるＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子と同じかまたは関連の種由来）のすべてまたは関連の部分を含むＤＮＡ構築物を生成することによって達成され得、ここで、１つ以上のＴＡＴＡボックスおよび／または転写活性化因

子結合部位のヌクレオチドは、１つ以上のヌクレオチドの置換、欠失、および／または挿入によって変異される。結果として、ＴＡＴＡボックスおよび／または活性化因子結合部位は、活性を減少するか、または完全に不活性にされる。この構築物（これはまた、典型的に、改変されたプロモーターセグメントに隣接したネイティブの（内在性）５’および３’ＤＮＡ配列に対応する少なくとも約５００塩基のＤＮＡを含む）は、直接かまたは本明細書中に記載されるようなウイルスベクターを介してのいずれかで、適切な細胞に（エキソビボまたはインビボのいずれかで）導入され得る。典型的に、細胞のゲノムＤＮＡへのこの構築物の組込みは、相同性組換えによってであり、ここで、このプロモーター構築物の５’および３’ＤＮＡ配列は、内在性染色体ＤＮＡへのハイブリダイゼーションによって、改変プロモーター領域に一体化するのを助け得る。

【０２５０】

（治療的用途）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにそれらのアゴニストおよびアンタゴニストは、多数の疾患、障害または状態（本明細書中で引用されるものを含む）を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。

【０２５１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドアゴニストおよびアンタゴニストは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド活性を調節し、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの成熟形態の少なくとも１つの活性を増加または減少するそれらの分子を含む。アゴニストまたはアンタゴニストは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドと相互作用し、それによりその活性を調節する補因子（例えば、タンパク質、ペプチド、炭水化物、脂質または低分子量分子）であり得る。強力なポリペプチドアゴニストまたはアンタゴニストは、タンパク質の細胞外ドメインの一部または全てを含むＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの可溶性または膜結合形態のいずれかと反応する抗体を含む。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現を調節する分子は、典型的に、発現のアンチセンス制御因子として働き得るＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする核酸を含む。

【０２５２】

例えば、本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストは、免疫系不全を含む、疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：リウマチ様動脈炎、乾癬性関節炎、炎症性関節炎、変形性関節症、炎症性関節疾患、自己免疫疾患（自己免疫脈管炎を含む）、多発性硬化症、狼瘡、糖尿病（例えば、インスリン糖尿病）、炎症性腸疾患、移植拒絶、移植片対宿主疾患、および骨折、捻挫、軟骨損傷、外傷、整形手術、感染または他の疾患プロセスから生じる炎症状態。免疫系の不全によって影響を受ける他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５３】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、感染を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：らい病、ウイルス感染（例えば、肝炎またはＨＩＶ）、細菌感染（例えば、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ関連疾患、ｃｌｏｓｔｒｉｕｍ関連下痢を含む）、肺結核、急性熱性疾患、熱、肝臓の急性期反応、敗血症または敗血症ショック。感染を含む他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５４】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、体重障害を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：肥満、食欲不振、悪液質（ＡＩＤＳ誘発性悪液質を含む）、筋障害（例えば、敗血症における筋肉タンパク質代謝）、および低血糖症。体重障害を含む他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５５】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、神経機能不全を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以

下が挙げられるが、これらに限定されない：アルツハイマー病、パーキンソン病、神経毒性（例えば、ＨＩＶによって誘発されるような）、ＡＬＳ、脳損傷、ストレス、うつ病、痛覚および他の疼痛（癌関連疼痛を含む）、痛覚過敏、癲癇、学習障害および記憶障害、睡眠障害、ならびに末梢神経障害および中枢神経障害。他の神経学的障害は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５６】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、肺を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：急性もしくは慢性肺損傷（間質性肺疾患を含む）、急性呼吸疾患症候群、肺高血圧症、気腫、嚢胞性線維症、肺性線維症、および喘息。肺の他の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５７】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、皮膚を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：乾癬、湿疹および創傷治癒。他の皮膚の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５８】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、腎臓を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：急性および慢性糸球体腎炎。他の腎臓の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２５９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、骨を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：骨粗鬆症、変形性関節症、骨形成不全症、パジ

ェット病、歯周疾患、一時性顎関節疾患、および高カルシウム血症。他の骨の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６０】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、血管系を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：出血または発作、出血性ショック、虚血（心臓虚血および大脳虚血、例えば、外傷、癲癇、出血または発作の結果としての脳損傷（これらの各々は、神経変性を生じ得る）を含む）、アテローム性動脈硬化症、うっ血性心不全、再狭窄、再灌流障害、および新脈管形成。他の血管系の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６１】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、腫瘍細胞を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：リンパ腫、骨肉腫、慢性および急性骨髄性白血病（ＣＭＬおよびＡＭＬ）、および他の白血病、多発性骨髄腫、肺癌、乳癌、腫瘍転移、および放射線治療の副作用。他の腫瘍細胞を含む疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６２】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、生殖器系を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復または予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：不妊症、流産、早期分娩および早期産、ならびに子宮内膜症。他の生殖器系を含む疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６３】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、眼を含む疾患、障害または状態を処置、診断、回復ま

たは予防するために使用され得る。このような疾患の例としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：炎症性眼疾患（例えば、角膜移植に関連し得る）、網膜変性、失明、黄斑変性、緑内障、ブドウ膜炎、および網膜ニューロパシー。他の眼の疾患は、本発明の範囲内に包含される。

【０２６４】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子、ポリペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストはまた、疾患（例えば、急性膵炎、慢性疲労症候群、線維素血症、および川崎病（ＭＬＮＳ））を処置するために使用され得る。

【０２６５】

ＩＬ－１インヒビターは、ＩＬ－１に対する細胞性レセプターの活性化を特異的に防止し得る任意のタンパク質を含み、これは、多くの機構から生じ得る。このような機構は、ＩＬ－１産生のダウンレギュレーション、遊離ＩＬ－１の結合、ＩＬ－１のそのレセプターへの結合の妨害、ＩＬ－１レセプター複合体の形成（すなわち、ＩＬ－１レセプター補助タンパク質とのＩＬ－１レセプターの結合）の妨害、およびＩＬ－１のそのレセプターへの結合後のシグナル伝達の調節の妨害を含む。このようなインターロイキン－１インヒビターとしては、以下が挙げられる：本明細書中に記載されるような、ＩＬ－１ｒａ－Ｒのようなインターロイキン－１レセプターアンタゴニスト、抗ＩＬ－１レセプターモノクローナル抗体（例えば、欧州特許第６２３６７４号）、可溶性ＩＬ－１レセプターのようなＩＬ－１結合タンパク質（例えば、米国特許第５，４９２，８８８号、同第５，４８８，０３２号、同第５，４６４，９３７号、同第５，３１９，０７１号、および同第５，１８０，８１２号）、抗ＩＬ－１モノクローナル抗体（例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９５／０１９９７、ＷＯ９４／０２６２７、ＷＯ９０／０６３７１；米国特許第４，９３５，３４３号；および欧州特許第３６４７７８号、同第２６７６１１号および同第２２００６３号）、ＩＬ－１レセプター補助タンパク質およびそれらに対する抗体（例えば、ＰＣＴ公開番号ＷＯ９６／２３０６７）；インターロイキン－１β変換酵素（ＩＣＥ）またはカスパーゼＩのインヒビター（これを使用して、ＩＬ－１βの産生および分泌を阻害し得る）、インターロイキン－１βプロテアーゼインヒビター、ならびにＩＬ－１のインビボ合成

または細胞外放出を遮断する他の化合物およびタンパク質。

【０２６６】

例示的なＩＬ－１インヒビターは、以下において開示される：米国特許第５，７４７，４４４号、同第５，３５９，０３２号、同第５，６０８，０３５号、同第５，８４３，９０５号、同第５，３５９，０３２号、同第５，８６６，５７６号、同第５，８６９，６６０号、同第５，８６９，３１５号、同第５，８７２，０９５号、同第５，９５５，４８０号；ＰＣＴ公開番号WO９８／２１９５７、WO９６／０９３２３、WO９１／１７１８４、WO９６／４０９０７、WO９８／３２７３３、WO９８／４２３２５、WO９８／４４９４０、WO９８／４７８９２、WO９８／５６３７７、WO９９／０３８３７、WO９９／０６４２６、WO９９／０６０４２、WO９１／１７２４９、WO９８／３２７３３、WO９８／１７６６１、WO９７／０８１７４、WO９５／３４３２６、WO９９／３６４２６、およびWO９９／３６４１５；欧州特許第５３４９７８号および同第８９４７９５；ならびに仏国特許出願ＦＲ　２７６２５１４。

【０２６７】

インターロイキン－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａ）は、インターロイキン－１の天然のインヒビターとして作用するヒトタンパク質である。好ましいレセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ｒａならびにその改変体および誘導体を含む）、ならびに、その作成方法および使用方法は、米国特許第５，０７５，２２２号；ＰＣＴ公開番号WO９１／０８２８５、WO９１／１７１８４、WO９２／１６２２１、WO９３／２１９４６、WO９４／０６４５７、WO９４／２１２７５、WO９４／２１２３５、WO９４／２０５１７、WO９６／２２７９３、WO９７／２８８２８およびWO９９／３６５４１；豪国特許第ＡＵ９１７３６３６号；仏国特許第ＦＲ　２７０６７７２号；ならびに独国特許第ＤＥ　４２１９６２６号に記載される。このようなタンパク質には、グリコシル化ＩＬ－１レセプターアンタゴニストおよび非グリコシル化ＩＬ－１レセプターアンタゴニストが含まれる。

【０２６８】

具体的には、ＩＬ－１ｒａおよびその改変体の３つの代表的な形態が、５，０

７５，２２２特許に開示されかつ記載される。これらのうち１つ目は、「ＩＬ－１ｉ」と呼ばれ、Ｔｒｉｓ緩衝液（ｐＨ７．６）中の約５２ｍＭ　ＮａＣｌにてＭｏｎｏＱ　ＦＰＬＣカラムから溶出する、およそ４．８の等電点を有する、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにおける２２～２３ｋＤの分子として特徴付けられる。２番目（ＩＬ－１ｒａβ）は、４８ｍＭ　ＮａＣｌでＭｏｎｏＱカラムから溶出する、２２～２３ｋＤのタンパク質として特徴付けられる。ＩＬ－１ｒａαおよびＩＬ－１ｒａβの両方がグリコシル化される。３番目（ＩＬ－１ｒａχ）は、４８ｍＭ　ＮａＣｌでＭｏｎｏＱカラムから溶出する、２０ｋＤのタンパク質として特徴付けられ、そしてグルコシル化されていない。米国特許第５，０７５，２２２号はまた、これらのインヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、この遺伝子を適切なベクターおよび細胞型でクローン化するための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてこれらのインヒビターを産生するための方法を開示する。

【０２６９】

欠失、挿入および置換の多くの組合せ（本明細書中では個々にまたは集合的に「改変体（単数または複数）」）が、ＩＬ－１ｒａ－Ｒのアミノ酸配列内で成され得、但し、得られる分子は、生物学的に活性である（例えば、本明細書中に記載されるような疾患および障害の１つ以上に影響を及ぼす能力を有する）ことを、当業者は認識する。

【０２７０】

本発明により意図されるように、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、他の治療に対する補助物として、そしてまた処置される適応症に適切な他の薬学的組成物と共に投与され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、および１つ以上の更なる治療または薬学的処方のうちのいずれかが、別々にか、続けてか、または同時に投与され得る。

【０２７１】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に記載される疾患および障害の処置または予防のための１つ以上のＴＮＦインヒビターのいずれかと組合わせた（前処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に

関する。

【０２７２】

このようなＴＮＦインヒビターとしては、ＴＮＦのインビボ合成または細胞外放出を遮断する化合物およびタンパク質が挙げられる。特定の実施形態において、本発明は、以下の１つ以上のＴＮＦインヒビターのいずれかと組合わせた（前処置、処置後、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する：ＴＮＦ結合タンパク質（本明細書中で定義されるような、可溶性ＴＮＦレセプターＩ型および可溶性ＴＮＦレセプターＩＩ型（「ｓＴＮＦＲ」）、抗ＴＮＦ抗体、顆粒球コロニー刺激因子、サリドマイド、ＢＮ　５０７３０、テニダプ（ｔｅｎｉｄａｐ）、Ｅ　５５３１、チアパファント（ｔｉａｐａｆａｎｔ）ＰＣＡ　４２４８、ニメスリド（ｎｉｍｅｓｕｌｉｄｅ）、パナビル（ｐａｎａｖｉｒ）、ロリプラム（ｒｏｌｉｐｒａｍ）、ＲＰ　７３４０１、ペプチドＴ、ＭＤＬ　２０１，４４９Ａ、（１Ｒ，３Ｓ）－Ｃｉｓ－１－［９－（２，６－ジアミノプリニル）］－３－ヒドロキシ－４－シクロペンテン塩酸塩、（１Ｒ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－（９－（２，６－ジアミノ）プリン］－３－アセトキシシクロペンタン、（１Ｒ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－［９－アデニル）－３－アジドシクロペンタン塩酸塩および（１Ｒ，３Ｒ）－ｔｒａｎｓ－１－（６－ヒドロキシ－プリン－９－イル）－３－アジドシクロ－ペンタン。ＴＮＦ結合タンパク質は、当該分野で開示される（米国特許第５，１３６，０２１号；欧州特許第３０８３７８号、同第４２２３３９号、同第３９３４３８号、同第３９８３２７号、同第４１２４８６号、同第４１８０１４号、同第４３３９００号、同第４６４５３３号、同第５１２５２８号、同第５２６９０５号、同第５６８９２８号、同第４１７５６３号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ９０／１３５７５、ＷＯ９１／０３５５３、ＷＯ９２／０１００２、ＷＯ９２／１３０９５、ＷＯ９２／１６２２１、ＷＯ９３／０７８６３、ＷＯ９３／２１９４６、ＷＯ９３／１９７７７、ＷＯ９４／０６４７６、ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＵＳ９７／１２２４４；英国特許第ＧＢ　２２１８１０１号および同第２２４６５６９号；ならびに日本国特許出願第ＪＰ１２７，８００／１９９１）。

【０２７３】

例えば、欧州特許第３９３４３８号および同第４２２３３９号は、可溶性ＴＮＦレセプターＩ型（「ｓＴＮＦＲ－Ｉ」または「３０ｋＤａ　ＴＮＦインヒビター」としても公知）および可溶性ＴＮＦレセプターＩＩ型（「ｓＴＮＦＲ－ＩＩ」または「４０ｋＤａ　ＴＮＦインヒビター」としても公知）（集合的に「ｓＴＮＦＲ」と称する）ならびにその改変形態（例えば、フラグメント、機能的誘導体、および改変体）のアミノ酸配列および核酸配列を教示する。欧州特許第３９３４３８号および同第４２２３３９号はまた、インヒビターのコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローニングするための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。さらに、ｓＴＮＦＲ－ＩおよびｓＴＮＦＲ－ＩＩの多価形態（すなわち、１より多くの活性部分を含む分子）もまた開示された。１つの実施形態において、多価形態は、少なくとも１つのＴＮＦインヒビターおよび別の部分を、任意の臨床的に受容可能なリンカー（例えば、ポリエチレングリコール）と化学的にカップリングすることにより（ＰＣＴ公開番号ＷＯ９２／１６２２１およびＷＯ９５／３４３２６）、ペプチドリンカーにより（Ｎｅｖｅら、１９９６、Ｃｙｔｏｋｉｎｅ、８：３６５－７０）、ビオチンへの化学的カップリングおよび次いでアビジンへの結合（ＰＣＴ公開番号ＷＯ９１／０３５５３）により、そして最後に、キメラ抗体分子を組合わせることにより（米国特許第５，１１６，９６４号；ＰＣＴ公開番号ＷＯ８９／０９６２２およびＷＯ９１／１６４３７；ならびに欧州特許第３１５０６２号）構築され得る。

【０２７４】

抗ＴＮＦ抗体としては、以下が挙げられる：ＭＡＫ　１９５Ｆ　Ｆａｂ抗体（Ｈｏｌｌｅｒら、１９９３、１ｓｔ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｓｙｍｐｏｓｉｕｍ　ｏｎ　Ｃｙｔｏｋｉｎｅｓ　ｉｎ　Ｂｏｎｅ　Ｍａｒｒｏｗ　Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ　１４７）、ＣＤＰ　５７１抗ＴＮＦモノクローナル抗体（Ｒａｎｋｉｎら、１９９５、Ｂｒ．　Ｊ．　Ｒｈｅｕｍａｔｏｌ．、３４：３３４－４２）、ＢＡＹ　Ｘ　１３５１マウス抗腫瘍壊死因子モノクローナル抗体（Ｋｉｅｆｔら、１９９５，７ｔｈ　Ｅｕｒｏｐｅａｎ　Ｃｏｎｇｒｅｓｓ　ｏｆ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｉｎｆｅｃｔ

ｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅｓ 9）；ＣｅｎＴＮＦ ｃＡ2抗ＴＮＦモノクローナル抗体（Ｅｌｌｉｏｔｔら、１９９４、Ｌａｎｃｅｔ、３４４：１１２５－２７；Ｅｌｌｉｏｔｔら、１９９４、Ｌａｎｃｅｔ、３４４：１１０５－１０）。

【０２７５】

特定の実施形態において、本発明は、分泌または可溶性のヒトｆａｓ抗原またはその組換えバージョン（ＰＣＴ公開番号ＷＯ９６／２０２０６；Ｍｏｕｎｔｚら、１９９５、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５５：４８２９－３７；および欧州特許第５１０６９１号）と組合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＰＣＴ公開番号ＷＯ９６／２０２０６は、分泌ヒトｆａｓ抗原（ネイティブおよび組換え（Ｉｇ融合タンパク質を含む））、可溶性組換えヒトｆａｓ抗原のコードの原因である遺伝子を単離するための方法、適切なベクターおよび細胞型でこの遺伝子をクローン化するための方法、ならびにこの遺伝子を発現させてインヒビターを産生するための方法を開示する。欧州特許第５１０６９１号は、ヒトｆａｓ抗原（可溶性ｆａｓ抗原を含む）をコードする核酸、この核酸を発現するためのベクター、およびこのベクターでトランスフェクトされた形質転換体を教示する。非経口的に投与される場合、分泌または可溶性のｆａｓ抗原融合タンパク質の用量は、それぞれ一般的に、約１μｇ／ｋｇ～約１００μｇ／ｋｇである。

【０２７６】

本明細書中に列挙される疾患および障害（リウマチ性疾患のような急性および慢性の炎症を含む）の現在の処置は、一般的に、疼痛および炎症の制御のための第１の系統の薬物の使用を包含し；これらの薬物は、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）として分類される。二次的な処置は、コルチコステロイド（遅効性の抗リウマチ薬（ＳＡＡＲＤ）、または疾患改善（ＤＭ）薬を含む。以下の化合物に関する情報は、Ｔｈｅ Ｍｅｒｃｋ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ （第１６版、１９９２）およびＰｈａｒｍａｐｒｏｊｅｃｔｓ（ＰＪＢ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎｓ Ｌｔｄ）に見出され得る。

【０２７７】

特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に列挙される疾患および障害（リウマチ性疾患のような急性および慢性の炎症ならびに移植片対宿主病を含む）の処置のためのＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドおよび１以上のＮＳＡＩＤのいずれかの使用に関する。ＮＳＡＩＤは、その抗炎症性作用が、少なくとも部分的に、プロスタグランジン合成の阻害による（ＧｏｏｄｍａｎおよびＧｉｌｍａｎ、Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｂａｓｉｓ　ｏｆ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ（第7版、１９８５））。ＮＳＡＩＤは、以下の少なくとも９つのグループに特徴付けられ得る：（１）サリチル酸誘導体、（２）プロピオン酸誘導体、（３）酢酸誘導体、（４）フェナム酸誘導体、（５）カルボン酸誘導体、（６）酪酸誘導体、（７）オキシカム類、（８）ピラゾール類、および（９）ピラゾロン類。

【０２７８】

別の特定の実施形態にいおいて、本発明は、１つ以上のサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。このようなサリチル酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセトアミノザロール（ａｃｅｔａｍｉｎｏｓａｌｏｌ）、アロキシプリン（ａｌｏｘｉｐｒｉｎ）、アスピリン、ベノリレート（ｂｅｎｏｒｙｌａｔｅ）、ブロモサリゲニン、アセチルサリチル酸カルシウム、コリンマグネシウムトリサリチレート、サリチル酸マグネシウム、コリンサリチレート、ジフルシナル（ｄｉｆｌｕｓｉｎａｌ）、エテルサレート（ｅｔｅｒｓａｌａｔｅ）、フェンドサール（ｆｅｎｄｏｓａｌ）、ゲンチジン酸、サリチル酸グリコール、イミダゾールサリチレート、リジンアセチルサリチレート、メサラミン、モルホリンサリチレート、１－ナフチルサリチレート、オルサラジン、パルサルミド（ｐａｒｓａｌｍｉｄｅ）、アセチルサリチル酸フェニル、サリチル酸フェニル、サラセタミド（ｓａｌａｃｅｔａｍｉｄｅ）、サリチルアミド　Ｏ－酢酸、サルサレート、サリチル酸ナトリウムおよびスルファサラジン。同様の鎮痛特性および抗炎症特性を有する構造的に関連したサリチル酸誘導体もまた、この群に包含されることが意図される。

【０２７９】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のプロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。プロピオン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アルミノプロフェン、ベノキサプロフェン、ブクロクス酸、カルプロフェン、デキスインドプロフェン（ｄｅｘｉｎｄｏｐｒｏｆｅｎ）、フェノプロフェン、フルノキサプロフェン、フルプロフェン、フルルビプロフェン、フルクロプロフェン、イブプロフェン、イブプロフェンアルミニウム、イブプロキサム、インドプロフェン、イソプロフェン、ケトプロフェン、ロキソプロフェン（ｌｏｘｏｐｒｏｆｅｎ）、ミロプロフェン、ナプロキセン、ナプロキセンナトリウム、オキサプロジン、ピケトプロフェン、ピメプロフェン、ピルプロフェン、プラノプロフェン、プロチジン酸、ピリドキシプロフェン（ｐｙｒｉｄｏｘｉｐｒｏｆｅｎ）、スプロフェン、チアプロフェン酸およびチオキサプロフェン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したプロピオン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８０】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上の酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。酢酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アセメタシン、アルクロフェナク、アムフェナク、ブフェキサマック、シンメタシン、クロピラク、デルメタシン（ｄｅｌｍｅｔａｃｉｎ）、ジクロフェナクカリウム、ジクロフェナクナトリウム、エトドラク、フェルビナク、フェンクロフェナク、フェンクロラク、フェンクロジン酸、フェンチアザク、フロフェナク、グルカメタシン、イブフェナック、インドメタシン、イソフェゾラク、イソキセパック、ロナゾラク、メチアジン酸（ｍｅｔｉａｚｉｎｉｃ ａｃｉｄ）、オキサメタシン、オキシピナック（ｏｘｐｉｎａｃ）、ピメタシン、プログルメタシン、スリンダク、タルメタシン、チアラミド、チオピナク、

トルメチン、トルメチンナトリウム、ジドメタシンおよびゾメピラク。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酢酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８１】

別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のフェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。フェナム酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：エンフェナム酸、エトフェナマート、フルフェナム酸、イソニキシン、メクロフェナム酸、メクロフェナム酸ナトリウム、メドフェナム酸（ｍｅｄｏｆｅｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ）、メフェナム酸、ニフルム酸、タルニフルマート、テロフェナマート、トルフェナム酸およびウフェナマート。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したフェナム酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８２】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。使用され得るカルボン酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：クリダナク、ジフルニサル、フルフェニサール、イノリジン（ｉｎｏｒｉｄｉｎｅ）、ケトロラクおよびチノリジン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したカルボン酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８３】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上の酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。酪酸誘導体、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ブマジソン、ブチブフェン、フェンブフェンおよびキセンブシ

ン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した酪酸誘導体もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８４】

別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のオキシカム、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。オキシカム、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：ドロキシカム、エノリカム、イソキシカム、ピロキシカム、スドキシカム、テノキシカムおよび４－ヒドロキシル－１，２－ベンゾチアジン１，１－ジオキシド４－（Ｎ－フェニル）－カルボキサミド。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したオキシカムもまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８５】

なお別の特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のピラゾール、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。使用され得るピラゾール、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は以下を含む：ジフェナミゾールおよびエピリゾール。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したピラゾールもまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８６】

さらなる特定の実施形態において、本発明は、１つ以上のピラゾロン、そのプロドラッグエステル、または薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（前処置、後処置、または同時処置）ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。使用され得るピラゾロン、そのプロドラッグエステル、および薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アパゾン、アザプロパゾン、ベンズピペリロン、フェプラゾン、モフェブタゾン、モラゾン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、ピペブゾン、プロピルフェナゾン、ラミフェナゾン、スキシブゾンおよびチアゾリノブタゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関

連したピラゾロン（ｐｙｒａｚａｌｏｎｅ）もまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８７】

別の特定の実施形態において、本発明は、以下のＮＳＡＩＤの１つ以上のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する：ε－アセトアミドカプロン酸、Ｓ－アデノシルメチオニン、３－アミノ－４－ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン、アニトラザフェン、アントラフェニン、ベンダザック、ベンダザックリジネート（ｂｅｎｄａｚａｃ　ｌｙｓｉｎａｔｅ）、ベンジダミン、ベプロジン（ｂｅｐｒｏｚｉｎ）、ブロペラモール、ブコローム、ブフェゾラク、シプロカゾン、クロキシマート、ダジダミン、デボキサメト、デトミジン、ジフェンピラミド、ジフェンピラミド、ジフィサラミン（ｄｉｆｉｓａｌａｍｉｎｅ）、ジタゾール、エモルファゾン、ファネチゾールメシレート、フェンフルミゾール、フロクタフェニン、フルミゾール、フルニキシン、フルプロカゾン、フォピルトリン（ｆｏｐｉｒｔｏｌｉｎｅ）、フォスフォサル、グアイメサール、グアイアゾレン（ｇｕａｉａｚｏｌｅｎｅ）、イソニキシン（ｉｓｏｎｉｘｉｒｎ）、レフェタミンＨＣｌ、レフルノミド、ロフェミゾール、ロチファゾール、リジンクロニキシネート（ｌｙｓｉｎ　ｃｌｏｎｉｘｉｎａｔｅ）、メセクラゾン、ナブメトン、ニクチンドール、ニメスリド、オルゴテイン、オルパノキシン、オキサセプロール、オキサパドール、パラニリン（ｐａｒａｎｙｌｉｎｅ）、ペリソキサール、クエン酸ペリソキサール、ピフォキシム、ピプロキセン（ｐｉｐｒｏｘｅｎ）、ピラゾラク、ピルフェニドン、プロカゾン、プロキサゾール、チエラビンＢ（ｔｈｉｅｌａｖｉｎ　Ｂ）、チフラミゾール、チメガジン、トレクチン、トルパドール、トリプトアミド（ｔｒｙｐｔａｍｉｄ）および４８０１５６Ｓ、ＡＡ８６１、ＡＤ１５９０、ＡＦＰ８０２、ＡＦＰ８６０、ＡＩ７７Ｂ、ＡＰ５０４、ＡＵ８００１、ＢＰＰＣ、ＢＷ５４０Ｃ、ＣＨＩＮＯＩＮ　１２７、ＣＮ１００、ＥＢ３８２、ＥＬ５０８、Ｆ１０４４、ＦＫ－５０６、ＧＶ３６５８、ＩＴＦ１８２、ＫＣＮＴＥＩ６０９０、ＫＭＥ４、ＬＡ２８５１、ＭＲ７１４、ＭＲ８９７、ＭＹ３０９、ＯＮＯ３１４４、ＰＲ８２３、ＰＶ１０２、ＰＶ１０８、Ｒ８３０、ＲＳ２１３

１、ＳＣＲ１５２、ＳＨ４４０、ＳＩＲ１３３、ＳＰＡＳ５１０、ＳＱ２７２３９、ＳＴ２８１、ＳＹ６００１、ＴＡ６０、ＴＡＩ－９０１（４－ベンゾイル－１－インダンカルボン酸）、ＴＶＸ２７０６、Ｕ６０２５７、ＵＲ２３０１およびＷＹ４１７７０のような会社コード番号によって登録されるようなＮＳＡＩＤ。ＮＳＡＩＤに対して類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＮＳＡＩＤはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８８】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上の副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。副腎皮質ステロイド、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下に由来するヒドロコルチゾンおよび化合物を含む：２１－アセトキシプレグネノロン、アルクロメラゾン、アルゲストン、アムシノニド、ベクロメタゾン、ベタメタゾン、ベタメタゾンバレレート、ブデソニド、クロロプレドニゾロン、クロベタゾール、クロベタゾールプロピオネート、クロベタゾン、クロベタゾンブチレート、クロコルトロン、クロプレドノール、コルチコステロン、コルチゾン、コルチバゾール、デフラザコン、デソニド、デスオキシメラゾン、デキサメタゾン、ジフロラゾン、ジフルコルトロン、ジフルプレドネート、エノキソロン、フルアザコート、フルクロロニド、フルメタゾン、フルメタゾンピバレート、フルシノロンアセトニド、フルニソリド、フルオシノニド、フルオシノロンアセトニド、フルオコルチンブチル、フルオコルトロン、フルオコルトロンヘキサノエート、ジフルコルトロンバレレート、フルオロメトロン、フルペロロンアセテート、フルプレドニデンアセテート、フルプレドニゾロン、フルランデノリド、ホルモコータル、ハルシノニド、ハロメタゾン、ハロプレドンアセテート、ヒドロコルタメート、ヒドロコルチゾン、ヒドロコルチゾンアセテート、ヒドロコルチゾンブチレート、ヒドロコルチゾンホスフェート、ヒドロコルチゾン２１－ナトリウムスクシネート、ヒドロコルチゾンテブテート、マジプ

レドン、メドリゾン、メプレドニゾンメチルプレドニソロン、モメタゾンフロエート、パラメタゾン、プレドニカルベート、プレドニゾロン、プレドニゾロン２１－ジエドリアミノアセテート、プレドニゾロンナトリウムホスフェート、プレドニゾロンナトリウムスクシネート、プレドニゾロンナトリウム２１－ｍ－スルホベンゾエート、プレドニゾロン２１－ステアログリコレート、プレドニゾロンテブテート、プレドニゾロン２１－トリメチルアセテート、プレドニゾン、プレドニバル、プレドニリデン、プレドニリデン２１－ジエチルアミノアセテート、チキソコルトール、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、トリアムシノロンベネトニド、およびトリアムシノロンヘキサアセトニドのようなヒドロコルチゾン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連した副腎皮質コルチコイドはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２８９】

別の特定の実施形態において、本発明は、リウマチ性疾患、対宿主性移植片病、および多発性硬化症のような急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上の遅効性の抗リウマチ性薬物（ＳＡＡＲＤ）または疾患改変抗リウマチ性薬物（ＤＭＡＲＤＳ）、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＳＡＡＲＤまたはＤＭＡＲＤ、プロドラッグエステル、およびその薬学的に受容可能な塩は、以下を含む：アロキュプレイドナトリウム、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アウロチオグリカニド、アザチオプリン、ブレキナール（ｂｒｅｑｕｉｎａｒ）ナトリウム、ブシラミン、カルシウム３－アウロチオ－２－プロパノール－１－スルホネート、クロラムブシル、クロロキン、クロブザリット、キュプロキソリン、シクロホスホアミド、シクロスポリン、ダプソン、１５－デオキシスペルグアリン、ジアセレイン、グルコサミン、金塩（例えば、シクロキン金塩、金ナトリウムチオマレート、金ナトリウムチオスルフェート）、ヒドロキシクロロキン、ヒドロキシクロロキンスルフェート、ヒドロキシ尿素、ケブゾン、レバミゾール、ロベンザリット、メリチン、６－メルカプトプリン、メトトレキセート、ミゾリビン、ミコフェノレートモフェチル（ｍｏｆｅｔｉｌ）

、ミオラル、ナイトロジェン・マスタード、Ｄ－ペニシルアミン、ピリジノール、イミダゾール（例えば、ＳＫＮＦ８６００２およびＳＢ２０３５８０）、ラパマイシン、チオール、サイモポエチン、およびビンクリスチン。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＳＡＡＲＤまたはＤＭＡＲＤはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２９０】

別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に列挙される疾患および障害の処置のための、１つ以上のＣＯＸ２インヒビター、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。ＣＯＸ２インヒビター、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩の例としては、例えば、セレコキシブ（ｃｅｌｅｃｏｘｉｂ）が挙げられる。類似した鎮痛性特性および抗炎症性特性を有する構造的に関連したＣＯＸ２インヒビターはまた、この群に含まれることが意図される。

【０２９１】

さらに別の特定の実施形態において、本発明は、急性および慢性炎症を含む、本明細書中に記載される疾患および障害の処置のための、１つ以上の抗菌剤、プロドラッグエステル、またはその薬学的に受容可能な塩のいずれかと組み合わせた（処置前、処置後、または処置と同時）、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用に関する。抗菌剤としては、例えば、ペニシリン、セファロスポリンおよび他のβ－ラクタム、アミノ配糖体、アゾール、キロノン類、マクロライド、リファマイシン、テトラサイクリン、スルホンアミド、リンコサミド（ｌｉｎｃｏｓａｍｉｄｅ）およびポリミキシンの広範なクラスが挙げられる。ペニシリンは、以下を含むがこれらに限定されない：ペニシリンＧ、ペニシリンＶ、メチシリン、ナフシリン、オキサシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フロクサシリン、アンピシリン、アンピシリン／スルバクタム、アモキシリン、アモキシリン／クラブラン酸、ヘタシリン、シクラシリン（ｃｙｃｌａｃｉｌｌｉｎ）、バカンピシリン、カルベニシリン、カルベニシリンインダニル（ｃａｒｂｅｎｉｃｉｌｌｉｎ　ｉｎｄａｎｙｌ）、チカルシリン、チカルシリン／クラブラン酸、ア

ズロシリン、メズロシリン、ピペラシリン（ｐｅｐｅｒａｃｉｌｌｉｎ）、およびメシリナム。セファロスポリンおよび他のβ－ラクタムとしては、以下を含むがこれらに限定されない：セファロチン、セファピリン、セファレキシン、セフラジン、セファゾリン、セファドロキシル、セファクロール、セファマンドール、セフォテタン、セフォキシチン、セルロキシム（ｃｅｒｕｒｏｘｉｍｅ）、セフォニシド、セフォラジン（ｃｅｆｏｒａｄｉｎｅ）、セフィキシム、セフォタキシム、モキサラクタム、セフチゾキシム、セトリアキソン（ｃｅｔｒｉａｘｏｎｅ）、セフォペラゾン（ｃｅｐｈｏｐｅｒａｚｏｎｅ）、セフタジジム、イミペネムおよびアズトレオナム。アミノ配糖体としては、以下を含むがこれらに限定されない：ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、アミカシン、ネチルマイシン、カナマイシンおよびネオマイシン。アゾールとしては、フルコナゾールを含むがこれに限定されない。キノロン類としては、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、エノキサシン、シプロフロキサシン、オフロキサシン、スパルフロキサシンおよびテマフロキサシンを含むがこれらに限定されない。マクロライドとしては、エリスロマイシン（ｅｒｙｔｈｏｍｙｃｉｎ）、スピラマイシンおよびアジスロマイシンを含むがこれらに限定されない。リファマイシンとしては、リファンピンを含むがこれに限定されない。テトラサイクリンとしては、スピサイクリン（ｓｐｉｃｙｃｌｉｎｅ）、クロルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、デオキシサイクリン（ｄｅｏｘｙｃｙｃｌｉｎｅ）、グアメサイクリン（ｇｕａｍｅｃｙｃｌｉｎｅ）、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ペニメピサイクリン、ピパサイクリン、ロリテトラサイクリン、サンサイクリン、セノサイクリン（ｓｅｎｏｃｉｃｌｉｎ）およびテトラサイクリンを含むがこれらに限定されない。スルホンアミドとしては、スルホニルアミド、スルファメトキサゾール、スルファセタミド、スルファジアジン、スルフィソキサゾールおよびｃｏ－トリモキサゾール（トリメトプリム／スルファメトキシサゾール）を含むがこれらに限定されない。リンコサミドとしては、クリンダマイシンおよびリンコマイシンを含むがこれらに限定されない。ポリミキシン（ポリペプチド）としては、ポリミキシンBおよびコリスチンを含むがこれらに限定されない。

【０２９２】

ＩＬ－１ＲＡ－Ｆポリペプチド機能のアゴニストまたはアンタゴニストは、処置される状態に適切であるように、１つ以上のサイトカイン、増殖因子、抗生物質、抗炎症剤および／または化学療法剤と組み合わせて（同時にかまたは引き続き）使用され得る。

【０２９３】

望ましくないレベルの１つ以上のＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドによって引き起こされるかまたは媒介される他の疾患は、本発明の範囲内に含まれる。望ましくないレベルとしては、過度のレベルのＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド、および正常以下のレベルのＩＬ－１、ＩＬ－１ｒａ、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが挙げられる。

【０２９４】

（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸およびＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの使用）

本発明の核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）を使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子および関連遺伝子の染色体上の位置をマッピングし得る。マッピングは、当該分野で公知の技術（例えば、ＰＣＲ増幅およびインサイチュハイブリダイゼーション）により行われ得る。

【０２９５】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子（それ自体は生物学的に活性なポリペプチドをコードしない核酸分子を含む）は、哺乳動物組織または体液サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Ｒ核酸分子の存在について、定性的または定量的のいずれかで試験するための、診断アッセイにおけるハイブリダイゼーションプローブとして有用であり得る。

【０２９６】

他の方法はまた、１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの活性を阻害することが所望される場合に使用され得る。このような阻害は、発現制御配列（三重らせん形成）またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡに相補的でありかつ発現制御配列（三重らせん形成）またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡにハイブリダイズする

核酸分子によりもたらされ得る。例えば、アンチセンスＤＮＡまたはＲＮＡ分子（これらは、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の少なくとも一部に相補的である配列を有する）は、細胞中に導入され得る。アンチセンスプローブは、本明細書中に開示されるＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の配列を使用して、利用可能な技術により設計され得る。代表的には、このようなアンチセンス分子の各々は、選択された各ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の開始部位（５’末端）に相補的である。このアンチセンス分子が次いで、対応するＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡにハイブリダイズする場合、このｍＲＮＡの翻訳は、防止されるかまたは低減される。アンチセンスインヒビターは、細胞または生物におけるＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの減少または不在に関連する情報を提供する。

【０２９７】

あるいは、遺伝子治療を使用して、１つ以上のＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの優性ネガティブインヒビターを作製し得る。この状況において、各選択されたＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの変異体ポリペプチドをコードするＤＮＡは、調製され得、そして本明細書中に記載されるウイルスまたは非ウイルスの方法のいずれかを使用して患者の細胞中に導入され得る。このような変異体の各々は、代表的にはその生物学的役割において内因性ポリペプチドと競合するように設計される。

【０２９８】

さらに、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド（生物学的に活性でも活性でなくても）は、免疫原として使用され得、すなわち、これらのポリペプチドは、それに対して抗体が誘発され得る少なくとも１つのエピトープを含有する。ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドに結合する選択的結合因子（本明細書中に記載されるように）は、インビボおよびインビトロでの診断目的のために使用され得、これらの目的としては、体液サンプルまたは細胞サンプル中のＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの存在を検出するための標識された形態での使用を含むが、これに限定されない。これらの抗体をまた使用して、本明細書中に列挙される疾患および障害を含む多数の疾患および障害を、予防、処置、または診断し得る。これらの抗体は、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの少なくとも１つの活性特徴を低減するかまたは遮

断するように、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに結合し得るか、またはポリペプチドに結合してＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの少なくとも１つの活性特徴を増加し得る（ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの薬物動態を増加させることによるものを含む）。

【０２９９】

本発明のＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、発現クローニングストラテジーを使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターをクローン化するために使用され得る。放射性標識（^{125}ヨウ素）されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドまたはアフィニティ／活性－タグ化ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（例えば、Ｆｃ融合またはアルカリホスファターゼ融合）を、結合アッセイにおいて使用して、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞型または細胞株または組織を同定し得る。このような細胞または組織から単離されたＲＮＡは、ｃＤＮＡに変換され得、哺乳動物発現ベクターにクローン化され、そして哺乳動物細胞（例えば、ＣＯＳまたは２９３細胞）にトランスフェクトされて発現ライブラリーを生成する。放射性標識されるかまたはタグ化されたＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、次いで、アフィニティリガンドとして使用されて、このライブラリーから、その表面上にＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞のサブセットを同定および単離し得る。ＤＮＡは、次いでこれらの細胞から単離され得、そして哺乳動物細胞にトランスフェクトされて二次発現ライブラリー（ここで、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを発現する細胞の画分は、元のライブラリーよりも何倍も高い）を作製し得る。この富化プロセスは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターを含有する単一の組換えクローンが単離されるまで繰り返し反復され得る。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプターの単離は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドシグナル伝達経路の新規なアゴニストおよびアンタゴニストを同定または開発するために有用である。このようなアゴニストおよびアンタゴニストとしては、可溶性ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドレセプター抗体、低分子またはアンチセンスオリゴヌクレオチドが含まれ、そしてこれらは、本明細書中に記載される疾患または障害の１つ以上を、処置、予防、または診断するために使用され得る。

【０３００】

ヒトＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡの寄託（受託番号ＰＴＡ－１４２３を有する）を、アメリカン　タイプ　カルチャー　コレクション（ＡＴＣＣ）（バージニア　２０１１０－２２０９、マナサス、ユニバーシティ　ブールバード　１０８０１）にて２０００年2月２９日に行った。

【０３０１】

以下の実施例は、例示目的のみのために意図され、本発明の範囲をどちらにしても限定するとは解釈されるべきではない。

【０３０２】

（実施例１：ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子のクローニング）

概して、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載されるような材料および方法を、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドをコードする遺伝子をクローン化および分析するために使用した。

【０３０３】

ヒトＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮＡ配列を単離するために、専有データベース（Ａｍｇｅｎ、Ｔｈｏｕｓａｎｄ　Ｏａｋｓ、ＣＡ）の検索を、クローンｓｈｏｓ１－００００３－ｄ１を問い合わせ（ｑｕｅｒｙ）配列として使用して行った。この様式で同定された４２３ｂｐの配列は、アミノ酸レベルで問い合わせ配列に対して４１％同一性を共有することが見出された。この配列内の最も高い相同性の領域を使用して、ｃＤＮＡ供給源の同定およびｃＤＮＡクローンの生成のために、種々のＰＣＲストラテジーを使用して、遺伝子特異的オリゴヌクレオチドを設計した。

【０３０４】

多数のｃＤＮＡライブラリーを、２５μｌの全反応容積で、１０ｎｇのｃＤＮＡライブラリーテンプレートＤＮＡ、それぞれ１０ｐｍｏｌのアンプライマー（ａｍｐｌｉｍｅｒ）：２３４９－９８（５’－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｇ－３’；配列番号２０）および２３４９－９９（５’－Ｔ－Ａ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－３’；配列番号

２１）、ならびにＲｅａｄｙ－Ｔｏ－Ｇｏ　ＰＣＲビーズ（Ａｍｅｒｓｈａｍ－Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）（Ｐｈａｒｍａｃｉａ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を含有する増幅反応で分析した。反応を、９５℃にて５分間を１サイクル；９５℃にて１５秒間、６３℃にて１５秒間、そして７２℃にて１分間を３０サイクル；および７２℃にて１０分間を１サイクルにて行った。予測されたサイズ（１５３ｂｐ）のＰＣＲ産物を、多数のｃＤＮＡライブラリー（ヒト胎児頭皮（オリゴ－ｄＴでプライムした（ｐｒｉｍｅｄ）もの）およびヒト胎盤（オリゴ－ｄＴでプライムしたものおよびランダムにプライムしたもの）を含む）において同定した。

【０３０５】

胎児頭皮よび胎盤のｃＤＮＡライブラリーを、以下のようにして調製した。全ＲＮＡを、ヒト胎児頭皮から、およびヒト胎盤から標準的なＲＮＡ抽出手順を使用して抽出し、そしてポリ－A^+ＲＮＡを、標準的な手順を使用してこの全ＲＮＡから選択した。ランダムにプライムされたかオリゴ－ｄＴでプライムされたｃＤＮＡを、このポリ－A^+ＲＮＡから、ｃＤＮＡ合成およびプラスミドクローニングキット用のＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）を使用して、製造者の示唆したプロトコルまたは他の適切な手順に従って合成した。得られたｃＤＮＡを、適切な制限酵素を用いて消化し、次いでｐＳＰＯＲＴ－１、または他の適切なクローニングベクターにライゲーションした。ライゲーション産物を、標準的な技術を使用してＥ．ｃｏｌｉに形質転換し、そして細菌性形質転換体を、アンピシリン、テトラサイクリン、カナマイシン、またはクロラムフェニコールのいずれかを含有する培養プレートで選択した。ｃＤＮＡライブラリーは、これらの形質転換体の全てまたはサブセットから構成された。

【０３０６】

５’ＲＡＣＥ反応および３’ＲＡＣＥ反応の両方を、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての全長ｃＤＮＡ配列を作成するために行った。ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、５’ＲＡＣＥを、１０ｎｇのオリゴ－ｄＴ－プライムされたヒト胎

児頭皮ｃＤＮＡライブラリーをｐＳＰＯＲＴ１ならびにプライマー１５７２－３６（５’－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｃ－３’；配列番号２２）および２３４９－９９を使用して行った。反応を、９４℃にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間そして７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間そして７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、６８℃にて１０秒間、そして７２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。入れ子式（ｎｅｓｔｅｄ）ＰＣＲを、５’ＲＡＣＥ増幅産物の一部およびプライマー２３２８－９１（５’－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２３）および２３５１－４７（５’－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２４）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９４℃にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間、そして７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、６８℃にて１０秒間、そして７２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。

【０３０７】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の３’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、３’ＲＡＣＥを、１０ｎｇのオリゴ－ｄＴでプライムされたヒト胎児頭皮ｃＤＮＡライブラリーを使用してｐＳＰＯＲＴＩならびにプライマー２３５１－４８（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号２５）および２３２９－９３（５’－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２６）を使用して行った。反応を９４℃にて１分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、７０℃にて１０秒間、および７２℃にて３分間を５サイクル；９４℃にて５秒間、６８℃にて１０秒間、および７２℃にて３分間を２５サイクル；ならびに７２℃にて７分間を１サイクルで行った。入

れ子式ＰＣＲを、３’ＲＡＣＥ増幅産物の一部およびプライマー２３６３－０４（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２７）および２３２９－９４（５’－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｇ－Ａ－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号２８）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９５℃にて１分間を１サイクル；９５℃にて３０秒間および６８℃にて１分間を３０サイクル；ならびに６８℃にて７分間を１サイクルで行った。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての全長ｃＤＮＡ配列を、５’ＲＡＣＥクローンおよび３’ＲＡＣＥクローンの得られた収集物からアセンブルした。

【０３０８】

ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’部分を、ヒト胎盤Ｍａｒａｔｈｏｎ™ ｃＤＮＡライブラリー（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）由来のｃＤＮＡ配列を独立して単離することにより確認した。ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドについてのｃＤＮＡ配列の５’末端に対応するｃＤＮＡ配列を単離するために、５’ＲＡＣＥを、１ｎｇのヒト胎盤ｃＤＮＡならびにプライマーＡＰ－１（５’－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ａ－Ｔ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－３’；配列番号２９；Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）および２３５３－８７（５’－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号３０）を使用して行った。反応を、９４℃にて２分間を１サイクル；９４℃にて５秒間および７２℃にて１．５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間および７０℃にて１．５分間を５サイクル；９４℃にて５秒間および６８℃にて１．５分間を２５サイクル；および８６℃にて７分間を１サイクルで行った。入れ子式ＰＣＲを、５’ＲＡＣＥ増幅産物の一部ならびにプライマーＡＰ－１および２３４９－５２（５’－Ｃ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ａ－３’；配列番号３１）を使用して行った。入れ子式ＰＣＲを、９４℃にて２分間を１サイクル；９４℃にて１０秒間および６８℃にて１．５分間を３０サイクル；および６８℃にて７分間を１サイクルで行った。

【０３０９】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドについての推定ｃＤＮＡ配列の配列分析は、この遺伝子が、１５２個のアミノ酸のタンパク質をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレーム（図１Ａ～１Ｂ）を含むことを示した。ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの配列改変体もまた同定された。この改変体の配列分析は、この改変体についての遺伝子もまた、１５２個のアミノ酸のタンパク質をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレーム（図２Ａ～２Ｂ）を含むことを示唆した。この改変体のヌクレオチド配列は、２つのヌクレオチド位置においてヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子と異なる。

【０３１０】

図４Ａ～４Ｂは、以下のアミノ酸配列アラインメントを図示する：ヒトＩＬ－１α（ＩＬ－１＿ａｌｐｈａ；配列番号7）、ヒトＩＬ－１β（ＩＬ－１ ＿ｂｅｔａ；配列番号8）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ；配列番号9）、ヒトＩＬ－１δ（ＩＬ－１ ＿ｄｅｌｔａ；配列番号１０）、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）、ヒトＴａｎｇｏ－７７（Ｔａｎｇｏ－７７；配列番号１１）、ヒトＺｉｌｌａ４（Ｚｉｌｌａ４；配列番号１２）、ヒトＩＬ－１ζ（ＩＬ－１ ＿ｚｅｔａ；配列番号１３）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニストβ（ＩＬ－１ＲＡ ＿β；配列番号１４）、ヒトＳＰＯＩＬ ＩＩ（Ｓｐｏｉｌ ＿ＩＩ；配列番号１５）、ヒトＩＬ－１ε（ＩＬ－１＿ｅｐｓｉｌｏｎ；配列番号１６）、およびヒトＩＬ－ｌ１η（ＩＬ１＿ｅｔａ；配列番号１７）。図５は、ＩＬ－１ｒａ遺伝子ファミリーの系統発生的関係を模式的に図示する。

【０３１１】

（実施例２：ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド遺伝子スプライス改変体（バリアント）のクローニング）

概して、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドスプライス改変体（バリアント）をコードする遺伝子をクローニングおよび分析するために、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載の材料および方法を用いた。

【０３１２】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドのスプライス改変体をコードする全長ｃＤ

ＮＡ配列を、以下のように調製したヒト胎盤ｃＤＮＡライブラリーから単離した。標準的ＲＮＡ抽出手順を用いて、総ＲＮＡをヒト胎盤から抽出し、そして標準的手順を用いてこの総ＲＮＡからポリ－A^+ＲＮＡを選択した。製造業者の示唆したプロトコールに従って、ｃＤＮＡ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　ａｎｄ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｃｌｏｎｉｎｇキット（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）のためのＳｕｐｅｒｓｃｒｉｐｔ　Ｐｌａｓｍｉｄ　Ｓｙｓｔｅｍを用いて、このポリ－A^+ＲＮＡから、オリゴ－ｄＴプライムしたｃＤＮＡを、合成した。得られたｃＤＮＡをＮｏｔＩで消化し、次いで０．８％アガロースゲル上での電気泳動によって分画した。０．８～１．６ｋｂのフラグメントを単離し、精製し、次いでｐＳＰＯＲＴ－１に連結した。連結（ライゲーション）産物を、標準的技術を用いてＥ．ｃｏｌｉ中に形質転換し、そして細菌形質転換体を、アンピシリン含有培養プレート上で選択した。得られた形質転換体をプールして、ｃＤＮＡライブラリーを作製し、そしてプラスミドＤＮＡを、このｃＤＮＡライブラリーの１２のプール（それぞれが約８０，０００コロニーを含有する）から調製した。

【０３１３】

１０ｎｇのテンプレートＤＮＡ、アンプライマー２３４９～９８および２３４９～９９（各、０．４μＭの濃度）、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中で、各ｃＤＮＡライブラリープールのそれぞれを、分析した。９４℃５分を１サイクル；９４℃３０秒、６５℃３０秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。ｃＤＮＡライブラリープールをまた、１０ｎｇのテンプレートＤＮＡ、アンプライマー２３４９～５１（５’－Ａ－Ａ－Ｇ－Ａ－Ｇ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－３’；配列番号３２）および２３４９～５２（各、０．４μＭの濃度）、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中で、分析した。９４℃５分を１サイクル；９４℃３０秒、６５℃３０秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。次いで、これらの反応で得られたＰＣＲ産物をアガロースゲル上で分析した。

【０３１４】

３つのプール由来のプラスミドＤＮＡは、期待されるサイズを有するＰＣＲ産物を生成した。そして、これらの各々の陽性プール由来の３×１０^{5}クローンを、アンプライマー２３４９－９８および２３４９－９９を用いるＰＣＲによってスクリーニングした。ＰＣＲによって生成したＰＣＲ産物（ｚｈｖｔ－０００３２９）の１つを、^{32}Ｐ－ｄＣＴＰで標識し、プローブとして用いて、陽性のｃＤＮＡライブラリーのプールを再スクリーニングした。細菌コロニーを、（１５０mmプレートあたり、約５０，０００で）プレートし、次いで、ニトロセルロースフィルター上に吊り上げた。ＥｘｐｒｅｓｓＨｙｂハイブリダイゼーション溶液（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）中で６８℃３０分間、フィルターをプレハイブリダイズし、次いで、標識プローブを添加した同じ溶液中で、６８℃一晩ハイブリダイズした。ハイブリダイゼーション後、このフィルターを、２×ＳＳＣおよび０．０５％ＳＤＳ中で、室温で１０分間２回洗浄し、次いで０．１×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で、６８℃で３０分間２回洗浄した。次いで、強化スクリーンを有するオートラジオグラフィーに－８０℃で２時間フィルターを曝した。ｃＤＮＡライブラリープールの１つから、約１．２ｋｂのインサートを含有する陽性クローン（ＲＤＳ＃１９９９１８５０３）を、同定した。別のｃＤＮＡライブラリープールから、約０．８ｋｂのサイズのインサートを含有する第二の陽性クローン（ＲＤＳ＃１９９９１８５０１）を、同定した。これらのクローンの各々からプラスミドＤＮＡを調製し、そして配列を分析した。

【０３１５】

これらのクローンの１つについて予想されるｃＤＮＡ配列の配列分析によって、このｃＤＮＡが、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（実施例１を参照）の改変体をコードすることが示された。この改変体をコードする遺伝子は、１７１アミノ酸のタンパク質をコードする５１３ｂｐのオープンリーディングフレームを含む（図３）。

【０３１６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（Ｇｅｎｂａｎｋ登録番号ＡＣ０１６７２４，コンティグ．フラグメント７６６４９－９６３４２）を含有するヒトゲノムの配列分析

により、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の最初のエキソン（実施例１を参照）が、Ｉｌ－１オメガ（Ｏｍｅｇａ）（Ｇｅｎｂａｎｋ登録番号Ｚ３００５０）の最後のエキソンの４．１ｋｂ下流に存在するが示された。ゲノム中のこれらの２つの遺伝子の密接な近似により、本ポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子、またはその改変体（実施例１を参照）の第二のエキソン上のＩＬ－１オメガ（Ｏｍｅｇａ）の最初の２つのエキソンのスプライシング（または融合）から生じ得ることが示唆される。従って、ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの改変体は、ＩＬ－１ｒａ－Rスプライス改変体、融合タンパク質、などであり得る。ＩＬ－１Ｏｍｅｇａにおける第二エキソンおよびＩＬ－１ｒａ－R遺伝子（またはその改変体）の第二エキソンの並列（ｊｕｘｔａｐｏｓｉｔｉｏｎ）は、シグナルペプチドとして機能するらしい、N末端を有するタンパク質をコードする配列を生じる。図６は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド（成熟（Ｍａｔｕｒｅ）ＣＳ３２９）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの配列改変体（成熟ＣＳ３２９改変体タンパク質）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドのスプライス改変体（オメガ（Ｏｍｅｇａ）３２９タンパク質）との間の関係を図示する。

【０３１７】

（実施例３：マウスＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド遺伝子のクローニング）

概して、マウスＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドをコードする遺伝子をクローニングおよび分析するために、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（前出）に記載の材料および方法を用いた。

【０３１８】

マウスＩＬ－１ｒａ－RポリペプチドをコードするｃＤＮＡを単離するために、７日齢マウス胚ｃＤＮＡライブラリーテンプレート、ならびにアンプライマー２５５７－９５（５’－Ａ－Ａ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｃ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｇ－Ｔ－Ｇ－３’；配列番号３３）および２５５７～９６（５’－Ｔ－Ｇ－Ｃ－Ｃ－Ａ－Ｔ－Ｔ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｔ－Ｇ－Ｔ－Ａ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ｇ－Ｇ－Ｔ－Ｃ－Ａ－Ｃ－Ａ－Ｇ－３’；配列番号３４）、ならびに標準的技術を用いて、ＰＣＲを実施した。

【０３１９】

マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定ｃＤＮＡ配列の配列分析によって、この遺伝子が、１５２アミノ酸のタンパク質をコードする４５６ｂｐのオープンリーディングフレームを含むことが示された（図７）。図８は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｈｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）およびマウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｍｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号３６）のアミノ酸配列アラインメントを例示する。図９Ａ～９Ｉは、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（配列番号３７）のゲノムヌクレオチド配列を例示する。エキソン１～４のコード部分の位置を示す（下線）。

【０３２０】

（実施例４：ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡ発現）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡの発現を、１０ｎｇのｃＤＮＡライブラリーテンプレートＤＮＡ、１０ｐｍｏｌのアンプライマー２３４９～９８および２３４９～９９、ならびにＲｅａｄｙ－ｔｏ－Ｇｏ（すぐ使用できる）ＰＣＲビーズを含有する増幅反応物（総反応容積２５μｌ）中でのＰＣＲによって検討した。９５℃５分を１サイクル；９５℃１５秒、６３℃１５秒、および７２℃１分を３０サイクル；ならびに７２℃１０分を１サイクルで、反応を実施した。ヒト胎児頭皮、ヒト胎児眼、ヒト胆嚢、およびヒト胎盤を含む、多数のｃＤＮＡライブラリー中から、予期されたサイズ（１５３ｂｐ）のＰＣＲ産物を、同定した。ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡ発現をまた、アンプライマー２３４９～５１および２３４９－５２、ならびにＴｉｔａｎシステム（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ）を用いるＲＴ－ＰＣＲによって、胎児眼および胎児脾臓中で検出した。５５℃３０分を１サイクル；９４℃１５秒、６４℃１５秒、および６８℃５０秒（１サイクルについて２秒ずつ増加）を３０サイクル；ならびに６８℃７分を１サイクルで、これらの反応を実施した。

【０３２１】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡの発現を、ヒトおよびマウスのＲＮＡブロット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）を用いたノーザンブロット分析によって試験した。ブロットをまず、Ｐｒｅ－Ｈｙｂ溶液（Ａｍｅｒｓｈａｍ）中で６５℃で３０分間、プレハイブリダイズし、次いで、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするｃＤＮ

Ａ配列のヌクレオチド１～４７４に対応する、２５ｎｇの^{32}Ｐ標識プローブを含有する同じ溶液中で、６５℃一晩プローブした。このプローブを、Ｒｅｄｉ Ｐｒｉｍｅ　ＩＩキット（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）を用いて標識した。ハイブリダイゼーション後、ブロットを、６×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で、１時間２回、２×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で１時間２回、０．２×ＳＳＣおよび０．１％ＳＤＳ中で３０分間２回洗浄し、次いで２×ＳＳＣ中でリンスした。ホスホイメージャー（ｐｈｏｓｐｈｏｉｍａｇｅｒ）中のノーザンブロットの一晩の曝露後、約１．６ｋｂの転写物を、マウスの骨格筋中で検出し（図１０Ａ）、そして約２．９ｋｂの転写物を、ヒトの膵臓および末梢血白血球中で検出した（図１０Ｂおよび１０Ｃ）。同じプローブを用いたドットブロット（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）の分析において、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡをマウス骨格筋、顎下腺、および精巣上体中で検出した。

【０３２２】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡの発現を、インサイチュハイブリダイゼーションによって局在化した。正常胚および成体マウス組織のパネルを４％パラホルムアミド中で固定し、パラフィンに包埋し、そして５μｍに切片化した。切片化した組織を、０．２Ｍ　ＨＣｌ中で透過化処理し、プロテイナーゼＫで消化し、そしてトリエタノールアミンおよび無水酢酸でアセチル化した。切片を、ハイブリダイゼーション溶液（３００ｍＭ　ＮａＣｌ、２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ８．０，５ｍＭ　ＥＤＴＡ、１×デンハート溶液、０．２％　ＳＤＳ、１０ｍＭ　ＤＴＴ、０．２５ｍｇ／ｍｌ　ｔＲＮＡ、２５μｇ／ｍｌ　ポリＡ、２５μｇ／ｍｌ　ポリＣおよび５０％ホルムアミド）中で１時間６０℃でプレハイブリダイズし、次いで、１０％デキストランおよび２×１０^{4}ｃｐｍ／μｌの^{33}Ｐ－標識アンチセンスリボプローブ（ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子に相補的）を含有する同じ溶液中で６０℃で一晩ハイブリダイズする。標準的技術を用いて、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｃＤＮＡを含有するクローンのインビトロ転写によって、このリボプローブを得る。

【０３２３】

ハイブリダイゼーション後、切片を、ハイブリダイゼーション溶液中でリンス

し、ＲＮａｓｅＡで処理してハイブリダイズしていないプローブを消化し、次いで０．１×ＳＳＣ中で５５℃で３０分間洗浄する。次いで、切片をＮＴＢ－２エマルジョン（Ｋｏｄａｋ，Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ，ＮＹ）に浸し、４℃に３週間曝し、発色させ、そしてヘマトキシリンおよびエオシンで対比染色する。組織形態学およびハイブリダイゼーションシグナルを、脳（矢状断面１つおよび冠状断面２つ）、胃腸管（食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、近位結腸、および遠位結腸）、下垂体、肝臓、肺、心臓、脾臓、胸腺、リンパ節、腎臓、副腎、膀胱、膵臓、唾液腺、雄性および雌性生殖器（雌性の卵巣、卵管、および子宮；ならびに雄性の精巣、精巣上体、前立腺、精嚢および輸精管）、ＢＡＴおよびＷＡＴ（皮下、腎臓周囲）、骨（大腿）、皮膚、乳房、および骨格筋についての暗野かつ標準のイルミネーションによって同時に分析する。

【０３２４】

（実施例５：ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生成）

（Ａ．細菌におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現）

ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、この配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。増幅したＤＮＡ産物を改変して、発現ベクター内への挿入を可能にするために制限酵素部位を含むようにし得る。ＰＣＲ産物をゲル精製し、そして標準的組み換えＤＮＡ方法論を用いて発現ベクター中に挿入する。ｌｕｘプロモーターおよびカナマイシン耐性をコードする遺伝子を含むｐＡＭＧ２１（ＡＴＣＣ番号９８１１３）のような代表的ベクターを、挿入したＤＮＡの方向性クローニングのために、ＢａｍＨＩおよびＮｄｅＩを用いて消化する。連結した混合物を、エレクトロポレーションによってＥ．ｃｏｌｉ宿主株中に形質転換し、そして形質転換体をカナマイシン耐性について選択する。選択したコロニー由来のプラスミドＤＮＡを、単離し、そしてＤＮＡ配列決定に供してインサート（挿入物）の存在を確認する。

【０３２５】

形質転換した宿主細胞を、導入前に、３０μｇ／ｍＬカナマイシンを含有する２×ＹＴ培地中で３０℃でインキュベートする。最終濃度３０ｎｇ／ｍＬへのＮ

－（３－オキソヘキサノイル）－ｄｌ－ホモセリンラクトンの添加、それに続く３０℃かまたは３７℃での６時間のインキュベーションによって、遺伝子発現を誘導する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現を、培養物の遠心分離、細菌ペレットの再懸濁および溶解、ならびに、ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動による宿主細胞タンパク質の分析によって評価する。

【０３２６】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含有する封入体を、以下の通り精製する。細菌細胞を遠心分離によってペレット化し、そして水中に再懸濁する。この細胞懸濁液を超音波処理によって溶解し、そして１９５，０００×ｇでの５～１０分間の遠心分離によってペレット化する。この上清を廃棄し、そしてペレットを洗浄してホモジナイザーに移す。このペレットを、均一に懸濁されるまで、５ｍＬのＰｅｒｃｏｌｌ溶液（７５％液体ＰｅｒｃｏｌｌおよびＯ．１５Ｍ　ＮａＣｌ）中にホモジナイズし、次いで希釈して２１，６００×ｇで３０分間遠心分離する。封入体を含む勾配画分を回収してプールする。単離した封入体をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。

【０３２７】

Ｅ．ｃｏｌｉが産生したＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに相当する、ＳＤＳポリアクリルアミドゲル上の単一のバンドを、ゲルから切り出し、そしてＮ末端アミノ酸配列を、本質的にＭａｔｓｕｄａｉｒａら、１９８７，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：１０～３５に記載のように決定する。

【０３２８】

（Ｂ．哺乳動物細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現）

ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、この配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。増幅したＤＮＡ産物を改変して、発現ベクター内への挿入を可能にするために制限酵素部位を含むようにし得る。ＰＣＲ産物をゲル精製し、そして標準的組み換えＤＮＡ方法論を用いて発現ベクター中に挿入する。Ｅｐｓｔｅｉｎ－Ｂａｒｒウイルス複製起点を含む代表的な発現ベクターであるｐＣＥＰ４（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）を、２９３－ＥＢ

ＮＡ－１細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現のために用い得る。増幅およびゲル精製したＰＣＲ産物を、ｐＣＥＰ４ベクターに連結し、そしてリポフェクチンによって２９３－ＥＢＮＡ細胞中に導入する。トランスフェクトした細胞を、１００μｇ／ｍＬのハイグロマイシン中で選択し、そして得られた薬物耐性培養物をコンフルエンスになるまで増殖する。次いで、この細胞を無血清培地中で７２時間培養する。馴化培地を取り出し、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析する。

【０３２９】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現は、銀染色によって検出できる。あるいは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを、ペプチドタグに対する抗体を用いてウエスタンブロット分析によって検出可能である、エピトープタグ（例えば、ＩｇＧ定常ドメインまたはＦＬＡＧエピトープ）を有する融合タンパク質として生成する。　ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲルから切り出し得、またはＩＬ－１ｒａ－Ｒ融合タンパク質を、エピトープタグに対するアフィニティークロマトグラフィーによって精製し、そして本明細書に記載のようなＮ末端アミノ酸配列分析に供する。

【０３３０】

（Ｃ．哺乳動物細胞におけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現および精製）

リポフェクチンまたはリン酸カルシウムプロトコールのいずれかを用いて、２９３　ＥＢＮＡ細胞またはＣＨＯ細胞中に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド発現構築物を導入する。

【０３３１】

生成されるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する機能的研究を行うため、ハイグロマイシン選択２９３　ＥＢＮＡクローニングのプールから大量の馴化培地を生成する。この細胞を５００ｃｍ　Ｎｕｎｃ　Ｔｒｉｐｌｅ　Ｆｌａｓｋｓ中で、８０％コンフルエンスになるまで培養し、その後、培地を回収する１週間前に無血清培地に切り換える。馴化培地を回収し、そして精製まで－２０℃に凍結する。

【０３３２】

馴化培地を下記のとおり、アフィニティークロマトグラフィーによって精製する。この培地を解凍し、次いで０．２μmフィルターに通す。プロテインGカラムをＰＢＳでｐＨ７．０に平衡化し、次いで濾過した培地をロードした。このカラムをA_{280}の吸収がベースラインに達するまでＰＢＳで洗浄する。０．１Ｍ　Ｇｌｙｃｉｎｅ－ＨＣｌを用いてｐＨ７．２でＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを、カラムから溶出し、直ちに1Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌを用いてｐＨ８．５で中和する。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含有する画分をプールし、ＰＢＳ中で透析し、そして－７０℃で貯蔵した。

【０３３３】

ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド－Ｆｃ融合ポリペプチドの第Ｘａ因子切断について、アフィニティークロマトグラフィー精製したタンパク質を、５０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、１００ｍＭ　ＮａＣｌ、2ｍＭ　$CaCl_2$中でｐＨ８．０で透析する。制限プロテアーゼ第Ｘａ因子を、透析したタンパク質に１／１００（ｗ／ｗ）で添加し、そしてこのサンプルを室温で一晩消化する。

【０３３４】

（実施例６：抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド抗体の生成）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する抗体を、生物学的合成または化学的合成によって生成した、精製タンパク質またはＩＬ－１ｒａ－Ｒペプチドを用いて免疫することによって獲得し得る。抗体を生成するための適切な手順は、ＨｕｄｓｏｎおよびＢａｙ、Ｐｒａｃｔｉｃａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（第二版、Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｐｕｂｉｌｉｃａｔｉｏｎ）に記載の手順を含む。

【０３３５】

抗体生成のための１つの手順において、動物（代表的には、マウスまたはウサギ）に、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗原（例えば、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド）を注射し、そして、ハイブリドーマ産生のため、ＥＬＩＳＡによって決定した十分な血清力価レベルを有する動物を、選択する。免疫した動物の脾臓を回収し、そして単一細胞懸濁液として調製し、これから脾臓細胞を回収する。脾臓細胞をマウ

スミエローマ細胞（例えば、Ｓｐ２／０－Ａｇ１４細胞）に融合し、ＤＭＥＭ（２００Ｕ／ｍＬペニシリン、２００μｇ／ｍＬ硫酸ストレプトマイシン、および４ｍＭグルタミン含有）中でまずインキュベートし、次いで、ＨＡＴ選択培地（ヒポキサンチン、アミノプテリンおよびチミジン）中でインキュベートする。選択後、組織培養上清を各融合ウェルから取り出し、そしてＥＬＩＳＡによって、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体産生について試験する。

【０３３６】

抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体を得るため、別の手順をまた、使用し得る。この手順は例えば、ヒト抗体の生成のためのヒトＩｇ遺伝子座を保有するトランスジェニックマウスの免疫、および合成抗体ライブラリー（例えば、抗体可変ドメインの変異誘発によって生成されるライブラリーなど）のスクリーニングである。

【０３３７】

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する抗体は、Ｅ．ｃｏｌｉ中で生成され、そして単離された全長ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを用いてＮｅｗ　Ｚｅａｌａｎｄ　Ｗｈｉｔｅ　ｒａｂｂｉｔを免疫することによって得られた。粗ポリクローナル免疫血清を回収し、そして組み換えＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（図１１Ａ～１１Ｂ、レーン１、４、および７）、組み換えＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体（図１１Ａ～１１Ｂ、レーン２、５、および８）、および組み換えＩＬ－１ｒａ（図１１Ａ～１１Ｂ；レーン３、６、および９）を用いる免疫沈澱分析に用いた。１０ｎｇ（図１１Ａ、レーン４～６）もしくは０．６μｇ（図１１Ｂ、レーン７～９）のいずれかの組み換えポリペプチドを、１８％Ｔｒｉｓ－グリシンゲル上に直接ロードすること、またはゲル上にサンプルをロードする前に、０．２μｌの粗抗血清（図１１Ａ、レーン１～３）を用いて１μｇの組み換えポリペプチドを免疫沈降することによって、ゲルを調製した。ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分離後、ゲルをＰＶＤＦ膜上にブロットし、そして粗抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ血清の１：１０００希釈を用いて発色させ、続いて、ＨＲＰ結合体化プロテインＡおよびＥＣＬで検出した。図１１Ｂに示すゲルを、ブロッティング後、Ｇｅｌｃｏｄｅ　Ｂｌｕｅ（Ｐｉｅｒｃｅ）で染色した。ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに対する抗体は、膜固定ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドおよびポ

リペプチド改変体の両方を検出するが、ＩＬ－１ｒａは検出しないことが示された。溶液中で、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド改変体よりも効率的に認識された。

【０３３８】

（実施例７：トランスジェニックマウスにおけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの発現）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性を評価するため、肝臓特異的ＡｐｏＥプロモーターの制御下で、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド／Ｆｃ融合タンパク質をコードする構築物を調製する。この構築物の送達により、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能に関する情報である、病理的変化を生じることが期待される。同様に、βアクチンプロモーターの制御下で、全長ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドを含む構築物を調製する。この構築物の送達により、遍在性発現を生じることが期待される。

【０３３９】

これらの構築物を生成するために、ＰＣＲを用いて、ＩＬ－１ｒａ－ＲポリペプチドをコードするテンプレートＤＮＡ配列を増幅する。このＰＣＲには、所望の配列の５’および３’末端に対応するプライマーを用いる。そしてこの配列は、発現ベクター内への増幅産物の挿入を可能にするために制限酵素部位を組み込む。増幅後、ＰＣＲ産物をゲル精製し、適切な制限酵素で消化し、そして標準的組み換えＤＮＡ技術を用いて発現ベクター中に連結する。例えば、増幅したＩＬ－１ｒａＲポリペプチド配列を、Ｇｒａｈａｍら、１９９７、Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，１７：２７２～７４およびＲａｙら，１９９１ Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．５：２２６５～７３に記載のように、ヒトβアクチンプロモーターの制御下で発現ベクター中にクローニングし得る。

【０３４０】

連結（ライゲーション）後、反応混合物を用いて、Ｅ．ｃｏｌｉ宿主株をエレクトロポレーションによって形質転換し、そして形質転換体を、薬物耐性で選択する。選択したコロニー由来のプラスミドＤＮＡを単離して、ＤＮＡ配列決定に供し、適切なインサートの存在および変異が存在しないことを確認する。ＩＬ－

１ｒａ－Ｒポリペプチド発現ベクターを、２回のＣｓＣｌ密度勾配遠心分離を通じて精製し、適切な制限酵素で切断し、そして、ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド導入遺伝子を含有する直線フラグメントを、ゲル電気泳動によって精製する。精製したフラグメントを、５ｍＭ　Ｔｒｉｓ（ｐＨ７．４）および０．２ｍＭ　ＥＤＴＡ中で、２ｍｇ／ｍＬの濃度で、再懸濁する。

【０３４１】

ＢＤＦ１×ＢＤＦ１交配マウス由来の単一細胞胚を、記載（ＰＣＴ公開番号ＷＯ９７／２３６１４）のように注射する。胚を、CO_2インキュベーター中で一晩培養し、そして１５～２０の２細胞胚を偽妊娠ＣＤ１雌性マウスの卵管に移す。マイクロインジェクションした胚の着床から得た子孫を、以下のように、ゲノムＤＮＡサンプル中に取り込んだ導入遺伝子のＰＣＲ増幅でスクリーニングする。耳切片を２０ｍＬの耳緩衝液（２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ，ｐＨ８．０，１０ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．５％　ＳＤＳ、および５００ｍｇ／ｍＬ　プロテイナーゼＫ）中で、５５℃で一晩消化する。次いで、このサンプルを２００ｍＬのＴＥで希釈し、そして２ｍＬの耳サンプルを、適切なプライマーを用いるＰＣＲ反応中で用いる。

【０３４２】

８週齢で、トランスジェニック創始動物およびコントロール動物を、剖検および病理分析のため、屠殺する。脾臓の一部を取り出し、そしてＴｏｔａｌ　ＲＮＡ　Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ）を用いて、脾臓から、総細胞ＲＮＡを単離し、そして導入遺伝子発現を、ＲＴ－ＰＣＲによって決定する。脾臓から回収したＲＮＡを、以下のように、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ™Ｐｒｅａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍ（Ｇｉｂｃｏ－ＢＲＬ）を用いてｃＤＮＡに変換する。適切なプライマー（発現ベクター配列に位置し、そしてＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド導入遺伝子の３’である）を用いて、導入遺伝子転写物からｃＤＮＡ合成をプライムする。トランスジェニック創始動物およびコントロール由来の１０ｍｇの総脾臓ＲＮＡを、１ｍＭのプライマーとともに、１０分間７０℃でインキュベートし、そして氷上に置く。次いで、反応物に、１０ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、ｐＨ８．３、５０ｍＭ　ＫＣｌ、２．５ｍＭ　$MgCl_2$

、１０mMの各ｄＮＴＰ、０．１mM　ＤＴＴ、および２００UのＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔＩＩ逆転写酵素を補充する。４２℃で５０分間のインキュベーション後、７２℃で１５分間加熱することによって反応を停止し、２UのＲＮａｓｅＨを用いて２０分間３７℃で消化する。次いで、サンプルをＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドに特異的なプライマーを用いるＰＣＲによって増幅する。

【０３４３】

（実施例８：トランスジェニックマウスにおけるＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの生物学的活性）

安楽死の前に、トランスジェニック動物を計量し、イソフルオロラン（ｉｓｏｆｌｕｏｒａｎｅ）によって麻酔し、そして心臓穿刺によって採血する。サンプルを、血液学および血清化学分析に供する。Ｘ線撮影を、最終的な放血後に行う。肉眼解剖の際に、主な内臓器官を、重量分析に供する。

【０３４４】

肉眼解剖後、組織（すなわち、肝臓、脾臓、膵臓、胃、胃腸管全体、腎臓、生殖器官、皮膚および乳腺、骨、脳、心臓、肺、胸腺、気管、食道、甲状腺、副腎、膀胱、リンパ節および骨格筋）を取出し、そして１０％緩衝化Ｚｎ－ホルマリン中で組織学的検査のために固定する。固定後、組織をパラフィンブロック中で処理し、そして3mmの切片を得る。全ての切片を、ヘマトキシリンおよびエオシンで染色し、次いで組織学的分析に供する。

【０３４５】

トランスジェニックマウスおよびコントロールマウスの両方の脾臓、リンパ節およびパイアー斑を、以下の通りにＢ細胞特異的抗体およびＴ細胞特異的抗体についての免疫組織学的分析に供する。ホルマリンで固定したパラフィン包埋切片を脱パラフィン処理し、そして脱イオン水中で水和する。切片を３％過酸化水素でクエンチし、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｂｌｏｃｋ（Ｌｉｐｓｈａｗ，Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ，ＰＡ）でブロックし、そしてラットモノクローナル抗マウスＢ２２０およびＣＤ３（Ｈａｒｌａｎ，Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ，ＩＮ）中でインキュベートする。抗体結合を、色素原（ｃｈｒｏｍａｇｅｎ）としてＤＡＢ（ＢｉｏＴｅｋ，Ｓａｎｔａ　Ｂａｒｂａｒａ，ＣＡ）を用いて、ビオチン化ウサギ抗ラッ

ト免疫グロブリンおよびペルオキシダーゼ結合体化ストレプトアビジン（Ｂｉｏ Ｇｅｎｅｘ，Ｓａｎ Ｒａｍｏｎ，ＣＡ）によって検出する。切片を、ヘマトキシリンで対比染色する。

【０３４６】

剖検後、トランスジェニック動物およびコントロールの同腹仔由来の脾臓および胸腺のＭＬＮおよび切片を取出す。シリンジの平らな末端を用いて１００mmナイロン性細胞ストレーナー（Ｂｅｃｔｏｎ Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ，Ｆｒａｎｋｌｉｎ Ｌａｋｅｓ，ＮＪ）の底に対してこの組織を穏やかに粉砕することによって単細胞懸濁物を調製する。細胞を２回洗浄し、計数し、次いで各組織由来の約１×１０^{6}細胞を、２０μＬ容量において０．５μｇ ＣＤ１６／３２（ＦｃγＩＩＩ／ＩＩ）Ｆｃブロックで１０分間インキュベートする。次いで、サンプルを、ＦＩＴＣまたはＰＥに結合体化した、ＣＤ９０．２（Ｔｈｙ－１．２）、ＣＤ４５Ｒ（Ｂ２２０）、ＣＤ１１ｂ（Ｍａｃ－１）、Ｇｒ－１、ＣＤ４またはＣＤ８に対するモノクローナル抗体（ＰｈａｒＭｉｎｇｅｎ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ）の０．５μｇ抗体を有する、１００μＬ容量のＰＢＳ（Ｃａ$^{+}$およびＭｇ$^{+}$を欠く）、０．１％ウシ血清アルブミンおよび０．０１％アジ化ナトリウム中で２～８℃で３０分間染色する。抗体結合後、細胞を洗浄し、次いでＦＡＣＳｃａｎ（Ｂｅｃｔｏｎ Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）でのフローサイトメトリーによって分析する。

【０３４７】

（実施例９：ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの機能化）

ＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドが、ＩＬ－１、ＩＬ－１８または他のサイトカインに対する細胞応答に影響を与えるか否かを評価するために、以下の実験を行った。最初に、マウスの骨髄細胞を、以前に記載されたとおりのレトロウイルス感染（Ｙａｎら，１９９９，Ｅｘｐ．Ｈｅｍａｔｏｌ．２７：１４０９－１７）によってＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子で形質導入した。次いで、形質導入された骨髄を用いて、致死的に照射されたレシピエントマウスに移植した。造血が回復したら、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ形質導入マウスおよびコントロールマウス（すなわち、空のレトロウイルスベクターで形質導入したマウス）由来の骨髄および脾臓細胞を

、一連の分析（ＦＡＣＳ分析（図１２）、コロニーアッセイ（図１３Ａ～１３Ｂ）およびＩＬ－１２（図１４）またはＩＬ－１２＋ＩＬ－１８（図１５）のいずれかに応じたγ－インターフェロン産生を含む）に供した。

【０３４８】

このデータは、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子の発現が、脾臓中の造血前駆体の特定のサブセット（最も顕著にはG－ＣＳＦはGM－ＣＦＣを誘導した；ＳＣＦ／ＥｐｏはＢＦＵ－Ｅ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導した；そしてＣＳＦ－１はM－ＣＦＣを誘導した）および骨髄中の造血前駆体の特定のサブセット（ＩＬ－３およびＧ－ＣＳＦはGM－ＣＦＣを誘導した；ＳＣＦ／ＥｐｏはＢＦＵ－Ｅ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導し、そしてＩＬ－３／ＥｐｏはGM－ＣＦＣ／ＣＦＵ－Ｍｉｘを誘導した）の相対量および／またはサイトカイン応答に影響を与えることを示唆する。

【０３４９】

ＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの発現はまた、脾細胞上でのＣＤ４およびＮＫ１．１の表面発現の減少と、ならびに脾細胞がＩＬ－１２単独またはＩＬ－１２＋ＩＬ－１８に応じてγ－インターフェロンを産生する能力の減少と相関する。

【０３５０】

本発明を好ましい実施形態に関して記載してきたが、改変および修飾が当業者に思い浮かぶことが理解される。それゆえ、添付の特許請求の範囲が、本願発明の範囲内に入る全てのこのような均等な改変物を包含することが意図される。

【手続補正３】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図面の簡単な説明

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図面の簡単な説明】

【図１】

図１Ａ～１Ｂは、ヒトＩＬ－１ｒａ－R遺伝子のヌクレオチド配列（配列番号１）、およびヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番

号２）を示す。

【図２】

図２Ａ～２Ｂは、ヒトＩＬ－１ｒａ－R遺伝子改変体のヌクレオチド配列（配列番号３）、およびこの改変体によりコードされるヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番号４）を示す。

【図３】

図３は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rスプライス改変体のヌクレオチド配列（配列番号５）、およびこのスプライス改変体によりコードされるヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの推定のアミノ酸配列（配列番号６）を示す。

【図４】

図４Ａ～４Ｂは、ヒトＩＬ－１α（ＩＬ－１＿ａｌｐｈａ；配列番号７）、ヒトＩＬ－１β（ＩＬ－１＿ｂｅｔａ；配列番号８）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニスト（ＩＬ－１ＲＡ；配列番号９）、ヒトＩＬ－δ（ＩＬ－１＿ｄｅｌｔａ；配列番号１０）、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド（ＩＬ－１ｒａ－R；配列番号２）、ヒトＴａｎｇｏ－７７（Ｔａｎｇｏ－７７；配列番号１１）、ヒトＺｉｌｌａ４（Ｚｉｌｌａ４；配列番号１２）、ヒトＩＬ－１ζ（ＩＬ－１＿ｚｅｔａ；配列番号１３）、ヒトＩＬ－１レセプターアンタゴニストβ（ＩＬ－１ＲＡ＿ｂｅｔａ；配列番号１４）、ヒトＳＰＯＩＬ　ＩＩ（ｓｐｏｉｌ＿ＩＩ；配列番号１５）、ヒトＩＬ－１ε（ＩＬ－１＿ｅｐｓｉｌｏｎ；配列番号１６）、およびヒトＩＬ－１η（ＩＬ－１＿ｅｔａ；配列番号１７）のアミノ酸アライメントを示す。

【図５】

図５は、ＩＬ－ｒａ遺伝子ファミリーの系統学的相関を図で示す。

【図６】

図６は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチド（Ｍａｔｕｒｅ　ＣＳ３２９）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドの配列改変体（Ｍａｔｕｒｅ　ＣＳ３２９改変体タンパク質）と、ヒトＩＬ－１ｒａ－Rポリペプチドのスプライス改変体（Ｏｍｅｇａ　３２９タンパク質）との間の相関を図で示す。

【図７】

図７は、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子のヌクレオチド配列（配列番号３５）およびマウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチドの推定アミノ酸配列（配列番号３６）を示す。

【図８】

図８は、ヒトＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｈｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号２）と、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒポリペプチド（ｍｕＩＬ－１ｒａ－Ｒ；配列番号３６）とのアミノ酸配列アライメントを示す。

【図９】

図９Ａ－９Ｉは、マウスＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子（配列番号３７）についてのゲノムヌクレオチド配列を示す。エキソン１－４のコード部分の位置を示す（下線）。

【図１０】

図１０Ａ－１０Ｃは、ノーザンブロット分析により検出される、マウス（図１０Ａ）およびヒト（図１０Ｂ－１０Ｃ）のＩＬ－１ｒａ－Ｒ　ｍＲＮＡ発現を示す。

【図１１】

図１１Ａ～１１Ｂは、抗ＩＬ－１ｒａ－Ｒ抗体を用いるウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図１２】

図１２は、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウイルスベクターを用いて形質導入したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞および骨髄細胞のＦＡＣＳ分析の結果を示す。リンパ球の画分中の細胞の割合を、示された細胞表面マーカーを用いる標準的ＦＡＣＳ分析に供した細胞について示す。

【図１３Ａ】

図１３Ａは、ＩＬ－１ｒａ－Ｒ遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて形質導入したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞および骨髄細胞で行われたコロニーアッセイの結果を示す。形質導入マウスおよびコントロールマウス由来の骨髄細胞および脾細胞を、標準的コ

ロニーアッセイ条件下で培養し、そしてコロニーを１４日目に計数した。

【図１３Ｂ】

図１３Ｂは、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて形質導入したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞および骨髄細胞で行われたコロニーアッセイの結果を示す。形質導入マウスおよびコントロールマウス由来の骨髄細胞および脾細胞を、標準的コロニーアッセイ条件下で培養し、そしてコロニーを１４日目に計数した。

【図１４】

図１４は、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて形質導入したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞におけるＩＬ－１２処置に対する応答としてのγ－インターフェロンの産生を示す。馴化培地のサンプルを、ＩＬ－１２（１ｎｇ／ｍｌ）の存在下で４８時間増殖させた培地（２×１０^{6}細胞／ウェル／ｍｌ）から取り出し、そしてＩＦＮ－γをＥＬＩＳＡにより定量した。

【図１５】

図１５は、ＩＬ－１ｒａ－R遺伝子を含むレトロウィルスベクターを用いて形質導入したマウス骨髄細胞を移植した、致死照射したレシピエントマウスから回収した脾細胞におけるＩＬ－１２およびＩＬ－１８処置に対する応答としてのγ－インターフェロンの産生を示す。馴化培地のサンプルを、ＩＬ－１２（１ｎｇ／ｍｌ）およびＩＬ－１８（１０ｎｇ／ｍｌ）の存在下で４８時間増殖させた培地（２×１０^{6}細胞／ウェル／ｍｌ）から取り出し、そしてＩＦＮ－γをＥＬＩＳＡにより定量した。

【手続補正４】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図６

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図６】

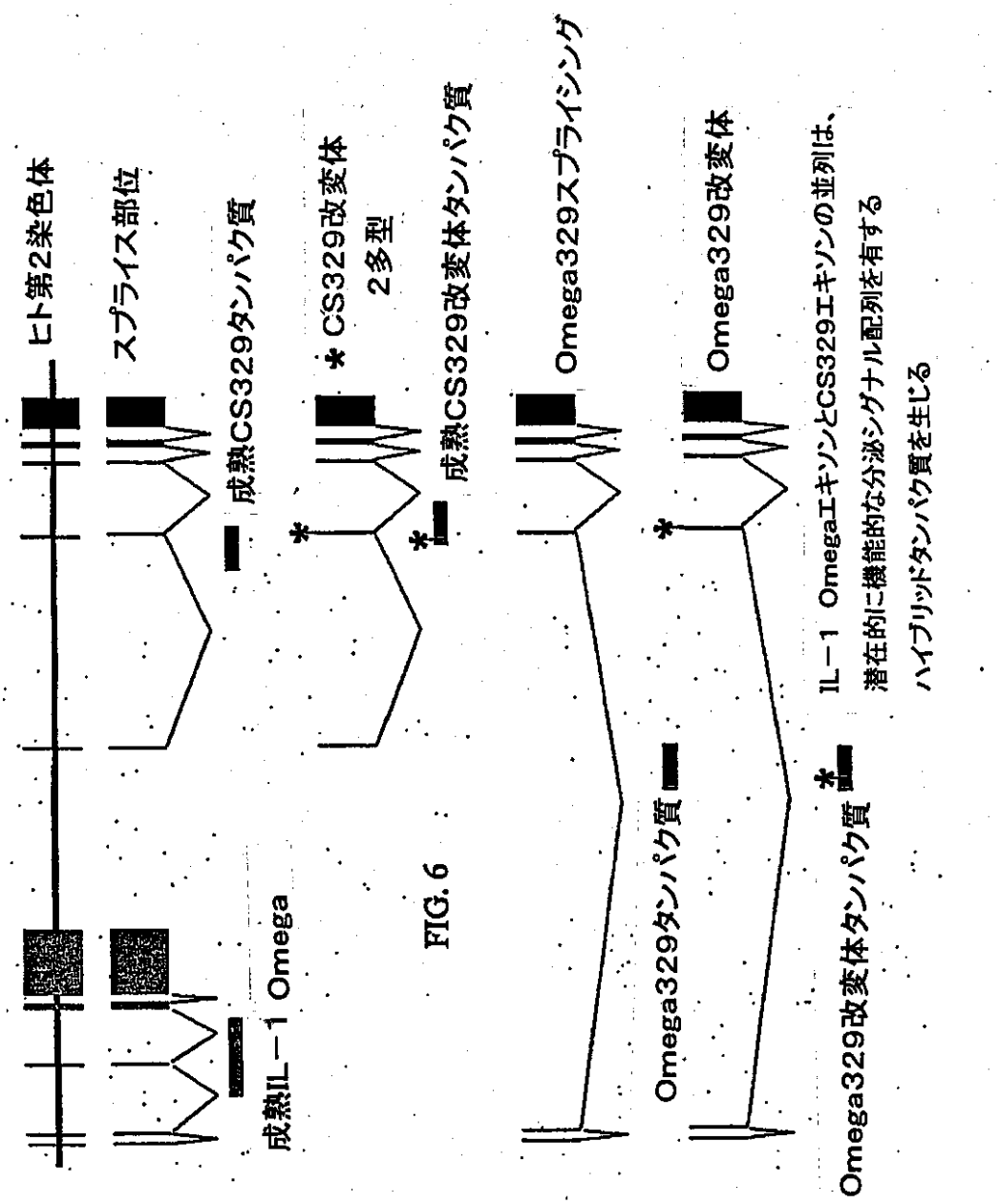


FIG. 6

【手続補正５】

【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】図１０

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図１０】

FIG. 10C

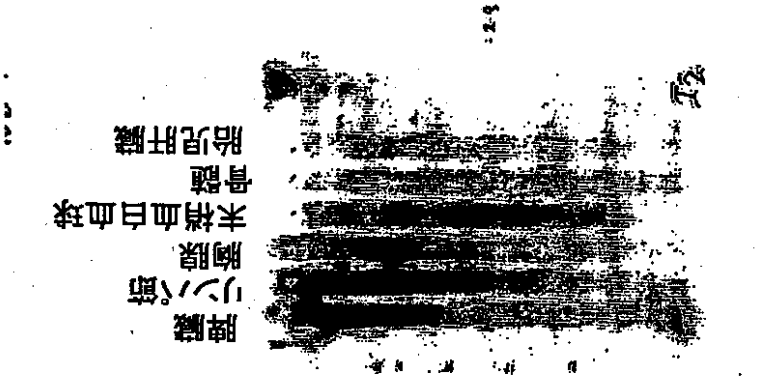


FIG. 10B

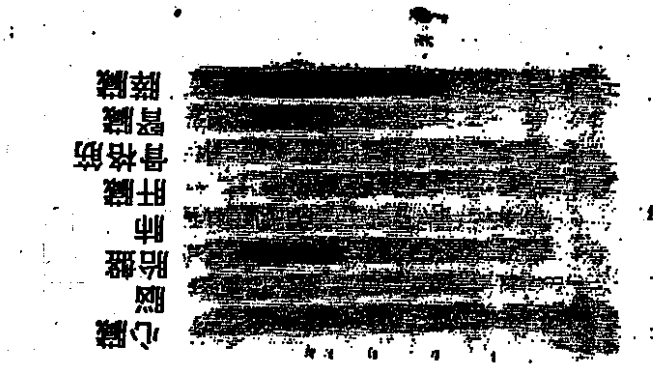
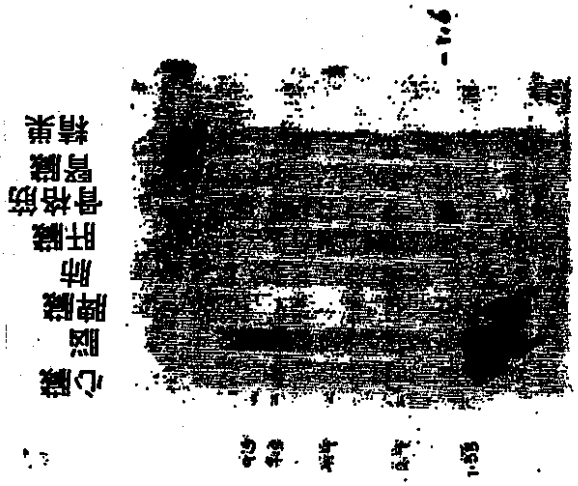


FIG. 10A



【手続補正６】

【補正対象書類名】図面

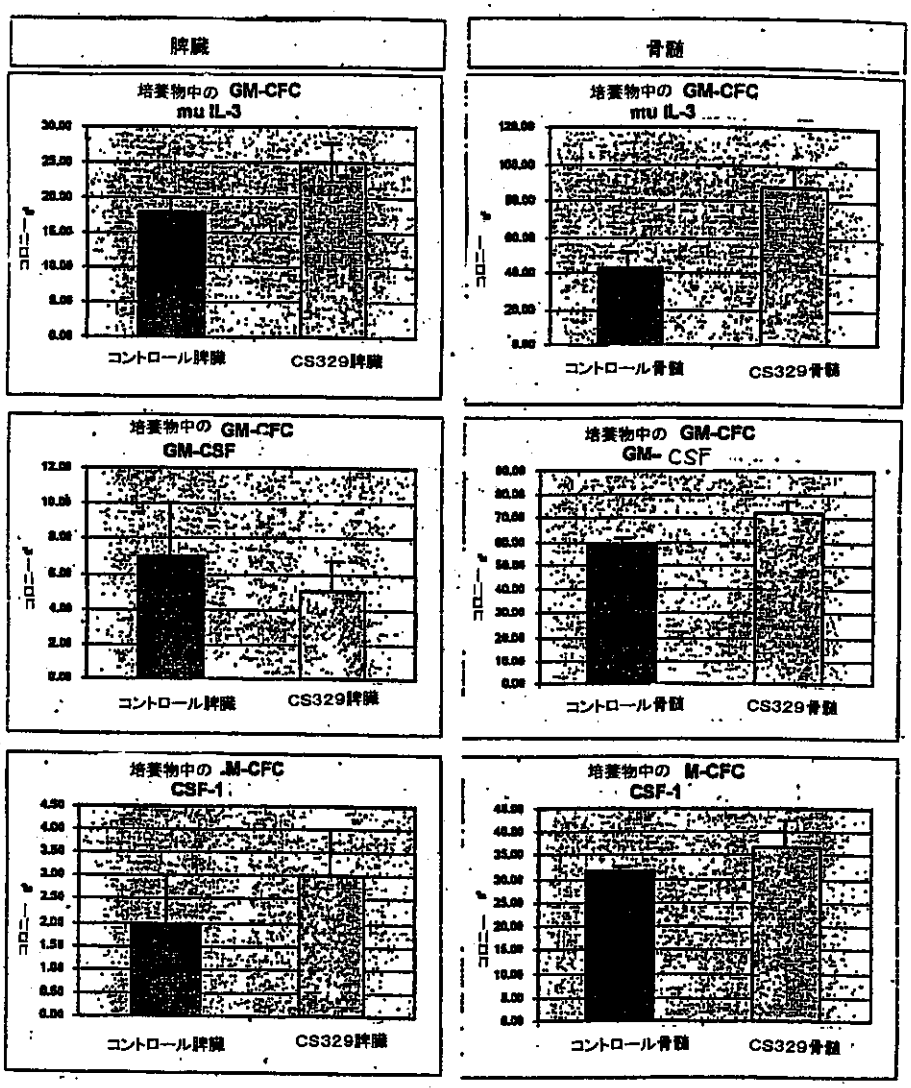
【補正対象項目名】図１３Ａ

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図１３Ａ】

FIG. 13A



【手続補正７】

【補正対象書類名】図面

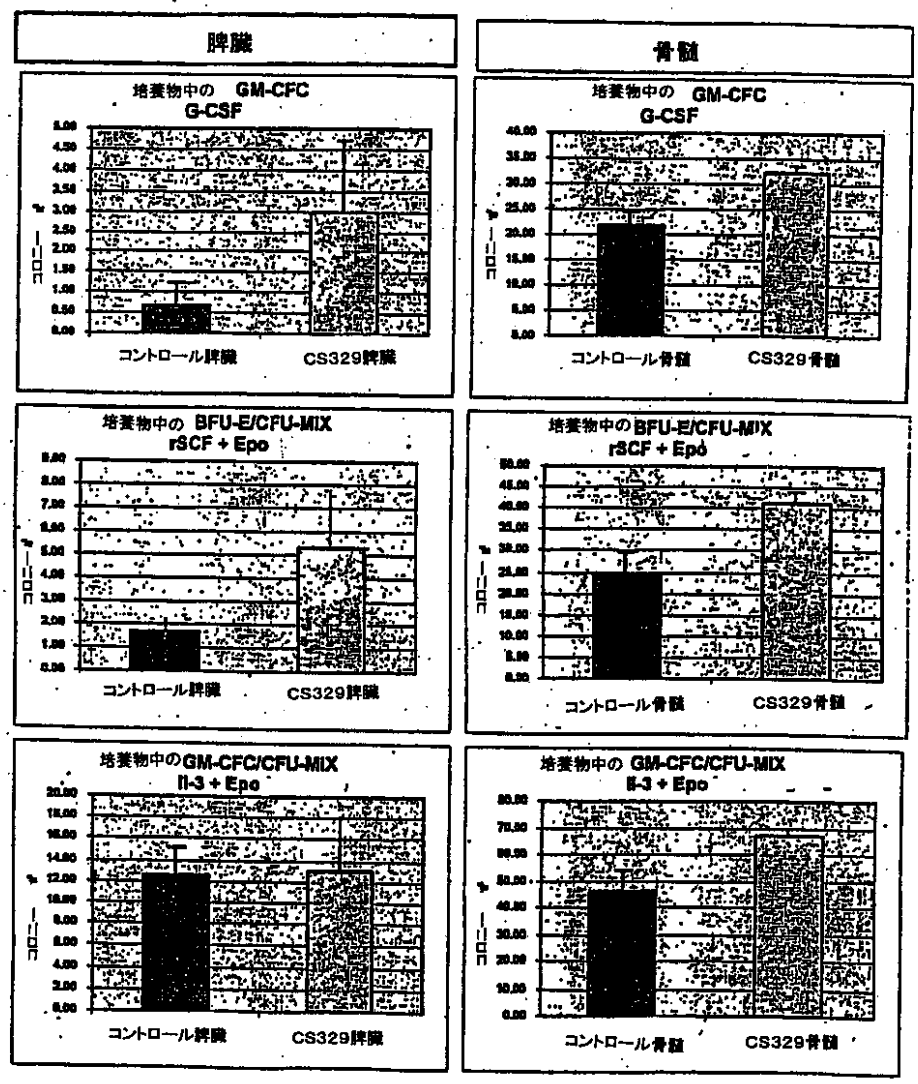
【補正対象項目名】図１３Ｂ

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図１３Ｂ】

FIG. 13B



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In al Application No
PCT/US 00/32940

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07K14/54 C07K14/545 C07K16/24 C12N15/24 G01N33/68
A61K38/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EISENBERG S P ET AL: "INTERLEUKIN 1 RECEPTOR ANTAGONIST IS A MEMBER OF THE INTERLEUKIN 1 GENE FAMILY EVOLUTION OF A CYTOKINE CONTROL MECHANISM" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 88, no. 12, 1991, pages 5232-5236, XP000986092 1991 ISSN: 0027-8424 abstract --- -/--	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54

[X] Further documents are listed in the continuation of box C.

[X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 March 2001	05.04.01

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016	Meyer, W

3

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No
PCT/US 00/32940

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CARTER D B ET AL: "PURIFICATION, CLONING, EXPRESSION AND BIOLOGICAL CHARACTERIZATION OD AN INTERLEUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST PROTEIN" NATURE,GB,MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, vol. 344, no. 6267, 12 April 1990 (1990-04-12), pages 633-638, XP002038695 ISSN: 0028-0836 abstract	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54
A	J J MULERO ET AL: "iL-1HY1: A novel Interleukin-1 Receptor Antagonist gene" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS,US,ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, vol. 263, no. 3, 5 October 1999 (1999-10-05), pages 702-706, XP002126222 ISSN: 0006-291X abstract	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54
A	HANNUM C H ET AL: "INTERLEUKIN-1 RECEPTOR ANTAGONIST ACTIVITY OF A HUMAN INTERLEUKIN-1INHIBITOR" NATURE,GB,MACMILLAN JOURNALS LTD. LONDON, vol. 343, 1990, pages 336-346, XP000910262 ISSN: 0028-0836 abstract	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54
A	AREND W P ET AL: "Interleukin-1 receptor antagonist: role in biology" ANNUAL REVIEW OF IMMUNOLOGY,US,ANNUAL REVIEWS INC, vol. 16, 1998, pages 27-55, XP000864694 ISSN: 0732-0582 abstract	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54
P,X	WO 00 71719 A (HYSEQ INC) 30 November 2000 (2000-11-30) the whole document	1,2, 4-14,16, 17, 20-29, 36-54

3

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 00/32940

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 36, 47, 48 and 52 are directed to a method of treatment or to a diagnostic method practised on the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [X] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US 00 32940

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1 (c), 1 (d), 3, 14 (c), 15, 18, 19, 30-35, 55, 56 and partially claims 20, 23-29

Claims 18, 19, 30-35 refer to selective binding agents or fragment thereof of the polypeptide of claim without giving a true technical characterization. Moreover, no such specific compounds are defined in the application. In consequence, the scope of said claims are ambiguous and vague, and their subject-matter is not sufficiently disclose and supported (Art. 5 and Art. 6 PCT). No search can be carried our for such purely speculative claims, which wording is, in fact, a mere recitation of the result to be achieved.
The above comments applies also partially to claims 20, 23-29 in theire reference to any fragment of an antibody.

Furthermore present claims 1 (c), 1 (d), 3, 14 (c), 15, 55 and 56 relate to an extremely large number of variations. In fact, the claims contains so many options that a lack of clarity (and/or conciseness) within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT arises .
Consequently, no search has been carried out for the subject-matter of claims 1 (c), 1 (d), 3, 14 (c), 15, 55 and 56.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Int ial Application No
PCT/US 00/32940

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0071719 A	30-11-2000	AU 5282600 A	12-12-2000

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	識別記号	FI		テーマコード(参考)
Ａ６１Ｋ 48/00		Ａ６１Ｐ 1/16		４Ｃ０８４
Ａ６１Ｐ 1/16		3/04		４Ｃ０８５
3/04		3/10		４Ｃ０８６
3/10		11/00		４Ｈ０４５
11/00		17/02		
17/02		17/06		
17/06		19/02		
19/02		25/00		
25/00		29/00		
29/00			１０１	
	１０１	31/04		
31/04		31/12		
31/12		37/00		
37/00		Ｃ０７Ｋ 14/47		
Ｃ０７Ｋ 14/47		16/18		
16/18		16/42		
16/42		17/08		
17/08		19/00		
19/00		Ｃ１２Ｎ 1/15		
Ｃ１２Ｎ 1/15		1/19		
1/19		1/21		
1/21		Ｃ１２Ｐ 21/02		Ｃ
5/10		Ｃ１２Ｑ 1/02		
Ｃ１２Ｐ 21/02		Ｇ０１Ｎ 33/15		Ｚ
Ｃ１２Ｑ 1/02		33/50		Ｚ
Ｇ０１Ｎ 33/15		33/53		Ｄ
33/50		Ｃ１２Ｐ 21/08		
33/53		Ｃ１２Ｎ 15/00		Ａ
// Ｃ１２Ｐ 21/08		5/00		Ａ
				Ｂ

(31)優先権主張番号　６０／１９４，５２１
(32)優先日　平成12年４月４日(2000．4．4)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　６０／１９５，９１０
(32)優先日　平成12年４月10日(2000．4．10)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）
(31)優先権主張番号　０９／７２４，５８３
(32)優先日　平成12年11月28日(2000．11．28)
(33)優先権主張国　米国（ＵＳ）

(81)指定国 ＥＰ(ＡＴ，ＢＥ，ＣＨ，ＣＹ，ＤＥ，ＤＫ，ＥＳ，ＦＩ，ＦＲ，ＧＢ，ＧＲ，ＩＥ，ＩＴ，ＬＵ，ＭＣ，ＮＬ，ＰＴ，ＳＥ，ＴＲ)，ＯＡ(ＢＦ，ＢＪ，ＣＦ，ＣＧ，ＣＩ，ＣＭ，ＧＡ，ＧＮ，ＧＷ，ＭＬ，ＭＲ，ＮＥ，ＳＮ，ＴＤ，ＴＧ)，ＡＰ(ＧＨ，ＧＭ，ＫＥ，ＬＳ，ＭＷ，ＭＺ，ＳＤ，ＳＬ，ＳＺ，ＴＺ，ＵＧ，ＺＷ)，ＥＡ(ＡＭ，ＡＺ，ＢＹ，ＫＧ，ＫＺ，ＭＤ，ＲＵ，ＴＪ，ＴＭ)，ＡＥ，ＡＧ，ＡＬ，ＡＭ，ＡＴ，ＡＵ，ＡＺ，ＢＡ，ＢＢ，ＢＧ，ＢＲ，ＢＹ，ＢＺ，ＣＡ，ＣＨ，ＣＮ，ＣＲ，ＣＵ，ＣＺ，ＤＥ，ＤＫ，ＤＭ，ＤＺ，ＥＥ，ＥＳ，ＦＩ，ＧＢ，ＧＤ，ＧＥ，ＧＨ，ＧＭ，ＨＲ，ＨＵ，ＩＤ，ＩＬ，ＩＮ，ＩＳ，ＪＰ，ＫＥ，ＫＧ，ＫＰ，ＫＲ，ＫＺ，ＬＣ，ＬＫ，ＬＲ，ＬＳ，ＬＴ，ＬＵ，ＬＶ，ＭＡ，ＭＤ，ＭＧ，ＭＫ，ＭＮ，ＭＷ，ＭＸ，ＭＺ，ＮＯ，ＮＺ，ＰＬ，ＰＴ，ＲＯ，ＲＵ，ＳＤ，ＳＥ，ＳＧ，ＳＩ，ＳＫ，ＳＬ，ＴＪ，ＴＭ，ＴＲ，ＴＴ，ＴＺ，ＵＡ，ＵＧ，ＵＳ，ＵＺ，ＶＮ，ＹＵ，ＺＡ，ＺＷ

(72)発明者 ム， シャロン エックス.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91362，サウザンド オークス， リッカード ドライブ 2954

(72)発明者 シァ， ミン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91320，ニューベリー パーク， カジェ ブエナ ヴィスタ 3946

(72)発明者 バス， マイケル ブライアン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91360，サウザンド オークス， エヌ. マリアン アベニュー 1743

(72)発明者 クラヴェイロ， ロジャー
アメリカ合衆国 カリフォルニア 91360，サウザンド オークス， イースト ウィルバー ロード 384， アパートメント 203

Ｆターム(参考)　2G045 AA25 AA40 BA13 BB03 BB20
CB01 CB21 DA12 DA13 DA14
DA36 DA77 FB03 FB04 FB07
4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 CA12
DA02 DA03 GA13 HA11 HA17
4B063 QA18 QQ08 QQ79 QR48 QR77
4B064 AG01 AG27 CA19 CA20 CC24
CE06 CE12 DA01 DA15
4B065 AA26X AA90X AA90Y AA93X
AA93Y AB01 BA05 CA24
CA44 CA46
4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17
BA22 BA35 CA53 CA56 MA52
MA55 MA66 NA14 ZA011
ZA591 ZA701 ZA751 ZA891
ZA961 ZB071 ZB111 ZB151
ZB331 ZB351 ZC351 ZC781
4C085 AA38 EE06 FF24 GG01 GG08
4C086 AA01 AA02 EA16 MA52 MA55
MA66 NA14 ZA01 ZA59 ZA75
ZA89 ZA96 ZB07 ZB11 ZB15
ZB33 ZB35 ZC35 ZC78
4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10
BA41 BA57 CA45 DA75 EA29
EA53 FA74 GA10 GA26

专利名称(译)	白细胞介素-1受体拮抗剂相关分子及其用途		
公开(公告)号	JP2003518371A	公开(公告)日	2003-06-10
申请号	JP2001543599	申请日	2000-12-04
[标]申请(专利权)人(译)	安姆根有限公司		
申请(专利权)人(译)	安进公司		
[标]发明人	サリスクリスティアーンエム ジレスジェニファー ムシャロンエックス シァミン バスマイケルブライアン クラヴェイロロジャー		
发明人	サリス, クリスティアーン エム. ジレス, ジェニファー ム, シャロン エックス. シァ, ミン バス, マイケル ブライアン クラヴェイロ, ロジャー		
IPC分类号	A01K67/027 A61K31/711 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/39 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/16 A61P3/04 A61P3/10 A61P11/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P37/00 C07K14/47 C07K14/54 C07K16/18 C07K16/24 C07K16/42 C07K17/08 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1/02 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	C07K14/54 A61K38/00 A61K39/00 A61K48/00 C07K16/244 C07K2319/00 C07K2319/30 C12N2799/021		
FI分类号	A01K67/027 A61K31/711 A61K39/39 A61K45/00 A61K48/00 A61P1/16 A61P3/04 A61P3/10 A61P11/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P29/00 A61P29/00.101 A61P31/04 A61P31/12 A61P37/00 C07K14/47 C07K16/18 C07K16/42 C07K17/08 C07K19/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D C12P21/08 C12N15/00.A C12N5/00.A C12N5/00.B		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/BB20 2G045/CB01 2G045/CB21 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/DA77 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA12 4B024/DA02 4B024/DA03 4B024/GA13 4B024/HA11 4B024/HA17 4B063/QA18 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QR77 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE06 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA15 4B065/AA26X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/BA05 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA22 4C084/BA35 4C084/CA53 4C084/CA56 4C084/MA52 4C084/MA55 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA011 4C084/ZA591 4C084/ZA701 4C084/ZA751 4C084/ZA891 4C084/ZA961 4C084/ZB071 4C084/ZB111 4C084/ZB151 4C084/ZB331 4C084/ZB351 4C084/ZC351 4C084/ZC781 4C085/AA38 4C085/EE06 4C085/FF24 4C085/GG01 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA52 4C086/MA55 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA01 4C086/ZA59 4C086/ZA75 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZB07 4C086/ZB11 4C086/ZB15 4C086/ZB33 4C086/ZB35 4C086/ZC35 4C086/ZC78 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/BA57 4H045/CA45 4H045/DA75 4H045/EA29 4H045/EA53 4H045/FA74 4H045/GA10 4H045/GA26		

优先权	60/170191 1999-12-10 US 60/188053 2000-03-09 US 60/194521 2000-04-04 US 60/195910 2000-04-10 US 09/724583 2000-11-28 US
其他公开文献	JP3842647B2
外部链接	Espacenet

摘要(译)

本发明提供了新的白介素-1受体拮抗剂相关（IL-1ra-R）多肽和编码该多肽的核酸分子。 本发明还提供选择性结合剂，载体，宿主细胞和产生IL-1ra-R多肽的方法。 本发明进一步提供了用于诊断，治疗，改善和/或预防与IL-1ra-R多肽有关的疾病，病症和病状的药物组合物和方法。 本发明还包括含有编码IL-1ra-R多肽的核酸分子的转基因非人动物。

もとの残基	例示の保存的置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	Norleucine, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4 ジアミノ酪酸、Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu