(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) 。Int. Cl. [6]
C12N 15/24
C07K 13/00

(45) 공고일자 2002년11월30일
(11) 등록번호 10-0332139
(24) 등록일자 2002년03월28일

(21) 출원번호 10-1995-0702054
(22) 출원일자 1995년05월20일
번역문 제출일자 1995년05월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US1993/11197
(86) 국제출원출원일자 1993년11월22일

(65) 공개번호 특1995-0704490
(43) 공개일자 1995년11월20일

(87) 국제공개번호 WO 1994/12638
(87) 국제공개일자 1994년06월09일

(81) 지정국 국내특허 : 오스트레일리아, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 캐나다, 체코, 헝가리, 일본, 북한, 대한민국, 스리랑카, 마다가스카르, 몽고, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 루마니아, 슬로바키아, 우크라이나, 미국, 베트남, 라트비아,
AP ARIPO특허: 말라위, 수단,
EA 유라시아특허: 벨라루스, 카자흐스탄, 러시아,
EP 유럽특허: 오스트리아, 스위스, 리히텐슈타인, 독일, 덴마크, 스페인, 핀랜드, 영국, 룩셈부르크, 네덜란드, 포르투칼, 스웨덴,
OA OAPI특허: 부르키나파소, 베넹, 중앙아프리카, 콩고, 코트디브와르, 카메룬, 가봉, 기네, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고,

(30) 우선권주장 07/981044 1992년11월24일 미국(US)

(73) 특허권자 지.디. 썰 엘엘씨
미국 일리노이주 60680-5110 시카고 피.오.박스 5110 코퍼레이트 페이턴트 디파트먼트

(72) 발명자 에스.크리스토퍼바우어
미합중국미주리63068뉴하벤알알#1박스108에이
마크알렌아브람스
미합중국미주리63130세인트루이스블랙베리아베뉴7723
사라루쓰브래포드-골드버그
미합중국미주리63108세인트루이스웨스트파인#104111
메레헬레나카파론
미합중국미주리63017체스터필드비취우드코트109
알란마이클이스톤
미합중국미주리63146메릴랜드하이츠세븐파인스드라이브#72317
바바라쿠어클라인
미합중국미주리63131타운앤드컨트리토핑이스테이츠12917
존패트릭맥키언
미합중국미주리63038글렌코하이웨이씨.1430
피터오.올린스
미합중국미주리63038글렌코서미트뷰17507
금난백
미합중국미주리63021볼윈알파인리지1021
존워랜토마스
미합중국미주리63131타운앤드컨트리메이슨밸리코트13426

(74) 대리인 장용식
박종혁
정진상

심사관 : 안미정

(54) 인터류킨-3(IL-3)복합돌연변이폴리펩티드

요약

본 발명은 재조합 사람 인터류킨-3(hIL-3) 변이체 또는 돌연변이체 단백질(뮤테인)에 관한 것이다. 이 hIL-3뮤테인은 아미노산 치환을 포함하고 또한 N- 및 C- 말단에서 아미노산 결실을 가질 수 있다. 본 발명은 또한 hIL-3뮤테인을 포함하는 제약조성물 및 그것의 사용 방법에도 관련된다. 부가적으로, 본 발명은 hIL-3뮤테인을 코드화하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 재조합체 발현벡터, 연관된 미생물 발현시스템, 미생물 발현 시스템을 사용하여 hIL-3뮤테인을 제조하는 방법에도 관련된다.

N- 말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실되고, C-말단으로부터 1내지 15 아미노산 119 내지 133 이 결실되고, 또한 폴리펩티드내에 아미노산 치환을 포함하는 hIL-3의 결실돌연변이체도 본 발명에 포함된다. 이러한 hIL-3 복합 돌연변이 폴리펩티드는 hIL-3와 유사하거나 더 나은 생물학적 활성을 가질수 있고, 어떤 경우에는 또한 개선된 부작용 프로필을 가질 수 있다.

명세서

도면의 간단한 설명

제 1도는E. coli에서 발현될때 개시 메티오닌 + 천연(야생형) 사람 IL-3의 폴리펩티드 서열[SEQ ID NO: 128]을 코딩하는E. coli 발현을 위한 사람 IL-3 유전자(pMON 5873)이다. 여기서 아미노산은 천연 hIL-3의 N-말단으로부터 넘버링되었다.

제 2도는 Cla I내지 NsiI 치환단편이다. 제 2도는 hIL-3 유전자의 ClaI과 NsiI 위치 사이에서 사용된 치환단편의 뉴클레오티드서열을 보여준다. 이 단편에서 사용된 코돈선택은 매우 높게 발현되는E. coli 유전자에서 발견되는 것에 해당한다.(Gouy 및 Gautier, 1982). 합성유전자 단편을 삽입하기 위해서 3개의 새로운 단일제한위치, EcoRV, XhoI 및 PstI 을 도입하였다. 보여지는 코딩서열부분은 hIL-3 아미노산 20-70을 암호화 한다.

제 3도는 NcoI 에서 HindIII까지 연장된 서열을 갖는 pMON5873 내의 유전자의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열을 보여준다. 아미노산 1-14 및 107-133을 암호화하는데 사용된 코돈선택은 매우 높게 발현되는 E. coli 유전자에서 발견되는 것에 해당한다.

제 4도는 [Met-(1-133)hIL-3(Arg ^{129})]을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5846의 구조를 나타낸다.

제 5도는 [Met-(1-133)hIL-3(Arg ^{129})]을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5847(ATCC 68912)의 구조를 나타낸다.

제 6도는 [Met-(15-133)hIL-3(Arg ^{129})]을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5853의 구조를 나타낸다.

제 7도는 [Met-(1-133)hIL-3(Arg ^{129})]을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5854의 구조를 나타낸다.

제 8도는 LamB 시그날 펩티드의 DNA서열과 결과적인 아미노산 서열을 나타낸다.

제 9도는 Met-Ala-(15-125)hIL-3을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5978의 구조를 나타낸다.

제10도는 Met-Ala-(15-125)hIL-3을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5988의 구조를 나타낸다.

제11도는 Met-(1-125)hIL-3을 암호화하는 플라스미드 벡터 pMON5887의 구조를 나타낸다.

제12도는 (15-125)hIL-3을 암호화하는 pMON6457의 구조를 나타낸다. 그것은 araBAD 프로모터 및 변이체 hIL-3 아미노산 15-125에 융합된 LamB 시그날 펩티드를 포함한다.

제13도는 pMON6458의 구조를 나타낸다. 그것은 araBAD 프로모터 및 변이체 hIL-3 아미노산 15-125에 융합된 LamB 시그날 펩티드를 포함한다.

제14도는 pMON13359의 구조를 나타낸다.

제15도는 pMON13352의 구조를 나타낸다.

제16도는 pMON13360의 구조를 나타낸다.

제17도는 pMON13363의 구조를 나타낸다.

제18도는 pMON13364의 구조를 나타낸다.

제19도는 pMON13365의 구조를 나타낸다.

제20도는 pMON13287의 구조를 나타낸다.

제21도는 pMON13288의 구조를 나타낸다.

제22도는 pMON13289의 구조를 나타낸다.

제23도는 pMON 5723의 구조를 나타낸다.

제24도는 pMON13438의 구조를 나타낸다.

발명의 상세한 설명

본 출원은 1992년 11월 24일 출원한 미국특허출원 제 07/981,044호의 일부계속출원이며, 이것은 참고문헌으로 여기서 통합되었다.

발명의 분야

본 발명은 다수의 아미노산 치환을 포함하고 천연 hIL-3분자의 일부가 결실될 수 있는 사람 인터류킨-3(hIL-3)의 돌연변이체 또는 변이체에 관한 것이다.

이러한 hIL-3 복합돌연변이 폴리펩티드는 천연 hIL-3의 하나이상의 활성을 유지하고, 또한 천연 hIL-3와 연관된 바람직하지 않은 생물학적 활성의 감소를 포함할 수 있는 개선된 활성프로필 및/또는 개선된 조혈세포 자극활성을 나타낼 수 있다.

발명의 배경

골수세포의 분화 및/또는 증식을 자극하는 콜로니자극인자(CSF) 는 조혈간세포(幹細胞)-유래 세포의 저하된 레벨을 회복시킬 수 있는 치료적 가능성 때문에 많은 관심을 일으켰다. 사람 및 뮤린 시스템의 CSF는 그것의 활성에 따라 확인 및 식별되었다. 예컨대, 과립구-CSF(G-CSF) 및 매크로파지-CSF(M-CSF)는 각각 호중성(好中性) 과립구 및 매크로파지 콜로니의 시험관내 형성을 자극시키지만, GM-CSF 및 인터류킨-3(IL-3)은 보다 넓은 활성을 가져서 매크로파지, 호중성 및 호산성 과립구 콜로니의 형성을 자극시킨다. IL-3은 또한 비만세포, 거대핵세포 및 순수 및 혼합 적혈구 콜로니의 형성을 자극시킨다.

많은 다른 세포유형의 증식을 자극하고 선구세포의 성장과 증식을 지지할 수 있는 능력 때문에 IL-3은 질환 또는 방사선과 화학요법 같은 치료에 기인하여 세포수가 감소된 경우에 조혈세포를 정상적인 양으로 회복시키는데 있어서 치료적 이용 가능성을 갖는다.

인터류킨-3(IL-3)은 조혈세포의 생존, 성장 및 분화를 촉진시킬 수 있는 성질을 갖는 조혈성장인자이다. IL-3의 생물학적 성질중에는 (a)모두, 또는 거의 모두 혈구 계통으로 되는 선구세포의 성장과 분화를 유지하고; (b) 초기 다(多)잠재성 간세포와 상호작용하고; (c) 다능성(多能性) 선구세포의 성장을 유지하고; (d) 만성골수성 백혈병(CML) 세포의 증식을 자극하고; (e) 비만세포, 호산구(eosinophil)및 호염기구(basophil)의 증식을 자극하고; (f) 사람 급성 골수성 백혈병(AML) 세포에 의한 DNA생성을 자극하고; (g) 세포를 류코트리엔 및 히스타민의 생성을 위해 준비시키고; (h) 백혈구 화학주성을 유도하고; (i) 백혈구 접착에 필요한 새포표면 분자를 유도하는 능력이 있다.

성숙 사람 인터류킨-3(hIL-3)은 133 아미노산으로 이루어진다.

그것은 하나의 디술피드 브리지 및 두 가능성 있는 글리코실화 부위를 갖는다(Yang, et al., CELL 47:3 (1986)).

뮤린 IL-3(mIL-3)은 T세포 연관 효소, 20-히드록시스테로이드 탈수소 효소의 발현을 유도하는 인자로서 Ihle, et al., J. IMMUNOL. 126:2184 (1981)에 의해 먼저 확인되었다. 이 인자는 균질적으로 정제되었고 무수한 부류의 초기 조혈 및 림프 선구세포의 성장과 분화를 조절하는 것으로 보여졌다.

1984년에 뮤린 IL-3를 코딩하는 cDNA클론이 분리되었다(Fung, et al., NATURE 307:233 (1984)및 Yakota, et al., PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 81:1070 (1984)).

뮤린 DNA서열은 추정 시그날 펩티드를 포함하는 166아미노산의 폴리펩티드를 코딩하였다.

긴팔원숭이 IL-3 서열은 긴팔원숭이 cDNA발현 라이브러리를 이용하여 얻어졌다.

그다음 긴팔원숭이 IL-3 서열을 사람 IL-3 서열을 얻기 위해서 사람 게놈라이브러리에 대한 프로브로서 사용하였다.

뮤린 IL-3 서열의 긴팔원숭이 및 사람 게놈 DNA상동체는 Yang, et al., CELL 47:3 (1986)에 의해 개시되었다. Yang, et al에 의해 발표된 사람 서열은 성숙 단백질 서열의 위치 8에서 세린 잔기를 포함했다. 이 발견에 이어서 다른 사람들은 단백질 서열의 위치 8에서 프롤린을 갖는 Pro^{8} hIL-3 cDNA의 분리를 발표하였다.

따라서 두 대립형태의 hIL-3가 있을 수 있는것 같다.

Dorssers, et al., GENE 55:115 (1987) 은 mIL-3과 혼성화하는 사람 cDNA 라이브러리의 클론을 발견하였다. 이 혼성화는 mIL-3과 hIL-3의 3' 비코딩영역 사이의 높은 정도의 상동성 결과였다. 이 cDNA는 hIL-3(Pro^{8}) 서열을 코딩하였다.

미국특허 4,877,729및 미국특허 4,959,454는 사람 IL-3 및 긴팔원숭이 IL-3 cDNA 그리고 그것이 암호화하는 단백질 서열을 개시한다.

개시된 hIL-3은 단백질서열의 위치 8에서 프롤린이 아닌 세린을 갖는다.

Clark-Lewis, et al., SCIECE 231:134 (1986) 은 자동펩티드 합성기로 합성된 뮤린 IL-3 유사체의 기능분석을 행하였다.

그들은 전체분자의 안정한 3차구조가 완전한 활성에 필요하다고 결론지었다.

디술피드 브리지의 역할에 대한 연구는 4개의 시스테인 모두를 알라닌에 의해 치환하면 천연분자의 1/500활성을 갖는 분자가 된다는 것을 보였다. 4 개의 Cys잔기중 두개를 Ala으로 치환하면(Cys^{79}, Cys^{140} → Ala^{79}, Ala^{140}) 증가된 활성을 나타냈다. 그들은 뮤린 IL-3에서 생리적 수준에 가까운 생물학적 활성을 얻기 위해서는 시스테인 17과 80 사이에서 단일의 디술피드 브리지가 필요하고 이 구조는 아마도 단백질의 3차구조를 안정화하여 기능에 최적인 형태를 제공한다고 결론을 내렸다(Clark-Lewis. et al., PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 85:7897 (1988)).

국제특허출원(PCT) WO 88/00598은 긴팔원숭이 - 및 사람 - 유사 IL-3 를 개시한다.

hIL-3은 Ser^{8}→Pro^{8} 치환을 포함한다. Cys을 Ser에 의해 치환하여 디술피드 브리지를 깨뜨리고, 글리코실화 부위에서 하나이상의 아미노산을 치환하려는 제안이 행해졌다. EP-A-0275598(WO 88/04691)은 Ala^{1}은 생물학적 활성을 유지하면서 결실될 수 있다는 것을 기술하고 있다. 일부 돌연변이체 hIL-3서열, 예컨대 두 이중돌연변이체, Ala^{1}→Asp^{1}, Trp^{13} →Arg^{13} (pGB/IL-302) 및 Ala^{1}→Asp^{1}, Met^{3}→Thr^{3} (pGB/IL-304) 그리고 하나의 삼중돌연변이체 Ala^{1}→ Asp^{1}, Leu^{9}→ Pro^{9}, Trp^{13} →Arg^{13} (pGB/IL-303)가 제공되었다.

WO 88/05469는 탈글리코실화 돌연변이체를 얻을 수 있는 방법을 기술하고 돌연변이체 Arg^{54} Arg^{55} 및 Arg^{108} ARG ^{109} Lys^{110} 은Saccaromycescerevisiae 에서의 발현시 KEX2 프로테아제에 의한 단백질분해를 회피할 수 있다고 제안했다. 어떤 돌연변이된 딘백질도 개시되지 않았다. 이것과 관련하여 글리코실화 및 KEX2 프로테아제활성은 단지 효모에서의 발현시 중요하다.

WO 88/06161은 이론적으로 형태에 있어서 그리고 항원성에 있어서 중성일 수 있는 각종 돌연변이체를 언급한다. 유일하게 실제 수행된 돌연변이는 $Met^{2} \rightarrow Ile^{2}$ 및 $Ile^{131} \rightarrow Leu^{131}$ 이다. 이 두 돌연변이에 대해서 추정된 중성이 얻어졌는지의 여부는 개시되지 않았다.

WO 91/00350은 비글리코실화된 hIL-3유사체 단백질, 가령 hIL-3($Pro^{8}Asp^{15}Asp^{70}$), Met^{3}rhul-3($Pro^{8}Asp^{15}ASP^{70}$); Thr^{4}rhuL-3($Pro^{8}ASP^{15}Asp^{70}$) 및 Thr^{6}rhuIL-3(($Pro^{8}Asp^{15}Asp^{70}$)을 개시한다. 이러한 단백질 조성은 비만세포와 림프구의 진피속으로의 침윤으로부터 생기는 두드러기 같은 천연 hIL-3과 연관된 어떤 부작용을 나타내지 않는다고 한다. 개시된 유사체 hIL-3단백질은 Met^{3}, Thr^{4}, Thr^{8}에서 N말단을 가질 수 있다.

WO 91/12874는 천연적으로 존재하는 아미노산잔기 대신에 치환된 적어도 하나의 Cys잔기를 갖는 IL-3의 시스테인 첨가된 변이체(CAV)를 개시한다.

발명의 요약

본 발명은 재조합 사람 인터류킨-3(hIL-3) 변이체 또는 돌연변이체 단백질(뮤테인; mutein)에 관한 것이다. 이 hIL-3뮤테인은 아미노산 치환을 포함하고 또한 N-말단과 C-말단중 어느것 또는 둘다에서 아미노산 결실을 가질 수 있다.

바람직하게는, 본 발명의 이러한 돌연변이체 폴리펩티드는 천연 hIL-3폴리펩티드의 대응 위치에서 발견되는 아미노산과는 다른 4 또는 그 이상의 아미노산을 포함한다.

본 발명은 또한 hIL-3뮤테인을 포함하는 제약학적 조성물, 뮤테인을 코딩하는 DNA 및 뮤테인을 이용하는 방법에도 관련된다. 부가적으로, 본 발명은 hIL-3뮤테인을 코딩하는 뉴클레오티드서열을 함유하는 재조합 발현벡터, 연관된 미생물의 발현시스템, 및 미생물발현 시스템을 이용하여 hIL-3뮤테인을 제조하는 방법에도 관련된다.

본 발명은 N-말단에서 1 내지 14 아미노산이 결실되고 및/또는 C-말단에서 1 내지 15 아미노산이 결실되고, 그리고 다수의 아미노산 치환이 행해진 hIL-3의 돌연변이체를 포함한다. 본 발명의 바람직한 뮤테인은 N-말단에서 아미노산 1내지 14가 결실되고, C-말단에서 아미노산 126내지 133이 결실된 것, 그리고 또한 폴리펩티드 서열에서 약 4내지 약26아미노산 치환을 포함하는 것이다. 이러한 hIL-3복합돌연변이 폴리펩티드는 hIL-3와 유사하거나 또는 hIL-3보다 더 양호한 생물학적 활성을 가질 수 있으며, 어떤 경우에는 개선된 부작용 프로필을 가질 수 있다. 즉 어떤 뮤테인은 천연 hIL-3 보다 더 양호한 치료지수를 가질 수 있다.

본 발명은 또한 면역분석 및 면역요법 프로토콜에서 유용한 항체의 생성을 위한 별개의 항원성 단편으로서 또는 IL-3 길항제로서 작용할 수 있는 뮤테인을 제공한다.

본 발명의 hIL-3복합돌연변이 폴리펩티드의 생체내 이용이외에도, 시험관내 이용은 환자에게 주입하기전에 골수 및 혈구 활성화와 성장을 자극시킬 수 있는 능력을 포함할 것으로 기대된다.

hIL-3의 길항제는 AML, CML 및 B림프암의 일부 유형등의 일부 암세포의 성장을 차단하는데 특히 유용할 것이다.

길항제가 유용하게될 다른 상태는 어떤 혈구가 비정상적으로 많은 수로 생성되거나 또는 내생적인 리간드에 의해 활성화되는 경우를 포함한다. 길항제는 리간드, 아마도 천연적으로 존재하는 헤모포이에틴에 대해서 효과적으로 경쟁하는데, 이것은 IL-3, GM-CSF 및 IL-5를 포함하지만 이것에 제한되지는 않으며, IL-3 리셉터 복합체에 결합할 수 있는 능력에 의해 암세포의 생장을 유도하거나 증가시킬 수 있지만, 리간드의 내재한 활성화 성질은 감소된다. IL-3, GM-CSF 및/또는 IL-5는 또한 어떤 천식반응에서 역할을 한다. IL-3 리셉터의 길항제는 염증성 세포의 리셉터-매개 활성화 및 점증을 차단함으로써 이 질환에서 유용성을 가질 수 있다.

발명의 상세한 기술

본 발명은 폴리펩티드의 아미노산 서열의 4 또는 그 이상의 위치에서 아미노산 치환이 행해진 사람 인터류킨-3(hIL-3)의 뮤테인 그리고 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 뮤테인에 관한 것이다. 본 발명의 바람직한 뮤테인은 N-말단에서 아미노산 1내지 14, C-말단에서 126내지 133의 결실을 갖고, 또한 폴리펩티드에서 4이상의 아미노산 치환을 갖는(15-125)hIL-3 결실 돌연변이체인데 이것은 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 뮤테인이다.

바람직한 뮤테인중에는 26 아미노산치환을 갖는 것이 있다. 여기서 사용되는 사람 인터류킨-3은 제 1도에서 기술된 아미노산서열(1-133)에 해당하고 (15-125)hIL-3은 hIL-3 폴리펩티드의 15 내지 125 아미노산 서열에 해당한다.

hIL-3 폴리펩티드 아미노산의 천연적으로 존재하는 변이체는 또한 본 발명에 포함되고 (예컨대, hIL-3 폴리펩티드서열의 위치 8에 세린이 아닌 프롤린이 있는 대립형), 번역후 변형되는 변이체 hIL-3 분자도 마찬가지다(가령, 글리코실화).

본 발명은 또한 돌연변이체 폴리펩티드를 암호화하는 DNA서열, 실질적으로 유사하고 실질적으로 동일한 기능을 수행하는 DNA서열, 단지 유전코드의 축중(degeneracy)에 기인하여 본 발명의 뮤테인을 코딩하는 DNA와 다른 DNA서열을 포함한다.

본 발명에는 천연 사람 인터류킨-3의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 함유하는 새로운 돌연변이체 사람 인터류킨-3의 폴리펩티드가 포함되는데, 여기서는 천연 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 C-말단으로부터 아미노산 126내지 133이 결실되고 천연 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 N-말단으로부터 아미노산 1내지 14가 결실되고, 부가적으로 이 폴리펩티드는 또한 폴리펩티드 서열에서 4이상의 아미노산 치환을 갖는다.

또한 본 발명에는 본 발명의 뮤테인을 코딩하는 DNA서열, 돌연변이체 DNA를 제조하는데 사용된 올리고뉴클레오티드 중간생성물, 이 올리고뉴클레오티드에 의해 암호화된 폴리펩티드도 포함된다. 이 폴리펩티드는 면역분석 및 면역요법 프로토콜에서 유용한 항체 생성을 위한 항원성 단편으로서 또는 길항제로서 유용할 수 있다.

본 발명의 돌연변이체 hIL-3 폴리펩티드는 또한 N-말단에서 삽입된 메티오닌, 알라닌, 또는 메티오닌-알라닌 잔기를 가질 수 있다.

본 발명은 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드 식 I을 포함한다;

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1               5                  10                  15

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                50                  55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                65                  70                  75

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                80                  85                  90

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                95                 100                 105

Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
               110                 115                 120
```

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:15]
125 130

여기서 위치 17 Xaa는 Ser, Lys, Gly, Asp, Met, Gln, 또는 Arg;

위치 18의 Xaa는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;

위치 19의 Xaa는 Met, Phe, Ile, Arg, Gly, Ala, 또는 Cys;

위치 20의 Xaa는 Ile, Cys, Gln, Glu, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 21의 Xaa는 Asp, Phe, Lys, Arg, Ala, Gly, Glu, Gln, Asn, Thr, Ser 또는 Val;

위치 22의 Xaa는 Glu, Trp, Pro, Ser, Ala, His, Asp, Asn, Gln, Leu, Val 또는 Gly;

위치 23의 Xaa는 Ile, Val, Ala, Leu, Gly, Trp, Lys, Phe, Leu, Ser, 또는 Arg;

위치 24의 Xaa는 Ile, Gly, Val, Arg, Ser, Phe, 또는 Leu;

위치 25의 Xaa는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 26의 Xaa는 His, Thr, Phe, Gly, Arg, Ala, 또는 Trp;

위치 27의 Xaa는 Leu, Gly, Arg, Thr, Ser, 또는 Ala;

위치 28의 Xaa는 Lys, Arg, Leu, Gln, Gly, Pro, Val 또는 Trp;

위치 29의 Xaa는 Gln, Asn, Leu, Pro, Arg, 또는 Val;

위치 30의 Xaa는 Pro, His, Thr, Gly, Asp, Gln, Ser, Leu, 또는 Lys;

위치 31의 Xaa는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;

위치 32의 Xaa는 Leu, Val, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;

위치 33의 Xaa는 Pro, Leu, Gln, Ala, Thr, 또는 Glu;

위치 34의 Xaa는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Glu, Gln, Thr, Arg, Ala, Phe, Ile 또는 Met;

위치 35의 Xaa는 Leu, Ala, Gly, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;

위치 36의 Xaa는 Asp, Leu, 또는 Val;

위치 37의 Xaa는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;

위치 38의 Xaa는 Asn, 또는 Ala;

위치 40의 Xaa는 Leu, Trp, 또는 Arg;

위치 41의 Xaa는 Asn, Cys, Arg, Leu, His, Met, 또는 Pro;

위치 42의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Cys, Asn, Lys, Thr, Leu, Val, Glu, Phe, Tyr, Ile, Met 또는 Ala;

위치 43의 Xaa는 Glu, Asn, Tyr, Leu, Phe, Asp, Ala, Cys,

Gln, Arg, Thr, Gly또는Ser;

위치 44의 Xaa는 Asp, Ser, Leu, Arg, Lys, Thr, Met, Trp, Glu, Asn, Gln, Ala또는Pro;

위치 45의 Xaa는 Gln, Pro, Phe, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Trp, Asp, Asn, Arg, Ser, Ala, Ile, Glu또는His;

위치 46의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Glu, Asn, Gln, Lys, His, Ala, Tyr, Ile, Val또는Gly;

위치 47의 Xaa는 Ile, Gly, Val, Ser, Arg, Pro,또는His;

위치 48의 Xaa는 Leu, Ser, Cys, Arg, Ile, His, Phe, Glu, Lys, Thr, Ala, Met, Val또는Asn;

위치 49의 Xaa는 Met, Arg, Ala, Gly, Pro, Asn, His,또는Asp;

위치 50의 Xaa는 Glu, Leu, Thr, Asp, Tyr, Lys, Asn, Ser, Ala, Ile, Val, His, Phe, Met또는Gln;

위치 51의 Xaa는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr,또는His;

위치 52의 Xaa는 Asn, His, Arg, Leu, Gly, Ser,또는Thr;

위치 53의 Xaa는 Leu, Thr, Ala, Gly, Glu, Pro, Lys, Ser, 또는Met;

위치 54의 Xaa는 Arg, Asp, Ile, Ser, Val, Thr, Gln, Asn, Lys, His, Ala또는Leu;

위치 55의 Xaa는 Arg, Thr, Val, Ser, Leu,또는Gly;

위치 56의 Xaa는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Glu, Arg, His, Thr, Ala, Tyr, Phe, Leu, Val또는Lys;

위치 57의 Xaa는 Asn또는Gly;

위치 58의 Xaa는 Leu, Ser, Asp, Arg, Gln, Val,또는 Cys;

위치 59의 Xaa는 Glu Tyr, His, Leu, Pro,또는Arg;

위치 60의 Xaa는 Ala, Ser, Pro, Tyr, Asn,또는Thr;

위치 61의 Xaa는 Phe, Asn, Glu, Pro, Lys, Arg,또는Ser;

위치 62의 Xaa는 Asn His, Val, Arg, Pro, Thr, Asp,또는Ile;

위치 63의 Xaa는 Arg, Tyr, Trp, Lys, Ser, His, Pro,또는 Val;

위치 64의 Xaa는 Ala, Asn, Pro, Ser,또는Lys;

위치 65의 Xaa는 Val, Thr, Pro, His, Leu, Phe,또는Ser;

위치 66의 Xaa는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu,또는Ser;

위치 67의 Xaa는 Ser, Ala, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, Pro, 또는His;

위치 68의 Xaa는 Leu, Val, Trp, Ser, Ile, Phe, Thr,또는 His;

위치 69의 Xaa는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, Trp, Gly,

또는 Leu;

위치 70의 Xaa는 Asn, Leu, Val, Trp, Pro, 또는 Ala;

위치 71의 Xaa는 Ala, Met, Leu, Pro, Arg, Glu, Thr, Gln, Trp, 또는 Asn;

위치 72의 Xaa는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;

위치 73의 Xaa는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, 또는 Arg;

위치 74의 Xaa는 Ile, Met, Thr, Pro, Arg, Gly, Ala;

위치 75의 Xaa는 Glu, Lys, Gly, Asp, Pro, Trp, Arg, Ser, Gln, 또는 Leu;

위치 76의 Xaa는 Ser, Val, Ala, Asn, Trp, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;

위치 77의 Xaa는 Ile, Ser, Arg, Thr, 또는 Leu;

위치 78의 Xaa는 Leu, Ala, Ser, Glu, Phe, Gly, 또는 Arg;

위치 79의 Xaa는 Lys, Thr, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 80의 Xaa는 Asn, Trp, Val, Gly, Thr, Leu, Glu, 또는 Arg;

위치 81의 Xaa는 Leu, Gln, Gly, Ala, Trp, Arg, Val, 또는 Lys;

위치 82의 Xaa는 Leu, Gln, Lys, Trp, Arg, Asp, Glu, Asn, His, Thr, Ser, Ala, Tyr, Phe, Ile, Met 또는 Val;

위치 83의 Xaa는 Pro, Ala, Thr, Trp, Arg, 또는 Met;

위치 84의 Xaa는 Cys, Glu, Gly, Arg, Met, 또는 Val;

위치 85의 Xaa는 Leu, Asn, Val, 또는 Gln;

위치 86의 Xaa는 Pro, Cys, Arg, Ala, 또는 Lys;

위치 87의 Xaa는 Leu, Ser, Trp, 또는 Gly;

위치 88의 Xaa는 Ala, Lys, Arg, Val, 또는 Trp;

위치 89의 Xaa는 Thr, Asp, Cys, Leu, Val, Glu, His, Asn, 또는 Ser;

위치 90의 Xaa는 Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Asp, Ile, 또는 Met;

위치 91의 Xaa는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu, Asp, 또는 His;

위치 92의 Xaa는 Pro, Phe, Arg, Ser, Lys, His, Ala, Gly, Ile 또는 Leu;

위치 93의 Xaa는 Thr, Asp, Ser, Asn, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;

위치 94의 Xaa는 Arg, Ile, Ser, Glu, Leu, Val, Gln, Lys, His,

Ala,
또는 Pro;
위치 95의 Xaa는 His, Gln, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Thr, Asn, Lys,
Ser, Ala, Trp, Phe, Ile, 또는 Tyr;
위치 96의 Xaa는 Pro, Lys, Tyr, Gly, Ile, 또는 Thr;
위치 97의 Xaa는 Ile, Val, Lys, Ala, 또는 Asn;
위치 98의 Xaa는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr,
Glu, Gln, Ser, Phe, Met, Val, Lys, Arg, Tyr 또는 Pro;
위치 99의 Xaa는 Ile, Leu, Arg, Asp, Val, Pro, Gln,
Gly, Ser, Phe, 또는 His;
위치 100의 Xaa는 Lys, Tyr, Leu, His, Arg, Ile, Ser, Gln,
또는 Pro;
위치 101의 Xaa는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val,
Tyr, Glu, Asn, Ser, Ala, Gly, Ile, Leu, 또는 Gln;
위치 102의 Xaa는 Gly, Leu, Glu, Lys, Ser, Tyr, 또는 Pro;
위치 103의 Xaa는 Asp, 또는 Ser;
위치 104의 Xaa는 Trp, Val, Cys, Tyr, Thr, Met, Pro, Leu,
Gln, Lys, Ala, Phe, 또는 Gly;
위치 105의 Xaa는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr,
Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 106의 Xaa는 Glu, Ser, Ala, Lys, Thr, Ile, Gly, 또는 Pro;
위치 108의 Xaa는 Arg, Lys, Asp, Leu, Thr, Ile, Gln, His, Ser, Ala,
또는 Pro;
위치 109의 Xaa는 Arg, Thr, Pro, Glu, Tyr, Leu, Ser, 또는 Gly;
위치 110의 Xaa는 Lys, Ala, Asn, Thr, Leu, Arg, Gln, His, Glu, Ser,
Ala, 또는 Trp;
위치 111의 Xaa는 Leu, Ile, Arg, Asp, 또는 Met;
위치 112의 Xaa는 Thr, Val, Gln, Tyr, Glu, His, Ser, 또는 Phe;
위치 113의 Xaa는 Phe, Ser, Cys, His, Gly, Trp, Tyr, Asp,
Lys, Leu, Ile, Val 또는 Asn;
위치 114의 Xaa는 Tyr, Cys, His, Ser, Trp, Arg, 또는 Leu;
위치 115의 Xaa는 Leu, Asn, Val, Pro, Arg, Ala, His, Thr,
Trp, 또는 Met;
위치 116의 Xaa는 Lys, Leu, Pro, Thr, Met, Asp, Val, Glu,
Arg, Trp, Ser, Asn, His, Ala, Tyr, Phe, Gln, 또는 Ile;

위치 117의 Xaa는 Thr, Ser, Asn, Ile, Trp, Lys, 또는 Pro;
위치 118의 Xaa는 Leu, Ser, Pro, Ala, Glu, Cys, Asp, 또는 Tyr;
위치 119의 Xaa는 Glu, Ser, Lys, Pro, Leu, Thr, Tyr, 또는 Arg;
위치 120의 Xaa는 Asn, Ala, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 121의 Xaa는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는
Gly;
위치 122의 Xaa는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His,
Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 123의 Xaa는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 을 가질 수 있다;

그리고 N-말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C-말단으로부터 1내지 15아미노산이 결실될 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 44개는 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다.

식II의 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다 :

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1               5                  10                  15

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
                20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Glu Xaa Xaa
                35                  40                  45

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa
                50                  55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                65                  70                  75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
                80                  85                  90

Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa
                95                  100                 105

Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
                110                 115                 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:16]
                125                 130
```

여기서

위치 17의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;

위치 18의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;

위치 19의 Xaa 는 Met, Phe, Ile, Arg, 또는 Ala;

위치 20의 Xaa 는 Ile 또는 Pro;

위치 21의 Xaa 는 Asp 또는 Glu;

위치 23의 Xaa 는 Ile, Val, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 24의 Xaa 는 Ile, Val, Phe, 또는 Leu;

위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 26의 Xaa 는 His, Phe, Gly, Arg, 또는 Ala;

위치 28의 Xaa 는 Lys, Leu, Gln, Gly, Pro, 또는 Val;

위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Arg, 또는 Val;

위치 30의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, 또는 Gln;

위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;

위치 32의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;

위치 33의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala, 또는 Glu;

위치 34의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;

위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;

위치 36의 Xaa 는 Asp 또는 Leu;

위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;

위치 38의 Xaa 는 Asn 또는 Ala;

위치 41의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, His, Met, 또는 Pro;

위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr, Val 또는 Arg;

위치 44의 Xaa 는 Asp 또는 Glu;

위치 45의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Ala, Asn, Glu, Ser, 또는 Trp;

위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Ala, Asn, Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val또는Gly;

위치 47의 Xaa 는 Ile, Val,또는His;

위치 49의 Xaa 는 Met, Asn,또는Asp;

위치 50의 Xaa 는 Glu, Thr, Ala, Asn, Ser또는Asp;

위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr,또는His;

위치 52의 Xaa 는 Asn또는Gly;

위치 53의 Xaa 는 Leu, Met,또는Phe;

위치 54의 Xaa 는 Arg, Ala,또는Ser;

위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu,또는Gly;

위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, His, Leu, Thr, Val또는Lys;

위치 59의 Xaa 는 Glu, Tyr, His, Leu,또는Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ala, Ser, Asn,또는Thr;

위치 61의 Xaa 는 Phe또는Ser;

위치 62의 Xaa 는 Asn, Val, Pro, Thr,또는Ile;

위치 63의 Xaa 는 Arg, Tyr, Lys, Ser, His,또는Val;

위치 64의 Xaa 는 Ala또는Asn;

위치 65의 Xaa 는 Val, Thr, Leu,또는Ser;

위치 66의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu,또는Ser;

위치 67의 Xaa 는 Ser, Phe, Val, Gly, Asn, Ile,또는His;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Val, Ile, Phe,또는His;

위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg,또는Gly;

위치 70의 Xaa 는 Asn또는Pro;

위치 71의 Xaa 는 Ala, Met, Pro, Arg, Glu, Thr,또는Gln;

위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg,또는Asp;

위치 73의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, Arg, 또는 Pro;

위치 74의 Xaa 는 Ile또는Met;

위치 75의 Xaa 는 Glu, Gly, Asp, Ser,또는Gln;

위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;

위치 77의 Xaa 는 Ile, Ser,또는Leu;

위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 80의 Xaa 는 Asn, Val, Gly, Thr, Leu, Glu,또는Arg;

위치 81의 Xaa 는 Leu,또는Val;

위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr또는Val;

위치 83의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp,또는Met;

위치 85의 Xaa 는 Leu또는Val;

위치 87의 Xaa 는 Leu또는Ser;

위치 88의 Xaa 는 Ala, Arg,또는Trp;

위치 89의 Xaa 는 Thr, Asp, Glu, His, Asn,또는Ser;

위치 90의 Xaa 는 Ala, Asp,또는Met;

위치 91의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu,또는Asp;

위치 92의 Xaa 는 Pro또는Ser;

위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu,또는Arg;

위치 95의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Ile, Phe, Ser또는Thr;

위치 96의 Xaa 는 Pro또는Tyr;

위치 97의 Xaa 는 Ile, Val,또는Ala;

위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Glu, lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Pro;

위치 99의 Xaa 는 Ile, Leu, Val,또는Phe;

위치 100의 Xaa 는 Lys, Leu, His, Arg, Ile, Gln, Pro, 또는 Ser;

위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Asn, Ile, Leu또는Tyr;

위치 102의 Xaa 는 Gly, Glu, Lys,또는Ser;

위치 104의 Xaa 는 Trp, Val, Tyr, Met,또는Leu;

위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp,또는His;

위치 106의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala,또는Gly;

위치 108의 Xaa 는 Arg, Ala, Gln, Ser또는Lys;

위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, Ser,또는Gly;

위치 112의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Glu, His,또는Ser;

위치 114의 Xaa 는 Tyr또는Trp;

위치 115의 Xaa 는 Leu또는Ala;

위치 116의 Xaa 는 Lys, Thr, Met, Val, Trp, Ser, Leu, Ala, Asn, Gln, His, Met, Phe, Tyr또는Ile;

위치 117의 Xaa 는 Thr, Ser,또는Asn;

위치 119의 Xaa 는 Glu, Ser, Pro, Leu, Thr,또는Tyr;

위치 120의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val,또는Gln;

위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp,또는 Gly;

위치 122의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr,또는Cys;

위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr,또는Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met-을 가질 수 있다; 그리고 N- 말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/ 또는 C-말단으로부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 44개는 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다.

식III의 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다;

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1               5                  10                  15

Cys Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Lys Xaa Xaa
            20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Xaa Xaa
            35                  40                  45

Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Xaa Asn Leu Glu Xaa
            50                  55                  60

Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ile Glu
            65                  70                  75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr Ala
            80                  85                  90

Xaa Pro Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Xaa Xaa
            95                 100                 105

Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Glu Xaa
```

110 115 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:17]
125 130

여기서

위치 17의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa 는 Asn, His, 또는 Ile;
위치 19의 Xaa 는 Met 또는 Ile;
위치 21의 Xaa 는 Asp 또는 Glu;
위치 23의 Xaa 는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;
위치 24의 Xaa 는 Ile, Val, 또는 Leu;
위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gln, 또는 Ala;
위치 26의 Xaa 는 His 또는 Ala;
위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, 또는 Val;
위치 30의 Xaa 는 Pro, Gly, 또는 Gln;
위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, 또는 Gln;
위치 32의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 33의 Xaa 는 Pro 또는 Glu;
위치 34의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;
위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, 또는 Trp;
위치 38의 Xaa 는 Asn 또는 Ala;
위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr 또는 Arg;
위치 44의 Xaa 는 Asp 또는 Glu;
위치 45의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Ala, Asn, Glu, Ser 또는 Lys;
위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Ala, Asn Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val 또는 Cys;
위치 50의 Xaa 는 Glu, Ala, Asn, Ser 또는 Asp;
위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;
위치 54의 Xaa 는 Arg 또는 Ala;
위치 54의 Xaa 는 Arg 또는 Ala;
위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는 Gly;
위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, Leu, Thr, Val 또는 Lys;

위치 60의 Xaa 는 Ala 또는 Ser;
위치 62의 Xaa 는 Asn, Pro, Thr, 또는 Ile;
위치 63의 Xaa 는 Arg 또는 Lys;
위치 64의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;
위치 65의 Xaa 는 Val 또는 Thr;
위치 66의 Xaa 는 Lys 또는 Arg;
위치 67의 Xaa 는 Ser, Phe, 또는 His;
위치 68의 Xaa 는 Leu, Ile, Phe, 또는 His;
위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;
위치 71의 Xaa 는 Ala, Pro, 또는 Arg;
위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Arg, 또는 Asp;
위치 73의 Xaa 는 Ala 또는 Leu;
위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, 또는 Gly;
위치 77의 Xaa 는 Ile 또는 Leu;
위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;
위치 80의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu, 또는 Arg;
위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Ile, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;
위치 83의 Xaa 는 Pro 또는 Thr;
위치 85의 Xaa 는 Leu 또는 Val;
위치 87의 Xaa 는 Leu 또는 Ser;
위치 88의 Xaa 는 Ala 또는 Trp;
위치 91의 Xaa 는 Ala 또는 Pro;
위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;
위치 95의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Phe, Ser 또는 Thr;
위치 96의 Xaa 는 Pro 또는 Tyr;
위치 97의 Xaa 는 Ile 또는 Val;
위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Leu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Pro;
위치 99의 Xaa 는 Ile, Leu, 또는 Val;
위치 100의 Xaa 는 Lys, Arg, Ile, Gln, Pro, 또는 Ser;
위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Pro, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;
위치 104의 Xaa 는 Trp 또는 Leu;
위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;

위치 106의 Xaa 는 Glu 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는 Ser;
위치 112의 Xaa 는 Thr, Val, 또는 Gln;
위치 114의 Xaa 는 Tyr 또는 Trp;
위치 115의 Xaa 는 Leu 또는 Ala;
위치 116의 Xaa 는 Lys, Thr, Val, Trp, Ser, Ala, His, Met, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 117의 Xaa 는 Thr 또는 Ser;
위치 120의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Asp, 또는 Gly;
위치 122의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met-을 가질 수 있다; 그리고 N-말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C-말단으로부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 35는 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다.

식IV의 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다:

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1               5                  10                  15

Cys Xaa Xaa Met Ile Asp Glu Xaa Ile Xaa Xaa Leu Lys Xaa Xaa
            20                  25                  30

Pro Xaa Pro Xaa Xaa Asp Phe Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa
            35                  40                  45

Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Glu Ala
            50                  55                  60

Phe Xaa Arg Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Asn Ala Ser Ala Ile Glu

                65                  70                  75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Pro Cys Leu Pro Xaa Xaa Thr Ala
            80                  85                  90

Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Trp Xaa
            95                  100                 105

Glu Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu Xaa Xaa Leu Glu Xaa
            110                 115                 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:18]
            125                 130
```

여기서

위치 17의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa는 Asn, His, 또는 Ile;
위치 23의 Xaa는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;
위치 25의 Xaa는 Thr, His, 또는 Gln;
위치 26의 Xaa는 His 또는 Ala;
위치 29의 Xaa는 Gln 또는 Asn;
위치 30의 Xaa는 Pro 또는 Gly;
위치 32의 Xaa는 Leu, Arg, Asn, 또는 Ala;
위치 34의 Xaa는 Leu, Val, Ser, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr, 또는 Met;
위치 35의 Xaa는 Leu, Ala, Asn, 또는 Pro;
위치 38의 Xaa는 Asn 또는 Ala;
위치 42의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr 또는 Arg;
위치 45의 Xaa는 Gln, Val, Met, Leu, Ala, Asn, Glu, 또는 Lys;
위치 46의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Gln, Glu, His, Val 또는 Thr;
위치 50의 Xaa는 Glu Asn, Ser 또는 Asp;
위치 51의 Xaa는 Asn, Arg, Pro, Thr, 또는 His;
위치 55의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Gly;
위치 56의 Xaa는 Pro, Gly, Ser, Ala, Asn, Val, Leu 또는 Gln;
위치 62의 Xaa는 Asn, Pro, 또는 Thr;
위치 64의 Xaa는 Ala 또는 Asn;
위치 65의 Xaa는 Val 또는 Thr;

위치 67의 Xaa 는 Ser또는Phe;
위치 68의 Xaa 는 Leu또는Phe;
위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Glu,또는Arg;
위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Asn, Pro,또는Gly;
위치 77의 Xaa 는 Ile또는Leu;
위치 79의 Xaa 는 Lys, Gly, Asn, Met, Arg, Ile,또는Gly;
위치 80의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu,또는Arg;
위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr또는Val;
위치 87의 Xaa 는 Leu또는Ser;
위치 88의 Xaa 는 Ala또는Trp;
위치 91의 Xaa 는 Ala또는Pro;
위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp,또는Ala;
위치 95의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Gly, Asn, Ser또는Thr;
위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Ala, Thr, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Leu;
위치 99의 Xaa 는 Ile또는 Leu;
위치 100의 Xaa 는 Lys또는Arg;
위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, Thr, His, Pro, Asn, Ile, Leu또는Tyr;
위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ser, Ile또는Asp;
위치 108의 Xaa 는 Arg, Ala,또는Ser;
위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu,또는Ser;
위치 112의 Xaa 는 Thr또는Gln;
위치 116의 Xaa 는 Lys, Val, Trp, Ala, His, Phe, Tyr또는Ile;
위치 117의 Xaa 는 Thr또는Ser;
위치 120의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val,또는Gln;
위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Pro,또는Asp;
위치 122의 Xaa 는 Gln, Met, Trp, Phe, Pro, His, Ile,또는Tyr;
위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, Ser,또는Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met-을 가질 수 있다; 그리고 N-말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C-말단으로부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 44는 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다.

식V의 (15-125)사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다;

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1     5          10                  15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 50                  55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 65                  70                  75

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 80                  85                  90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                 95                 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:19]
                110
```

여기서

위치 3 의 Xaa 는 Ser, Lys, Gly, Asp, Met, Gln, 또는 Arg;

위치 4 의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;

위치 5 의 Xaa 는 Met, Phe, Ile, Arg, Gly, Ala, 또는 Cys;

위치 6 의 Xaa 는 Ile, Cys, Gln, Glu, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 7 의 Xaa 는 Asp, Phe, Lys, Arg, Ala, Gly, Glu, Gln, Asn, Thr, Ser 또는 Val;

위치 8 의 Xaa 는 Glu, Trp, Pro, Ser, Ala, His, Asp, Asn, Gln, Leu, Val, 또는 Gly;

위치 9 의 Xaa 는 Ile, Val, Ala, Leu, Gly, Trp, Lys, Phe, Leu, Ser, 또는 Arg;

위치 10의 Xaa 는 Ile, Gly, Val, Arg, Ser, Phe, 또는 Leu;
위치 11의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;
위치 12의 Xaa 는 His, Thr, Phe, Gly, Arg, Ala, 또는 Trp;
위치 13의 Xaa 는 Leu, Gly, Arg, Thr, Ser, 또는 Ala;
위치 14의 Xaa 는 Lys, Arg, Leu, Gln, Gly, Pro, Val 또는 Trp;
위치 15의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Pro, Arg, 또는 Val;
위치 16의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, Asp, Gln, Ser, Leu, 또는 Lys;
위치 17의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa 는 Leu, Val, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 19의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala, Thr, 또는 Glu;
위치 20의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Glu, Gln, Thr, Arg, Ala, Phe, Ile 또는 Met;
위치 21의 Xaa 는 Leu, Ala, Gly, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 22의 Xaa 는 Asp, Leu, 또는 Val;
위치 23의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;
위치 24의 Xaa 는 Asn, 또는 Ala;
위치 26의 Xaa 는 Leu, Trp, 또는 Arg;
위치 27의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, Leu, His, Met, Pro;
위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Lys, Asn, Thr, Leu, Val, Glu, Phe, Tyr, Ile 또는 Met;
위치 29의 Xaa 는 Glu, Asn, Tyr, Leu, Phe, Asp, Ala, Cys, Gln, Arg, Thr, Gly 또는 Ser;
위치 30의 Xaa 는 Asp, Ser, Leu, Arg, Lys, Thr, Met, Trp, Glu, Asn, Gln, Ala 또는 Pro;
위치 31의 Xaa 는 Gln, Pro, Phe, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Asp, Asn, Arg, Ser, Ala, Ile, Glu, His 또는 Trp;
위치 32의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Glu, Asn, Gln, Lys, His, Ala, Tyr, Ile, Val 또는 Gly;
위치 33의 Xaa 는 Ile, Gly, Val, Ser, Arg, Pro, 또는 His;
위치 34의 Xaa 는 Leu, Ser, Cys, Arg, Ile, His, Phe, Glu, Lys, Thr, Ala, Met, Val 또는 Asn;
위치 35의 Xaa 는 Met, Arg, Ala, Gly, Pro, Asn, His, 또는 Asp;
위치 36의 Xaa 는 Glu, Leu, Thr, Asp, Tyr, Lys, Asn, Ser, Ala, Ile, Val, His, Phe, Met 또는 Gln;
위치 37의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;
위치 38의 Xaa 는 Asn, His, Arg, Leu, Gly, Ser, 또는 Thr;
위치 39의 Xaa 는 Leu, Thr, Ala, Gly, Glu, Pro, Lys, Ser,

Met,또는;

위치 40의 Xaa 는 Arg, Asp, Ile, Ser, Val, Thr, Gln, Asn, Lys, His, Ala또는Leu;

위치 41의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Ser, Leu,또는Gly;

위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Glu, Arg, His, Thr, Ala, Tyr, Phe, Leu, Val또는Lys;

위치 43의 Xaa 는 Asn또는Gly;

위치 44의 Xaa 는 Leu, Ser, Asp, Arg, Gln, Val,또는 Cys;

위치 45의 Xaa 는 Glu Tyr, His, Leu, Pro,또는 Arg;

위치 46의 Xaa 는 Ala, Ser, Pro, Tyr, Asn,또는Thr;

위치 47의 Xaa 는 Phe, Asn, Glu, Pro, Lys, Arg,또는Ser;

위치 48의 Xaa 는 Asn, His, Val, Arg, Pro, Thr, Asp,또는 Ile;

위치 49의 Xaa 는 Arg, Tyr, Trp, Lys, Ser, His, Pro,또는Val;

위치 50의 Xaa 는 Ala, Asn, Pro, Ser,또는Lys;

위치 51의 Xaa 는 Val, Thr, Pro, His, Leu, Phe,또는Ser;

위치 52의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu,또는Ser;

위치 53의 Xaa 는 Ser, Ala, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, Pro,또는 His;

위치 54의 Xaa 는 Leu, Val, Trp, Ser, Ile, Phe, Thr,또는His;

위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, Trp, Gly,또는 Leu;

위치 56의 Xaa 는 Asn, Leu, Val, Trp, Pro,또는Ala;

위치 57의 Xaa 는 Ala, Met, Leu, Pro, Arg, Glu, Thr, Gln, Trp,또는Asn;

위치 58의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg,또는 Asp;

위치 59의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr,또는Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ile, Met, Thr, Pro, Arg, Gly, Ala;

위치 61의 Xaa 는 Glu, Lys, Gly, Asp, Pro, Trp, Arg, Ser, Gln,또는Leu;

위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Trp, Glu, Pro, Gly,또는 Asp;

위치 63의 Xaa 는 Ile, Ser, Arg, Thr,또는Leu;

위치 64의 Xaa 는 Leu, Ala, Ser, Glu, Phe, Gly,또는Arg;

위치 65의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Asp;

위치 66의 Xaa 는 Asn, Trp, Val, Gly, Thr, Leu, Glu,또는Arg;

위치 67의 Xaa 는 Leu, Gln, Gly, Ala, Trp, Arg, Val,또는Lys;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Lys, Trp, Arg, Asp, Glu, Asn,

His, Thr, Ser, Ala, Tyr, Phe, Ile, Met 또는 Val;
위치 69의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp, Arg, 또는 Met;
위치 70의 Xaa 는 Cys, Glu, Gly, Arg, Met, 또는 Val;
위치 71의 Xaa 는 Leu, Asn, Val, 또는 Gln;
위치 72의 Xaa 는 Pro, Cys, Arg, Ala, 또는 Lys;
위치 73의 Xaa 는 Leu, Ser, Trp, 또는 Gly;
위치 74의 Xaa 는 Ala, Lys, Arg, Val, 또는 Trp;
위치 75의 Xaa 는 Thr, Asp, Cys, Leu, Val, Glu, His, Asn, 또는 Ser;
위치 76의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Asp, Ile, 또는 Met;
위치 77의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu, Asp, 또는 His;
위치 78의 Xaa 는 Pro, Phe, Arg, Ser, Lys, His, Ala, Gly, Ile 또는 Leu;
위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Asn, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;
위치 80의 Xaa 는 Arg, Ile, Ser, Glu, Leu, Val, Gln, Lys, His, Ala 또는 Pro;
위치 81의 Xaa 는 His, Gln, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Thr, Asn, Lys, Ser, Ala, Trp, Phe, Ile 또는 Tyr;
위치 82의 Xaa 는 Pro, Lys, Tyr, Gly, Ile, 또는 Thr;
위치 83의 Xaa 는 Ile, Val, Lys, Ala, 또는 Asn;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Glu, Gln, Ser, Phe, Met, Val, Lys, Arg, Tyr 또는 Pro;
위치 85의 Xaa 는 Ile, Leu, Arg, Asp, Val, Pro, Gln, Gly, Ser, Phe, 또는 His;
위치 86의 Xaa 는 Lys, Tyr, Leu, His, Arg, Ile, Ser, Gln, Pro;
위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Tyr, Glu, Asn, Ser, Ala, Gly, Ile, Leu 또는 Gln;
위치 88의 Xaa 는 Gly, Leu, Glu, Lys, Ser, Tyr, 또는 Pro;
위치 89의 Xaa 는 Asp, 또는 Ser;
위치 90의 Xaa 는 Trp, Val, Cys, Tyr, Thr, Met, Pro, Leu, Gln, Lys, Ala, Phe, 또는 Gly;
위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 92의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala, Lys, Thr, Ile, Gly, 또는 Pro;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Lys, Asp, Leu, Thr, Ile, Gln, His, Ser, Ala, 또는 Pro;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Pro, Glu, Tyr, Leu, Ser, 또는 Gly;

위치 96의 Xaa 는 Lys, Asn, Thr, Leu, Gln, Arg, His, Glu, Ser, Ala 또는 Trp;
위치 97의 Xaa 는 Leu, Ile, Arg, Asp, 또는 Met;
위치 98의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Tyr, Glu, His, Ser, 또는 Phe;
위치 99의 Xaa 는 Phe, Ser, Cys, His, Gly, Trp, Tyr, Asp, Lys, Leu, Ile, Val 또는 Asn;
위치 100의 Xaa 는 Tyr, Cys, His, Ser, Trp, Arg, 또는 Leu;
위치 101의 Xaa 는 Leu, Asn, Val, Pro, Arg, Ala, His, Thr, Trp, 또는 Met;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Leu, Pro, Thr, Met, Asp, Val, Glu, Arg, Trp, Ser, Asn, His, Ala, Tyr, Phe, Gln, 또는 Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr, Ser, Asn, Ile, Trp, Lys, 또는 Pro;
위치 104의 Xaa 는 Leu, Ser, Pro, Ala, Glu, Cys, Asp, 또는 Tyr;
위치 105의 Xaa 는 Glu, Ser, Lys, Pro, Leu, Thr, Tyr, 또는 Arg;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Ala, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 44는(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 천연 아미노산과 다르다; 또는 이것은 실질적으로 동일 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드이다.

식VI의 (15-125) 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다;

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
 1               5                  10                  15
Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Glu Xaa
                20                  25                  30

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa
                35                  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                50                  55                  60

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa
                65                  70                  75

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa
                80                  85                  90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa
                95                 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:20]
                110
```

여기서

위치 3의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;

위치 4의 Xaa는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;

위치 5의 Xaa는 Met, Phe, Ile, Arg, 또는 Ala;

위치 6의 Xaa는 Ile 또는 Pro;

위치 7의 Xaa는 Asp, 또는 Glu;

위치 9의 Xaa는 Ile, Val, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 10의 Xaa는 Ile, Val, Phe, 또는 Leu;

위치 11의 Xaa는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 12의 Xaa는 His, Phe, Gly, Arg, 또는 Ala;

위치 14의 Xaa는 Lys, Leu, Gln, Gly, Pro, 또는 Val;

위치 15의 Xaa는 Gln, Asn, Leu, Arg, 또는 Val;

위치 16의 Xaa는 Pro, His, Thr, Gly, 또는 Gln;

위치 17의 Xaa는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;

위치 18의 Xaa는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;

위치 19의 Xaa는 Pro, Leu, Gln, Ala, 또는 Glu;

위치 20의 Xaa는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;

위치 21의 Xaa는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;

위치 22의 Xaa는 Asp 또는 Leu;

위치 23의 Xaa는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;

위치 24의 Xaa는 Asn 또는 Ala;

위치 27의 Xaa는 Asn, Cys, Arg, His, Met, 또는 Pro;

위치 28의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr, 또는 Arg;

위치 30의 Xaa는 Asp, 또는 Glu;

위치 31의 Xaa는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Ala, Asn Glu, Ser 또는 Trp;

위치 32의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Ala, Asn, Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val 또는 Gly;

위치 33의 Xaa는 Ile, Val, 또는 His;

위치 35의 Xaa는 Met, Asn, 또는 Asp;

위치 36의 Xaa는 Glu, Thr, Ala, Asn, Ser 또는 Asp;

위치 37의 Xaa는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;

위치 38의 Xaa는 Asn 또는 Gly;

위치 39의 Xaa는 Leu, Met, 또는 Phe;

위치 40의 Xaa는 Arg, Ala 또는 Ser;

위치 41의 Xaa는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는 Gly;

위치 42의 Xaa는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, His, Leu, Thr, Val 또는 Lys;

위치 45의 Xaa는 Glu, Tyr, His, Leu, 또는 Arg;

위치 46의 Xaa는 Ala, Ser, Asn, 또는 Thr;

위치 47의 Xaa는 Phe or Ser;

위치 48의 Xaa는 Asn, Val, Pro, Thr, 또는 Ile;

위치 49의 Xaa는 Arg, Tyr, Lys, Ser, His, 또는 Val;

위치 50의 Xaa는 Ala 또는 Asn;

위치 51의 Xaa는 Val, Thr, Leu, 또는 Ser;

위치 52의 Xaa는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu, 또는 Ser;

위치 53의 Xaa는 Ser, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, 또는 His;

위치 54의 Xaa는 Leu, Val, Ile, Phe, 또는 His;

위치 55의 Xaa는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;

위치 56의 Xaa는 Asn 또는 Pro;

위치 57의 Xaa는 Ala, Met, Pro, Arg, Glu, Thr, 또는 Gln;

위치 58의 Xaa는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;

위치 59의 Xaa는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, Arg, 또는 Pro;

위치 60의 Xaa는 Ile 또는 Met;

위치 61의 Xaa는 Glu, Gly, Asp, Ser, 또는 Gln;
위치 62의 Xaa는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;
위치 63의 Xaa는 Ile, Ser, 또는 Leu;
위치 65의 Xaa는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Asp;
위치 66의 Xaa는 Asn, Val, Gly, Thr, Leu, Glu, 또는 Arg;
위치 67의 Xaa는 Leu, 또는 Val;
위치 68의 Xaa는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;
위치 69의 Xaa는 Pro, Ala, Thr, Trp, 또는 Met;
위치 71의 Xaa는 Leu 또는 Val;
위치 73의 Xaa는 Leu 또는 Ser;
위치 74의 Xaa는 Ala, Arg, 또는 Trp;
위치 75의 Xaa는 Thr, Asp, Glu, His, Asn, 또는 Ser;
위치 76의 Xaa는 Ala, Asp, 또는 Met;
위치 77의 Xaa는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu, 또는 Asp;
위치 78의 Xaa는 Pro 또는 Ser;
위치 79의 Xaa는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;
위치 81의 Xaa는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Ile, Phe, Ser 또는 Thr;
위치 82의 Xaa는 Pro 또는 Tyr;
위치 83의 Xaa는 Ile, Val, 또는 Ala;
위치 84의 Xaa는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Arg, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Pro;
위치 85의 Xaa는 Ile, Leu, Val, 또는 Phe;
위치 86의 Xaa는 Lys, Leu, His, Arg, Ile, Gln, Pro 또는 Ser;
위치 87의 Xaa는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;
위치 88의 Xaa는 Gly, Glu, Lys, 또는 Ser;
위치 90의 Xaa는 Trp, Val, Tyr, Met, 또는 Leu;
위치 91의 Xaa는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 92의 Xaa는 Glu, Ser, Ala, 또는 Gly;
위치 94의 Xaa는 Arg, Ala, Gln, Ser 또는 Lys;
위치 95의 Xaa는 Arg, Thr, Glu, Leu, Ser, 또는 Gly;
위치 98의 Xaa는 Thr, Val, Gln, Glu, His, 또는 Ser;

위치 100의 Xaa 는 Tyr 또는 Trp;
위치 101의 Xaa 는 Leu 또는 Ala;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Thr, Met, Val, Trp, Ser, Leu, Ala, Asn, Gln, His, Met, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr, Ser, 또는 Asn;
위치 105의 Xaa 는 Glu, Ser, Pro, Leu, Thr, 또는 Tyr;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 44는 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응 아미노산과 다르다; 또는 이것은 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드이다.

식VII의(15-125) 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다;

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Lys Xaa
 1               5                  10                  15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Xaa
            20                  25                  30

Xaa Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Xaa Asn Leu Glu
            35                  40                  45

Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ile
            50                  55                  60

Glu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr
            65                  70                  75

Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Xaa
            80                  85                  90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Glu
            95                 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:21]
           110
```

여기서
위치 3의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;
위치 4의 Xaa는 Asn, His, 또는 Ile;
위치 5의 Xaa는 Met 또는 Ile;
위치 7의 Xaa는 Asp 또는 Glu;
위치 9의 Xaa는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;
위치 10의 Xaa는 Ile, Val, 또는 Leu;
위치 11의 Xaa는 Thr, His, Gln, 또는 Ala;
위치 12의 Xaa는 His 또는 Ala;
위치 15의 Xaa는 Gln, Asn, 또는 Val;
위치 16의 Xaa는 Pro, Gly, 또는 Gln;
위치 17의 Xaa는 Pro, Asp, Gly, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 19의 Xaa는 Pro 또는 Glu;
위치 20의 Xaa는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;
위치 21의 Xaa는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 23의 Xaa는 Phe, Ser, Pro, 또는 Trp;
위치 24의 Xaa는 Asn 또는 Ala;
위치 28의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met Tyr 또는 Arg;
위치 30의 Xaa는 Asp 또는 Glu;
위치 31의 Xaa는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Ala, Asn, Glu, Ser 또는 Lys;
위치 32의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Thr, Ala, Asn, Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val 또는 Cys;
위치 36의 Xaa는 Glu, Ala, Asn, Ser 또는 Asp;
위치 37의 Xaa는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;
위치 40의 Xaa는 Arg 또는 Ala;

위치 41의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는 Gly;

위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, Leu, Thr, Val 또는 Lys;

위치 46의 Xaa 는 Ala 또는 Ser;

위치 48의 Xaa 는 Asn, Pro, Thr, 또는 Ile;

위치 49의 Xaa 는 Arg 또는 Lys;

위치 50의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;

위치 51의 Xaa 는 Val 또는 Thr;

위치 52의 Xaa 는 Lys 또는 Arg;

위치 53의 Xaa 는 Ser, Phe, 또는 His;

위치 54의 Xaa 는 Leu, Ile, Phe, 또는 His;

위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;

위치 57의 Xaa 는 Ala, Pro, 또는 Arg;

위치 58의 Xaa 는 Ser, Glu, Arg, 또는 Asp;

위치 59의 Xaa 는 Ala 또는 Leu;

위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, 또는 Gly;

위치 63의 Xaa 는 Ile 또는 Leu;

위치 65의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 66의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu, 또는 Arg;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Ile, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;

위치 69의 Xaa 는 Pro 또는 Thr;

위치 71의 Xaa 는 Leu 또는 Val;

위치 73의 Xaa 는 Leu 또는 Ser;

위치 74의 Xaa 는 Ala 또는 Trp;

위치 77의 Xaa 는 Ala 또는 Pro;

위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;

위치 81의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Phe, Ser 또는 Thr;

위치 82의 Xaa 는 Pro 또는 Tyr;

위치 83의 Xaa 는 Ile 또는 Val;

위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Leu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Pro;

위치 85의 Xaa 는 Ile, Leu, 또는 Val;

위치 86의 Xaa 는 Lys, Arg, Ile, Gln, Pro, 또는 Ser;

위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;

위치 90의 Xaa 는 Trp 또는 Leu;
위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 92의 Xaa 는 Glu, 또는 Gly;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는 Ser;
위치 98의 Xaa 는 Thr, Val, 또는 Gln;
위치 100의 Xaa 는 Tyr 또는 Trp;
위치 101의 Xaa 는 Leu 또는 Ala;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Thr, Val, Trp, Ser, Ala, His, Met, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr 또는 Ser;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Asp, 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 35는 천연 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다.

식Ⅷ(15-125) 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드도 본 발명에 포함된다;

```
Asn Cys Xaa Xaa Met Ile Asp Glu Xaa Ile Xaa Xaa Leu Lys Xaa
 1               5                  10                  15

Xaa Pro Xaa Pro Xaa Xaa Asp Phe Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp
                20                  25                  30

Xaa Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Glu
                35                  40                  45

Ala Phe Xaa Arg Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Asn Ala Ser Ala Ile
                50                  55                  60
```

Glu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Pro Cys Leu Pro Xaa Xaa Thr
65 70 75

Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Trp
80 85 90

Xaa Glu Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu Xaa Xaa Leu Glu
95 100 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:22]
110

여기서

위치 3의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, 또는 Gln;

위치 4의 Xaa는 Asn, His, 또는 Ile;

위치 9의 Xaa는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 11의 Xaa는 Thr, His, 또는 Gln;

위치 12의 Xaa는 His 또는 Ala;

위치 15의 Xaa는 Gln 또는 Asn;

위치 16의 Xaa는 Pro 또는 Gly;

위치 18의 Xaa는 Leu, Arg, Asn, 또는 Ala;

위치 20의 Xaa는 Leu, Val, Ser, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;

위치 21의 Xaa는 Leu, Ala, Asn, 또는 Pro;

위치 24의 Xaa는 Asn 또는 Ala;

위치 28의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr 또는 Arg;

위치 31의 Xaa는 Gln, Val, Met, Leu, Ala, Asn, Glu 또는 Lys;

위치 32의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Ala, Gln, Glu, His, Val 또는 Thr;

위치 36의 Xaa는 Glu, Asn, Ser 또는 Asp;

위치 37의 Xaa는 Asn, Arg, Pro, Thr, 또는 His;

위치 41의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Gly;

위치 42의 Xaa는 Pro, Gly, Ser, Ala, Asn, Val, Leu 또는 Gln;

위치 48의 Xaa는 Asn, Pro, 또는 Thr;

위치 50의 Xaa는 Ala 또는 Asn;

위치 51의 Xaa는 Val 또는 Thr;

위치 53의 Xaa 는 Ser또는Phe;
위치 54의 Xaa 는 Leu또는Phe;
위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Glu,또는 Arg;
위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Asn, Pro,또는Gly;
위치 63의 Xaa 는 Ile또는Leu;
위치 65의 Xaa 는 Lys, Asn, Met, Arg, Ile,또는Gly;
위치 66의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu,또는 Arg;
위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr또는Val;
위치 73의 Xaa 는 Leu또는Ser;
위치 74의 Xaa 는 Ala또는Trp;
위치 77의 Xaa 는 Ala또는Pro;
위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp,또는Ala;
위치 81의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Gly, Asn, Ser또는Thr;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Ala, Thr, Arg, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Leu;
위치 85의 Xaa 는 Ile또는Leu;
위치 86의 Xaa 는 Lys또는Arg;
위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Pro, Asn, Ile, Leu또는Tyr;
위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ser, Ile또는Asp;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Ala,또는Ser;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu,또는Ser;
위치 98의 Xaa 는 Thr또는Gln;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Val, Trp,또는Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr, Ala, His, Phe, Tyr또는Ser;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val,또는Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Pro,또는Asp;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Met, Trp, Phe, Pro, His, Ile,또는 Tyr;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, Ser,또는Leu;

이것은 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 26은 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응 아미노산과 다르다; 또는 이것은 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드이다.

본 발명은 하기 식의 폴리펩티드를 포함한다.

```
        1               5                  10
(Met)m-Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr
            15                  20
Ser Trp Val Asn Cys Ser Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ile Ile
25                  30                  35
Xaa His Leu Lys Xaa Pro Pro Xaa Pro Xaa Leu Asp Xaa
        40                  45              50
Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa Asp Ile Leu Xaa Glu
                55                  60
Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Phe Xaa Xaa
    65                  70              75
Ala Xaa Lys Xaa Leu Xaa Asn Ala Ser Xaa Ile Glu Xaa
            80                  85
Ile Leu Xaa Asn Leu Xaa Pro Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr
90                  95                  100
Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Ile Xaa Xaa Gly
        105                 110                 115
Asp Trp Xaa Glu Phe Arg Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu
                120                 125
Xaa Xaa Leu Glu Xaa Ala Gln Xaa Gln Gln Thr Thr Leu
    130
Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:129]
```

여기서 m은 0또는 1이고; 위치 18의 Xaa는 Asn 또는 Ile; 위치 19의 Xaa는 Met, Ala 또는 Ile; 위치 20의 Xaa는 Ile, Pro 또는 Ile; 위치 23의 Xaa는 Ile, Ale 또는 Leu; 위치 25의 Xaa는 Thr 또는 His; 위치 29의 Xaa는 Gln, Arg, Val 또는 Ile; 위치 32의 Xaa는 Leu, Ala, Asn 또는 Arg; 위치 34의 Xaa는 Leu 또는 Ser; 위치 37의 Xaa는 Phe, Pro, 또는 Ser; 위치 38의 Xaa는 Asn 또는 Ala; 위치 42의 Xaa는 Gly, Ala, Ser, Asp 또는 Asn; 위치 45의 Xaa는 Gln, Val, 또는 Met; 위치 46의 Xaa는 Asp 또는 Ser; 위치 49의 Xaa는 Met, Ile, Leu 또는 Asp; 위치 50의 Xaa는 Glu 또는 Asp; 위치 51의 Xaa는 Asn, Arg 또는 Ser; 위치 55의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Thr; 위치 56의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 59의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 60의 Xaa는 Ala 또는 Ser; 위치 62의 Xaa는 Asn, Val 또는 Pro; 위치 63의 Xaa는 Arg 또는 His; 위치 65의 Xaa는 Val 또는 Ser; 위치 67의 Xaa는 Ser, Asn, His 또는 Gln; 위치 69의 Xaa는 Gln 또는 Glu; 위치 73의 Xaa는 Ala 또는 Gly; 위치 76의 Xaa는 Ser, Ala 또는 Pro; 위치 79의 Xaa는 Lys, Arg 또는 Ser; 위치 82의 Xaa는 Leu, Glu, Val 또는 Trp; 위치 85의 Xaa는 Leu 또는 Val; 위치 87의 Xaa는 Leu, Ser, Tyr; 위치 88의 Xaa는 Ala 또는 Trp; 위치 91의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 93의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 95의 Xaa는 His 또는 Thr; 위치 98의 Xaa는 His, Ile, 또는 Thr; 위치 100의 Xaa는 Lys 또는 Arg; 위치 101의 Xaa는 Asp, Ala 또는 Met; 위치 105의 Xaa는 Asn 또는 Glu; 위치 109의 Xaa는 Arg, Glu 또는 Leu; 위치 112의 Xaa는 Thr 또는 Gln; 위치 116의 Xaa는 Lys, Val, Trp 또는 Ser; 위치 117의 Xaa는 Thr 또는 Ser; 위치 120의 Xaa는 Asn, Gln, 또는 His; 위치 123의 Xaa는 Ala 또는 Glu이다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 26은 천연 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다; 또는 이것은 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드이다.

본 발명의 바람직한 폴리펩티드는 하기 식의 폴리펩티드이다.

```
                1               5               10
(Met_m-Ala_n)p-Asn Cys Ser Xaa Xaa Xaa Asp Glu Xaa Ile
                    15                  20
Xaa His Leu Lys Xaa Pro Pro Xaa Pro Xaa Leu Asp Xaa
      25                30                  35
Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa Xaa Ile Leu Xaa Glu
             40                  45
Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Phe Xaa Xaa
50                  55                  60
Ala Xaa Lys Xaa Leu Xaa Asn Ala Ser Xaa Ile Glu Xaa
         65                  70                  75
Ile Leu Xaa Asn Xaa Xaa Pro Cys Xaa Pro Xaa Ala Thr
                    80                  85
Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Ile Xaa Xaa Gly
    90                  95                  100
Asp Trp Xaa Glu Phe Arg Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu
             105                 110
Xaa Xaa Leu Glu Xaa Ala Gln Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:130]
```

여기서 m은 0또는 1이고; n은 0또는 1이고; p는 0또는 1이고; 위치 4의 Xaa는 Asn 또는 Ile; 위치 5의 Xaa는 Met, Ala 또는 Ile; 위치 6의 Xaa는 Ile, Pro 또는 Leu; 위치 9의 Xaa는 Ile, Ala 또는 Leu; 위치 11의 Xaa는 Thr 또는 His; 위치 15의 Xaa는 Gln, Arg, Val 또는 Ile; 위치 18의 Xaa는 Leu, Ala, Asn 또는 Arg; 위치 20의 Xaa는 Leu 또는 Ser; 위치 23의 Xaa는 Phe, Pro, 또는 Ser; 위치 24의 Xaa는 Asn 또는 Ala; 위치 28의 Xaa는 Gly, Ala, Ser, Asp 또는 Asn; 위치 31의 Xaa는 Gln, Val 또는 Met; 위치 32의 Xaa는 Asp 또는 Ser; 위치 35의 Xaa는 Met, Ile 또는 Asp; 위치 36의 Xaa는 Glu 또는 Asp; 위치 37의 Xaa는 Asn, Arg 또는 Ser; 위치 41의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Thr; 위치 42의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 45의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 46의 Xaa는 Ala 또는 Ser; 위치 48의 Xaa는 Asn, Val 또는 Pro; 위치 49의 Xaa는 Arg 또는 His; 위치 51의 Xaa는 Val 또는 Ser; 위치 53의 Xaa는 Ser, Asn, His 또는 Gln; 위치 55의 Xaa는 Gln 또는 Glu; 위치 59의 Xaa는 Ala 또는 Gly; 위치 62의 Xaa는 Ser, Ala 또는 Pro; 위치 65의 Xaa는 Lys, Arg 또는 Ser; 위치 67의 Xaa는 Leu, Glu, 또는 Val; 위치 68의 Xaa는 Leu, Glu, Val 또는 Trp; 위치 71의 Xaa는 Leu 또는 Val; 위치 73의 Xaa는 Leu, Ser 또는 Tyr; 위치 74의 Xaa는 Ala 또는 Trp; 위치 77의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 79의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 81의 Xaa는 His 또는 Thr; 위치 84의 Xaa는 His, Ile, 또는 Thr; 위치 86의 Xaa는 Lys 또는 Arg; 위치 87의 Xaa는 Asp, Ala 또는 Met; 위치 91의 Xaa는 Asn 또는 Glu; 위치 95의 Xaa는 Arg, Glu, Leu; 위치 98의 Xaa는 Thr 또는 Gln; 위치 102의 Xaa는 Lys, Val, Trp 또는 Ser; 위치 103의 Xaa는 Thr 또는 Ser; 위치 106의 Xaa는 Asn, Gln, 또는 His; 위치 109의 Xaa는 Ala 또는 Glu이다; 그리고 Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 26은 천연(15-125)사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르다; 또는 이것은 실질직으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드이다.

" 돌연변이체 아미노산 서열" , " 돌연변이체 단백질" 또는 " 돌연변이체 폴리펩티드" 는 천연 서열과 다르거나 천연 서열로부터 의도적으로 만들어진 뉴클레오티드 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열을 갖는 폴리텝티드를 나타낸다. " 돌연변이체 단백질" , " 변이체 단백질" 또는 " 뮤테인" 은 돌연변이체 아미노산 서열을 함유하는 단백질을 의미하며 아미노산 결실, 치환, 또는 둘다에 의해 천연 hIL-3의 아미노산 서열과 다른 폴리펩티드를 포함한다. " 천연서열" 은 유전자나 단백질의 야생형 또는 천연형태와 동일한 아미노산 또는 핵산서열을 나타낸다.

사람 IL-3은 사람 조혈선구세포에 의한 콜로니 형성을 자극할 수 있는 능력을 특징으로 한다. 형성된 콜로니는 적혈구, 과립구, 거대핵세포, 과립구 매크로파지 및 그것의 혼합물을 포함한다. 사람 IL-3은 처음에는 영장류 그 다음에는 사람에서 수행된 연구에서 골수기능과 말초혈구집단을 치료적으로 유효한 수준으로 회복시킬 수 있는 능력을 나타낸다(Gallio, A. P., et al. (1990): Ganser, A. et al. (1990): Falk, S., et al. (1991)). hIL-3의 추가의 활성은 백혈구 이동 및 화학주성을 자극시킬 수 있는 능력; 류코트리엔과 히스타민 같은 염증매개인자의 높은 수준을 생성하도록 사람 백혈구를 준비시킬 수 있는 능력; 백혈구 접착에 필요한 분자의 세포표면 발현을 유도할 수 있는 능력; 진피의 염증반응 및 열을 유도할 수 있는 능력을 포함한다.

이러한 hIL-3의 생물학적 활성의 모든것 또는 많은것은 시그날 변환과 고친화성 리셉터 결합을 포함한다.

본 발명의 돌연변이체 폴리펩티드는 천연 hIL-3과 비교할때 유사하거나 더 큰 생물학적 활성을 갖거나, 또는 개선된 반감기 또는 감소된 해로운 부작용을 갖는 것과 같은 유용한 성질, 또는 이러한 성질의 조합을 나타낼 수 있다. 그것은 또한 길항제로서 유용할 수도 있다. 천연 hIL-3과 비교할때 거의 활성이 없거나 전혀 없는 hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드는 길항제로서, 면역학 또는 면역요법에서 사용하기 위한 항체의 생성을 위한 항원으로서, 유전자 프로브로서 또는 다른 유용한 hIL-3 뮤테인을 제조하는데 사용되는 중간생성물로서 유용할 것이다. hIL-3은 리셉터(들)에 결합하고 제 2정보를 유도하여 적절한 시그날 변환을 일으킴으로써 작용하기 때문에, 본 발명의 hIL-3 뮤테인은 특이적인 아미노산 서열이 이러한 활성에 역할을 하는지를 결정하는데 이용할 수 있다.

본 발명의 새로운 hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드는 바람직하게는 사람 IL-3 또는 IL-3 유사 성장인자의 적어도 하나의 생물학적 성질을 가질 것이며 하나 이상의 IL-3 유사 생물학적 성질, 또는 개선된 성질, 또는 사람 IL-3의 바람직하지 않은 생물학적 성질의 감소를 나타낼 수 있다. 본 발명의 어떤 돌연변이체 폴리펩티드는 개선된 부작용 프로필을 나타낼 수 있다. 예컨대, 그것은 천연 hIL-3 또는 (15-125)hIL-3과 비교했을때 류코트리엔 방출 또는 히스타민 방출의 감소를 나타낼 수 있다.

그러한 hIL-3 또는 hIL-3-유사 생물학적 성질은 하기의 생물학적 특성 및 생체내 및 생체외 활성중 하나 이상을 포함할 수 있다.

하나의 그러한 성질은 적혈구, 림프구, 및 골수계통으로 되는 선구세포의 성장과 분화의 지원이다. 예컨대, 표준 사람골수 분석에서 IL-3-유사 생물학적 성질은 과립구 타입 콜로니, 대핵세포 타입 콜로니, 단핵세포/매크로파지 타입 콜로니, 적혈구 버스트(burst)의 자극이다. 다른 IL-3-유사 성질은 초기 다능성 간세포와의 상호 작용, 다능성 선구세포의 성장의 유지, 만성골수성 백혈병(CML) 세포증식을 자극시킬 수 있는 능력, 비만세포증식의 자극, 다양한 인자-의존 세포주의 성장을 지지할 수 있는 능력, 미성숙 골수세포 선구체를 유도할 수 있는 능력이다. IL-3의 다를 생물학적 성질이 당업계에서 개시되었다. 사람 IL-3은 또한 어떤 경우에는 바람직하지 않을 수 있는 어떤 생물학적 활성, 예컨대 비장과 골수배양물에서 그리고 생체내에서 류코트리엔 방출을 자극시킬 수 있는 능력 및 증가된 히스타민 생성을 자극시킬 수 있는 능력을 갖는다.

hIL-3 및 본 발명의 hIL-3 돌연변이체 단백질의 생물학적 활성은 사람 급성 골수성 백혈병 세포(AML)에 의한 DNA 생성에 의해서 결정된다. 인자-의존 세포주 AML 193이 생물학적 활성 시험에 사용하기 위해 적용되었다.

본 발명의 한 목적은 천연 hIL-3 또는 천연(15-125)hIL-3에 관하여 유사하거나 개선된 생물학적 활성을 갖는, 폴리펩티드 서열에서 4이상의 아미노산 치환을 갖는 hIL-3뮤테인 및 hIL-3 결실 뮤테인을 제공하는 것이다.

본 발명은 추가로 폴리펩티드의 아미노산 서열에서 4이상의 아미노산 치환을 포함하는 N-말단 및/또는 C- 말단에 추가의 아미노산 신장부가 있는 또는 없는 hIL-3의 아미노산 잔기 15 내지 118을 최소한 함유하는 돌연변이체 폴리펩티드를 포함한다.

(15-125)hIL-3 돌연변이체는 E. coli의 세포질에서 발현될때 hIL-3보다 더 가용성이 있고, 이 단백질은 천연 hIL-3과 비교하여E. coli에서 더 높은 레벨로 주변세포질로 분비되는 것이 발견되었다.

E. coli 세포질에서 발현될때, 상술한 본 발명의 돌연변이체 hIL-3 폴리펩티드는 발현시 Met이 절단되어 N- 말단에 Ala이 남게되도록 N- 말단에서 Met-Ala- 을 갖도록 제조할 수 있다.

이 돌연변이체 hIL-3 폴리펩티드는 또한 N- 말단에 시그날펩티드를 융합시켜서E. coli에서 발현시킬 수 있다. 이 시그날펩티드는 분비과정의 일부로서 폴리펩티드로부터 절단된다E. coli에서의 분비는 시그날 펩티다제의 정확한 성질때문에 N- 말단의 정확한 아미노산(가령,(15-125)hIL-3폴리펩티드에서 Asn ^{15})을 얻는데 이용할 수 있다. 이것은 E. coli의 세포질에서 발현되는 단백질의 N- 말단에서 종종 관찰되는 이중성과 반대된다.

본 발명의 hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드는 hIL-3 또는 hIL-3유사활성을 가질 수 있다.

예컨대, 그것은 천연 hIL-3의 생물학적 활성중 하나 이상을 가질 수 있고 사람 또는 영장류 선구세포에 의한 조혈세포의 생성을 자극시키는데 유용할 수 있다. 본 발명의 hIL-3뮤테인 및 그것을 함유하는 제약조성물은 질환 또는 방사선이나 화학요법등의 치료에 기인하여 조혈세포집단이 감소 또는 파괴된 상태의 치료에 유용할 수 있다.

본 발명의 hIL-3뮤테인은 또한 hIL-3리셉터에 특이적으로 결합하여 아고니스트의 결합을 저해함으로써 hIL-3리셉터를 차단하는 길항제로서 유용할 수 있다.

본 발명의(15-125)hIL-3뮤테인, 특히 천연 hIL-3과 유사하거나 더 나은 활성을 유지하는 것의 하나의 가능한 이점은 원하는 치료효과를 얻는데 더 적은 양의 생물학적 활성 뮤테인을 이용하는 것이 가능할 수 있다는 점이다. 이것은 원하는 치료효과를 얻는데 필요만 치료의 수를 줄이는 것을 가능하게 할 수 있다.

더 적은 양의 사용은 또한 어떤 가능한 항원 효과 또는 기타 가능한 바람직하지 않은 부작용의 가능성을 줄일 수 있다. 예컨대, 원하는 치료효과가 더 적은 양의 폴리펩티드로 이루어질 수 있다면, 류코트리엔 및/또는 히스타민 방출의 자극같은 천연 IL-3의 투여와 연관된 부작용을 감소시키거나 제거하는 것이 가능할 것이다.

본 발명의 hIL-3뮤테인은 또한 낮은 리셉터 수를 갖는 간세포 또는 선구세포의 활성화에 유용할 수 있다. 본 발명의 (15-125)hIL-3 뮤테인을 포함하는 제약조성물은 비경구적으로, 정맥내로, 또는 피하내로 투여할 수 있다.

본 발명의 다른 면으로서, 새로운 부류의 사람 IL-3 뮤테인을 생성하는 새로운 방법이 제공되었다. 본 발명의 새로운 hIL-3돌연변이체 폴리펩티드의 발현을 위해 DNA코딩서열을 포함하는 벡터로 형질전환된 적당한 세포 또는 세포주를 배양하는 것을 포함한다.

적당한 세포 또는 세포주는 세균세포일 수 있다. 가령E.coli의 각종 균주들이 생물공학분야에서 숙주세포로서 잘 알려져 있다.

그러한 균주의 실례는E.coli균주 JM101[Yanish-perron, et al. (1985)] 및 MON105[Obukowicz, et al, (1992)]을 포함한다. 또한B. subtilis 의 각종 균주들도 이 방법에서 이용할 수 있다. 또한 당업자들에게 알려진 많은 균주의 효모세포도 본 발명의 폴리펩티드의 발현을 위한 숙주세포로서 이용가능하다.

또한 중국 햄스터 난소세포(CHO) 같은 포유동물세포도 본 발명에서 사용하는데 적합하다. 포유동물세포에서의 외부유전자의 발현을 위한 일반적인 방법은 Kaufman, R. J. (1987) High level production of proteins in mammalian cells, in Genetic Engineering, Principles and Methods , Vol. 9, J. K. Setlow, editor, Plenum Press, New York에서 요약되었다. 발현벡터는 포유동물세포에서 작용할 수 있는 강한 프로모터가 진핵세포의 분비 시그날펩티드 코딩영역의 전사를 일으키고 이것이 hIL-3변이체의 코딩영역에 융합번역되도록 고안된다. 예컨대, pcDNA I/Neo, pRc/RSV, 및 pRc/CMV(캘리포니아 산디에고, Invitrogen Corp.에서 구함) 같은 플라스미드를 사용할 수 있다. 진핵성 분비 시그날펩티드 코딩영역은 hIL-3유전자 자체로부터 유래할 수 있고 또는 그것의 다른 분비되는 포유동물 단백질로부터 유래할 수 있다(Bayne, M. L. et al. (1987) Proc. Natl. Acad. Sci. USA84, 2638-2642). hIL-3 변이체 유전자를 함유하는 벡터의 제조후, 벡터 DNA를 포유동물 세포속에 트랜스펙션시킨다.

그러한 세포는 가령 COS7, HeLa, BHK, CHO, 또는 마우스 L세포주일 수 있다.

세포는 가령 DMEM 배지(JRH Scientific)에서 배양할 수 있다. 배지로 분비된 hIL-3 변이체는 세포의 트랜스펙션후 24-72시간경 또는 안정한 세포주의 확립후 일시적인 발현후 네오마이신 내성에 대해 선별하는 표준생화학적 방법에 의해 회수할 수 있다.

적당한 포유동물 숙주세포의 선별 및 형질전환, 배양, 증폭, 스크리닝 및 생성물 생성 및 정제방법은 당업계에서 공지되었다. 가령 Gething및 Sambrook, Nature, 293: 620-625(1981), 또는 Kaufman et at. Mol. Cell. Biol .,5(7); 1750-1759(1985) 또는 Howley et al., 미국특허 제 4,419,446호 참조. 다른 적합한 포유동물 세포주는 원숭이 COS-1 세포주이다. 유사하게 유용한 포유동물 세포주는 CV-1 세포주이다.

원하는 경우엔 본 발명의 방법에서 숙주세포로서 곤충세포를 이용할 수 있다.

가령, Miller et al, Genetic Engineering ,8: 277-298(Plenum Press 1986)및 여기서 인용된 참고문헌 참조. 또한, 바쿨로바이러스 벡터를 이용하여 곤충세포에서 외부유전자를 발현시키는 일반적인 방법이 Summers, M. D. 및 Smith, G. E. (1987)-A manual of methods for Baculovirus vectors and insect cell culture procedures, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 에서 기술되었다.

바쿨로바이러스 전이 벡터를 함유하는 발현벡터가 고안되었는데, 여기서는 강한 바쿨로바이러스 프로모터(다면체 프로모터 따위) 가 진핵성 분비 시그날펩티드 코딩영역의 전사를 일으키고 hIL-3 변이체 폴리펩티드의 코딩영역에 융합번역된다. 예컨대, 플라스미드 pVL1392(캘리포니아 산디에고, Invitrogen Corp.로부터 구입) 를 이용할 수 있다. hIL-3 변이체 유전자를 함유한 벡터의 제조후, 이 DNA 2μg을 1μg의 바쿨로바이러스 DNA와 함께 곤충세포균주 SF 9 속에 공트랜스펙션시킨다(Summers & Smith, 1987참조).

hIL-3 변이체를 함유한 순수 재조합 바쿨로바이러스를 가령 Excell 401 혈청제거 배지(JRH Biosciences, Lenexa, Kansas)에서 배양된 세포를 감염시키는데 사용한다.

배지속으로 분비된 hIL-3변이체는 표준생화학적 방법에 의해 회수할 수 있다.

본 발명의 다른 면은 이러한 새로운 hIL-3뮤테인의 발현방법에 사용하기 위한 플라스미드 DNA 벡터를 제공한다. 이 벡터는 본 발명의 새로운 폴리펩티드를 코딩하는 상술한 새로운 DNA 서열을 포함한다.

hIL-3 뮤테인을 발현할 수 있는 미생물을 형질전환시킬 수 있는 적당한 벡터는 사용되는 숙주세포에 따라 선택되는 전사 및 번역 조절서열에 연결된 hIL-3뮤테인을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 함유하는 발현벡터를 포함한다.

상술한대로 변형된 서열을 포함하는 벡터도 본 발명에 속하고 hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드의 생성에 유용하다. 이 방법에서 이용되는 벡터는 또한 본 발명의 DNA 코딩서열과 작동적으로 연결되고 선택된 숙주세포에서 그것의 복제 및 발현을 일으킬 수 있는 선택된 조절서열을 포함한다.

추가의 세부사항은 공출원된 미국특허출원 대리인 사건번호 2713/1에서 발견할 수 있고, 이것은 여기서 전체가 참고문헌으로 통합되었다.

여기서 인용된 모든 참고문헌, 특허 또는 특허출원은 전체가 참고문헌으로 통합되었다.

본 발명은 또한 정확하게 폴딩(folding)되고 활성이 있는 폴리펩티드의 축적을 최적화하는 분비 벡터에서 4 이상의 아미노산 치환을 갖는 (15-125)사람 인터류킨-3 뮤테인의 제조 및 발현을 포함한다. 많은 이종단백질이 E. coli에서 분비되지만 여전히 많은 예측불가능과 제한된 성공이 있다(Stader 및 Silhavy 1990).

전체길이의 hIL-3도 그러한 단백질이며,E. coli에서 단백질을 분비시키려는 시도는 낮은 분비 레벨을 나타냈다.

LamB 같은 시그날 펩티드와의 융합체로서 본 발명의 변이체 (15-125)hIL-3돌연변이체 폴리펩티드의 분비는 정확하게 폴딩된 단백질을 생성하였고 이것은 삼투압 충격 분리에 의해E. coli의 외세포질로부터 제거할 수 있다. 변이체(15-125)hIL-3 뮤테인의 이러한 성질은 삼투압충격 조분획의 분비물질의 생성활성에 대해 직접적이고 빠른 스크리닝을 가능하게 하는데, 이것은 중요한 이점이다.

더욱이, 그것은 hIL-3분자의 구조활성 관계(SAR) 연구를 수행하는데 (15-125)hIL-3 뮤테인을 이용하는 수단을 제공한다. LamB시그날펩티드에 융합된 (15-125)hIL-3 뮤테인의 분비의 추가이점은 분비되는 폴리펩티드가 분비과정의 일부로서 시그날 펩티다제에 의한 시그날펩티드의 절단의 정확한 성질 때문에 정확한 N-말단 아미노산(Asn)을 갖는다는 점이다.

본 발명의 (15-125)hIL-3 뮤테인은 N-말단에 연결된 Met-, Ala- 또는 Met-Ala-을 갖는 hIL-3 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

뮤테인이E. coli의 세포질에서 발현될때, N-말단에 연결된 Met이 있는 그리고 없는 폴리펩티드가 얻어진다. 어떤 경우에는 메티오닌이 메티오닌 아미노펩티다제에 의해 제거될 수 있다.

E. coli에서 만들어진 hIL-3 뮤테인의 아미노말단 서열은 Hunkapillar et al. (1983)에 의해 기술된 방법을 이용하여 결정하였다.

Met-(15-125)hIL-3을 코딩하는 유전자로부터 E. coli에서 만들어진 hIL-3단백질은 Met-(15-125) hIL-3으로서 분리된다는 것이 밝혀졌다. Met-Ala-(15-125)hIL-3을 코딩하는 유전자로부터 생성된 단백질은 Ala-(15-125)hIL-3로서 생성되었다.

E. coli의 세포질에서 만들어진 단백질의 N-말단은 메티오닌 아미노펩티다제(Ben-Bassat et al., 1987)에 의해 그리고 가능하게는 다른 펩티다제에 의한 번역후 프로세싱에 의해 영향을 받는다.

바람직한 hIL-3(15-125) 돌연변이체 유전자를 생성하는 한 방법은 카세트 돌연변이 유발인데[Wells, et al. (1985)], 여기서는 플라스미드의 hIL-3의 코딩서열 일부가 두 제한 위치 사이의 유전자 일부에서 원하는 아미노산 치환을 코딩하는 합성 올리고뉴클레오티드로 대체된다. 유사한 방법에서는 아미노산 치환이 전체길이의 hIL-3 유전자, 또는 N-말단에서 1내지 14 아미노산이 결실되고 및/또는 C-말단에서 1내지 15 아미노산이 결실된 hIL-3의 변이체를 코딩하는 유전자에서 행해질 수 있다.

적당히 조립되면 이 올리고뉴클레오티드는 원하는 아미노산 치환 및/또는 N-말단 및/또는 C-말단에서의 결실을 갖는 hIL-3변이체를 암호화하게 될 것이다. 이것과 다른 돌연변이는 하기의 것들을 포함하는 다른 돌연변이 유발방법에 의해 당업자들에 의해 생성될 수 있다; 올리고뉴클레오티드- 특이적 돌연변이유발[Zoller 및 Smith(1982, 1983, 1984), Smith(1985), Kunkel(1985), Taylor, et al. (1985), Deng 및 Nickoloff(1992)] 또는 폴리머라제 연쇄반응

(PCR) 기술[Saiki, (1985)].

hIL-3 유전자의 아미노말단 부분을 코딩하는 상보적인 합성 올리고뉴클레오티드 쌍을 만들어서 서로 어닐링 시킬 수 있다. 그러한 쌍은 한쪽 끝에서 NcoI 과의 결합과 양립할 수 있는 돌출단부를 가질 것이다.

NcoI 부위는 개시 메티오닌의 코돈을 포함할 것이다. 올리고뉴클레오티드 쌍의 다른 끝에서, 돌출(또는 블런트) 단부는 hIL-3유전자의 코딩서열내에 존재하는 제한위치와 양립할 수 있을 것이다.

올리고뉴클레오티드의 DNA서열은 서열로부터 결실된 및/또는 치환된 것을 예외로 하고 hIL-3의 아미노산 서열을 암호화할 것이다.

NcoI 효소 및 선택된 다른 제한 효소는 선택된 플라스미드의 DNA에서 단지 한번 존재하는 인식부위를 가져야 한다. 플라스미드 DNA를 선택된 제한 엔도뉴클레아제로 처리한 뒤 어닐링된 올리고뉴클레오티드에 결합시킬 수 있다. 결합된 혼합물은 적절한 JM101세포를 적당한 항생제에 대한 내성을 갖도록 형질전환시키는데 사용할 수 있다. 단일 콜로니를 골라내서 플라스미드 DNA를 제한분석 및/또는 DNA시퀀싱에 의해 조사하여 돌연변이체 hIL-3유전자를 갖는 플라스미드를 식별할 수 있다.

hIL-3유전자의 코딩서열내에서 절단하는 제한효소의 한 실례는 인식위치가 코돈 20과 21에 있는 ClaI이다. hIL-3의 서열을 절단하는데 ClaI을 사용하는 것은 GATC 인식위치에서 DNA의 아데닌을 메틸화하지 못하는 E. coli 균주로부터 플라스미드 DNA를 분리하는 것이 필요하다. 이것은 ClaI의 인식위치 ATCGAT 가 hIL-3 유전자의 코돈 19,20 및 21에 있는 서열 GATCGAT내에 존재하기 때문이다.

GATC서열의 A는 대부분의E. coli 숙주세포에서 메틸화된다. 이 메틸화는 그 특별한 서열에서 ClaI이 절단하는 것을 방해한다.

아데닌을 메틸화하지 못하는 균주의 한 실례는 GM 48이다.

IL-3(15-125)에서 단일 아미노산 돌연변이체의 활성의 설명

표 6 및 9에서 예시된대로, 치환에 견딜 수 없는 IL-3(15-125) 분자의 일부 위치가 있는데, 이 위치에서의 대부분 또는 모든 치환은 생물학적 활성의 상당한 감소를 일으켰다.

그러한 " 다운(down)-돌연변이" 에는 두가지 가능한 부류가 있는데, 그것은 전체 단백질 구조에 영향을 미치는 돌연변이와 IL-3 분자와 그것의 리셉터 사이의 상호작용을 직접 저해하는 돌연변이이다. 단백질의 3차원구조에 영향을 주는 돌연변이는 일반적으로 단백질의 내부에 존재할 것이고, 반면에 리셉터 결합에 영향을 주는 돌연변이는 일반적으로 단백질의 표면에 존재할 것이다.

IL-3의 3차원 구조는 알려져 있지 않지만, 구조의 예측에 도움을 줄 수 있는 간단한 알고리즘이 있다. 하나의 그러한 알고리즘은 " 헬리칼휘일(helical wheels)" 의 사용이다(Kaiser, E. T. & Kezdy, F. J., Science, 223: 249-255(1984)). 이 방법에서는 알파나선 단백질구조의 존재가 그것의 양쪽친매성 성질에 의해 예측될 수 있다. 구형단백질의 나선은 흔히 노출된 친수성면과 파묻힌 소수성면을 갖는다. 일반화로서의 구형 단백질에서 소수성 잔기는 단백질의 내부에 존재하고, 친수성 잔기는 표면에 존재한다. 그러한 " 헬리칼휘일" 상에서 단백질의 아미노산 서열을 디스플레이함으로써 알파나선의 어느 아미노산이 노출되고 어느 것이 단백질의 코어속에 파묻혔는지에 대한 모델을 유도하는 것이 가능하다.

IL-3(15-125)분자의 그러한 분석은 하기의 나선잔기들이 코어속에 파묻혀 있는 것으로 예측할 수 있게 한다:

M19, I20, I23, I24, L27, L58, F61, A64, L68, A71, I74, I77, L78, L81, W104, F107, L111, Y114, L115, L118.

부가적으로, 위치 16 과 84 의 시스테인 잔기는 디술피드 결합에 의해 연결되며, 이것은 단백질의 전체구조 또는 " 폴딩" 에 중요하다. 최종적으로, 단백질 구조의 대부분의 파괴를 일으키는 돌연변이는 하기의 이유들 때문에, 즉 잘못 폴딩된 단백질은 세포의 분비기구에 의해 잘 인식되지 않기 때문; 단백질의 잘못된 폴딩은 응집을 일으켜서 단백질이 세포로부터 용이하게 추출될 수 없기 때문; 또는 잘못 폴딩된 단백질은 세포성 포로테아제에 의한 분해에 더 민감하기 때문에 우리의 연구에서 사용된 분비시스템에서 낮은 레벨로 발현될 수 있다.

따라서, 분비의 차단은 정확한 단백질 구조의 유지에 중요한 IL-3 분자의 위치를 나타낼 수 있다.

IL-3 변이체의 활성을 유지하기 위해서는, 단백질의 구조적 완전성을 유지하고, 리셉터 접촉에 중요한 특이적인 잔기를 유지하는 것이 필요하다. 따라서, 생물학적 활성을 유지하기 위해서 보존되어야 하는 IL-3(15-125)의 특정 아미노산 잔기를 정의하는 것이 가능하다.

리셉터와의 상호작용에 중요한 것으로 예상되는 잔기:

D21, E22, E43, D44, L48, R54, R94, D103, K110, F113.

구조적으로 중요한 것으로 예상되는 잔기:

C16, L58, F61, A64, I74, L78, L81, C84, P86, P92, P96, F107, L111, L115, L118.

본 발병의 hIL-3뮤테인은 조혈시스템의 골수, 적혈구, 림프, 또는 거핵구 세포 또는 그것의 조합의 감소된 레벨을 특징으로 하는 질환의 치료에 유용할 수 있다.

부가적으로 그것을 이용하여 성숙 골수 및/또는 림프 세포를 활성화 시킬 수 있다.

본 발명의 폴리펩티드로의 치료에 민감한 상태중에는 말초혈액에서 순환 백혈구 수의 감소, 백혈구 감소증이 있다. 백혈구 감소증은 어떤 바이러스 또는 방사선에의 노출에 의해 유도될 수 있다.

그것은 종종 각종 형태의 암요법, 가령 화학요법에 의한 약제에의 노출 및 감염 또는 출혈의 부작용이다.

백혈구 감소증을 본 발명의 hIL-3돌연변이체 폴리펩티드로 치료하면 현재 이용가능한 약제치료에 의해 야기되는 바람직하지 않은 부작용을 피할 수 있다.

본 발명의 hIL-3뮤테인은 호중구감소증의 치료, 그리고 가령 재생불량성 빈혈, 주기성 호중구감소증, 특발성 호중구감소증, 체디아크-히가시 증후군, 전신성 홍반성 낭창(SLE), 백혈병, 척수이형성 증후군 및 골수섬유증 같은 상태의 치료에서 유용할 수 있다.

많은 약제는 골수억제 또는 조혈결핍을 일으킬 수 있다. 그러한 약제의 실례는 화학요법에서 사용되는 AZT, DDI, 알킬화제 및 대사길항물질, 클로람페니콜, 페니실린 및 설퍼약 같은 항생제, 페노티아존, 메프로바메이트 같은 신경안정제, 이뇨제이다. 본 발명의 hIL-3뮤테인은 이러한 약제로 치료한 환자에게서 종종 발생하는 골수억제 또는 조혈결핍을 예방 또는 치료하는데 유용할 수 있다.

조혈결핍은 또한 바이러스, 미생물 또는 기생충감염의 결과로서 그리고 신장병 또는 신장 손상의 치료, 예컨대 투석의 결과로서 일어날 수도 있다. 본 발명의 hIL-3 뮤테인은 그러한 조혈결핍의 치료에 유용할 수 있다.

조혈결핍의 치료는 hIL-3뮤테인을 함유하는 제약조성물 또는 hIL-3뮤테인을 환자에게 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 hIL-3뮤테인은 또한 환자에게 세포를 주사하기 전에 본 발명의 뮤테인으로 세포를 생체외 처리함으로써 조혈 선구세포를 활성화 및 증폭시키는데 유용할 수 있다.

가령 T 및/또는 B 림프구에서의 각종 면역결핍, 또는 면역장애, 가령 류머티양 관절염도 또한 본 발명의 hIL-3돌연변이체 폴리펩티드로의 치료에 의해 유용한 효과를 얻을 수 있다. 면역결핍은 바이러스 감염, 가령 HTLVI, HTLVⅡ, HTLVⅢ, 방사선에의 심한 노출, 암치료의 결과 또는 다른 의료 치료의 결과일 수 있다. 본 발명의 hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드는 혈소판 감소증(혈소판 결핍), 또는 빈혈증을 포함하여 다른 혈구 결핍의 치료에서, 단독으로 또는 다른 헤마토포이에틴과 조합하여 이용할 수 있다. 이러한 새로운 폴리펩티드의 다른 용도는 생체내 및 생체외 골수이식에서 회복한 환자의 치료에서, 그리고 진단적 또는 치료적 이용을 위해 표준방법에 의해 생성된 모노클론 및 폴리클론 항체의 개발에서의 사용이다.

본 발명의 다른 면은 상술한 상태를 치료하기 위한 치료적 조성물과 방법이다. 그러한 조성물은 제약학적으로 허용가능한 담체와의 혼합물에서 치료적으로 유효한 양의 하나이상의 본 발명의 hIL-3뮤테인을 포함한다. 이 조성물은 비경구적으로, 정맥내로 또는 피하내로 투여할 수 있다. 투여시 본 발명에서 사용하기 위한 치료적 조성물은 바람직하게는 발열성 물질 없는 비경구적으로 허용가능한 수용액의 형태이다.

pH, 등장성, 안정성 등에 관해 그러한 비경구적으로 허용가능한 단백질용액을 조제하는 것은 당업자의 기술에 속한다.

상술한 상태의 치료방법에 포함된 투여량 관리는 약제의 작용을 변화시키는 각종 인자들, 가령 환자의 상태, 체중, 성별 및 음식, 어떤 감염의 심한 정도, 투여시간 및 다른 임상적 요인등에 따라 주치의에 의해 결정될 것이다.

일반적으로, 일일 투여량은 체중 1kg당 비-글리코실화 IL-3 단백질 0.2-150μg/kg 범위내일 수 있다.

이러한 투여량은 천연 IL-3가 일반적으로 여기서 기술된 AML 증식 검사에서 약 10 피코몰 내지 100피코몰의 EC_{50}을 갖는 것으로 인정되는 생물학적 활성의 표준레벨과 참조된다. 따라서, 투여량은 주어진 뮤테인의 활성 대 천연(참조) IL-3의 활성에 따라서 조정될 것이며, 투여량 섭생이 일일 체중 kg 당 0.1μg만큼 낮고 1mg만큼 높은 투여량을 포함할 수 있다고 하는 것은 불합리하지 않을 것이다. 게다가, IL-3 뮤테인의 투여량이 체중 kg당 10-200μg의 범위보다 더 크거나 낮도록 조정될 특정 상황이 있을 수 있다. 이것은 다른 CSF 또는 성장인자와의 공투여, 화학요법 약제 및/또는 방사선과의 공투여, 글리코실화된 IL-3 뮤테인의 사용, 이 섹션에 앞에서 언급한 각종 환자-연관 문제점을 포함한다. 상기에서 나타낸 것처럼 치료방법 및 조성물은 또한 다른 사람 인자들과의 공투여를 포함할 수 있다.

본 발명의 폴리펩티드와의 동시 또는 연속 공투여를 위한 다른 적당한 헤마토포이에틴, CSF 및 인터류킨의 비-제한적인 리스트에는 GM-CSF, CSF-1, G-CSF, Meg-CSF, M-CSF, 에리트로포이에틴(EPO), IL-1, IL-4, IL-2, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, LIF, B-세포 성장인자, B-세포분화인자 및 호산구 분화인자, 스틸 인자 또는 C-kit리간드로서 알려진 간세포인자(SCF), 또는 그것들의 조합이 포함된다.

상술한 투여량은 치료 조성물에서 그러한 추가 성분을 보상하도록 조정될 것이다. 치료환자의 경과는 혈액학적 프로필, 가령 차별적 세포카운트 등의 주기적 평가에 의해 모니터될 수 있다.

E. coli에서 hIL-3뮤테인 발현을 위한 재료 및 방법

다른 표시가 없으면 모든 특별한 화학물질은 Sigma Co.(St. Louis, MO)로부터 구입했다.

제한 엔도뉴클레아제, T4 폴리뉴클레오티드 키나제,E. coli DNA 폴리머라제 I 대단편(Klenow) 및 T4 DNA 리가제는 New England Biolabs(Beverly, Massachusetts)에서 구입하였다.

Escherichia coli 균주

균주 JM101: 델타(pro lac), supE, thi, F'(traD36, rpoAB, lacI-Q, lacZdeltaM15) (Messing, 1979). 이 균주는 미국메릴랜드 20852 록빌리 파크론 드라이브 12301, 아메리칸 타입 컬춰 콜렉션(ATCC)으로부터 수탁번호 33876으로 구할 수 있다. MON 105(W3110 rpoH358)은 W3110의 유도체이고(Bachmann, 1972) ATCC 수탁번호 55204로 기탁되었다.

균주 GM48: dam-3, dcm-6, gal, ara, lac, thr, leu, tonA, tsx(Marinus, 1973)은 서열 GATC에서 메틸화되지 않는 플라스미드 DNA를 만드는데 사용했다.

유전자 및 플라스미드

E. coli에서 hIL-3생성에 사용한 유전자는 British Biotechology Incorporated, Cambridge, England로부터 카탈로그번호 BBG14로서 얻었다. 이 유전자는 pP0518로서 표시된 pUC 기초 플라스미드상에서 운반된다.

E.coli에서 hIL-3의 생성에 사용된 플라스미드는 용도가 기술된 유전요소를 포함한다(Olins et al., 1988; Olins 및 Rangwala, 1990). 사용한 레플리콘은 세포에서 약 100의 카피 수로 유지되는(Soberon et al., 1980) pBR327의 것이다(Covarrubias, et al., 1981). 베타-락탐아제 단백질을 코딩하는 유전자가 플라스미드상에 존재한다. 이 단백질은 세포에 암피실린 내성을 부여한다. 이 내성은 세포에서 플라스미드의 존재에 대한 선택가능 표현형으로서 역할을 한다.

세포질 발현 벡터에서 전사프로모터는E. coli의 reaA 유전자로부터 추출되었다(Sancar et al., 1980). precA로서 표시된 이 프로모터는 RNA 폴리머라제 결합부위 및 lexA 리프레서 결합부위(오퍼레이터)를 포함한다. 이 DNA절편은 고레벨 전사를 제공하고 recA 프로모터가 pBR327 복제개시점을 갖는 플라스미드상에 있을때조차 조절된다(Olins et al., 1988).

이것은 여기서 참고문헌으로 통합되었다.

분비 발현 플라스미드에서 전사 프로모터는E. coli의 ara B, A, 및 D유전자로부터 유도되었다(Greenfield et al., 1978). 이 프로모터는 pAraBAD로 표시되고 323염기쌍 SacII, BglII제한 단편에 포함된다.

LamB 분비 리더(Wong et al., 1988, Clement et al., 1981)를 효소 NcoI(5'CCATGG3')의 인식 서열에서 hIL-3 유전자의 N-말단에 융합시켰다. 사용된 hIL-3유전자는 Hind III인식위치(5'AAGCTT3')다음에 유전자의 코딩서열을 갖도록 고안하였다.

이 hIL-3변이체는 제 8도에서 보여지고, araBAD프로모터(Greenfield, 1978) 및 g10-L리보솜결합부위(Olins et al., 1988)에 작동적으로 연결된 LamB 시그날 펩티드와의 융합체로서 발현되었다. 프로세싱된 형태는 삼투압 충격에 의해 외세포질로부터 정확하게 폴딩되고 완전한 활성이 있는 분자로서 선택적으로 방출되었다. (15-125)hIL-3의 분비는 낮은 유도인자(아라비노스) 농도를 이용함으로써 그리고 30℃에서 생장시킴으로써 더욱 최적화되었다. 이러한 조건은 프로세싱되지 않은 LamB 시그날 펩티드(15-125)hIL-3 융합체의 더 낮은 축적레벨, 프로세싱된(15-125)hIL-3의 최대 축적레벨 및 삼투압 충격분리에 의한 (15-125)hIL-3의 선택적 방출을 나타냈다. 전사레벨 따라서 발현레벨을 조절할 수 있는 araBAD 같은 긴밀하게 조절되는 프로모터의 사용은 (15-125)hIL-3 분비의 최적화를 가능하게 했다.

사용된 리보솜 결합부위는 파지 T7의 유전자 10의 것이다(Olins et al., 1988).

이것은 precA에 인접하여 위치한 100염기쌍(bp)단편에서 암호화된다. 여기서 사용된 플라스미드에서 효소 NcoI(CCATGG)의 인식서열이 g10-L다음에 위치한다. hIL-3 유전자가 플라스미드에 연결되는 것은 이 NcoI 위치에서이다. 이 연결부에서 뉴클레오티드 서열은 mRNA에서 번역의 기능적인 개시위치로서 인식될 것으로 생각된다(Olins et al.,

1988). 사용된 hIL-3 유전자는 유전자의 코딩서열의 아랫쪽에서 HindIII인식위치(AAGCTT)를 갖도록 고안되었다. 이 Hind III위치에는 단일가닥의 파지 f1의 복제개시점을 포함하는 514염기쌍 RsaI 단편이 있다(Dente등, 1983; Olins 등, 1990). 둘다 참고문헌으로 여기서 통합되었다. 이 요소를 함유하는 플라스미드는 pMON2341이다. 이 요소를 함유하는 다른 플라스미드는 pMON5847인데, 이것은 미국 메릴랜드 20852록빌리 파크론 드라이브 12301, 아메리칸 타입 컬춰 콜렉션에서 수탁번호 ATCC68912로 기탁되었다.

올리고뉴클레오티드의 합성

올리고뉴클레오티드는 Applied Biosystems, Inc.(Foster City, California)의 뉴클레오티드 합성기 모델 380A 또는 380B 에서 합성되었다. 올리고뉴클레오티드는 0.5×Tris 붕산염 완충액(0.045M Tris, 0.045M붕산, 1.25mM EDTA)중의 12-20%농도(19:1 교차결합됨)에서 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 후 Dupont, Co.(Wilmington, Delaware)에서 얻은 PREP Automated Sample Processor를 이용하여 New England Nuclear(Boston, Massachusetts) 에서 얻은 Nensorb 컬럼을 통과시킴으로써 정제하였다.

합성 올리고뉴클레오티드의 정량

합성 올리고뉴클레오티드를 물에 재현탁시키고 1cm ×1mm 수정 큐벳을 이용하여(Maniatis, 1982)Beckman DU40 스펙트로포토미터(Irvine, California)로 260nm에서의 흡광도를 계측함으로써 정량하였다. 농도는 흡광도 계수 1×10^4 (Voet et at., 1963; Mahler 및 Cordes, 1966)을 이용하여 측정하였다.

그 다음 올리고 뉴클레오티드를 원하는 농도로 희석하였다.

합성 DNA단편의 정량은 키나제 완충액(25mM Tris pH8.0, 10mM $MgCl_2$, 10mM DTT 및 2mM 스퍼미딘)을 포함하는 용액에 10내지 100피코몰의 DNA를 첨가함으로써 이루어질 수 있다. 반응혼합물에 20 마이크로몰까지의 ATP, 감마 포스페이트에서 방사성 표지화된 ATP(5000-10,000dpm/pmol) 및 T4 폴리뉴클레오티드 키나제 5유니트를 첨가한다. 방사성 표지된 물질은 New England Nuclear(Boston, Massachusetts)로부터 얻어진다.

10μℓ 혼합물을 37℃에서 1시간동안 배양한다. 혼합물 1μℓ분액을 0.3M 중탄산암모늄에서 DEAE 페이퍼(Whatman)상에서 크로마토그래피하였다. 개시점에서 남아있는 카운트를 합성 DNA의 농도를 결정하는데 사용하였다.

재조합 DNA방법

E. coli 배양물로부터 플라스미드 DNA의 분리는 기술된 대로 수행하였다(Birnboim 및 Doly, 1979). 일부 DNA는 Promega(Madison, Wisconsin)에서 구입할 수 있는 Magic ™ 컬럼에 의해 정제하였다. 정제한 플라스미드 DNA를 제조자 지시에 따라 제한 엔도뉴클레아제로 처리하였다. 제한효소 처리에 의해 생성된 DNA단편의 분석을 아가로스 또는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의해 행하였다.

아가로스(Fisher, Pittsburgh PA. 의 DNA등급)는 Tris-아세테이트 전개완충액(0.04M Tris-아세테이트, 0.001M EDTA)에서 1.0% 농도로 사용했다. 폴리아크릴아미드(BioRad, Richmond CA.)는 0.5 ×Tris-붕산염 완충액(0.045M Tris, 0.045M붕산, 1.25mM EDTA)에서 6%의 농도(19:1 교차결합됨)로 사용했고, 하기에서는 PAGE로 나타냈다.

DNA폴리머라제 I 대단편 Klenow 효소는 돌출단부를 남기는 제한효소로 처리된 DNA단편의 5'부터 3'까지 모노뉴클레오티드의 첨가를 촉매하도록 제조자 지시에 따라 사용하였다. 반응물을 65℃에서 10분간 배양하여 Klenow 효소를 열 불활성화시켰다.

합성 올리고뉴클레오티드는 5' 또는 3' 말단 인산기 없도록 제조하였다.

그러한 올리고 뉴클레오티드가 단부끼리 결합되는 경우에는, 올리고 뉴클레오티드를 하기의 완충액중에서 T4 폴리뉴클레오티드 키나제로 μℓ당 10피코몰의 농도로 처리하였다; 25mM Tris, pH8.0, 10mM $MgCl_2$, 10mM 디티오트레이톨, 2mM 스퍼미딘, 1mM rATP. 37℃에서 30분간 배양한후, 샘플을 65℃에서 5분간 배양하여 키나제를 열 불활성화 시켰다.

합성 유전자 어셈블리

(15-125)hIL-3유전자는 5가지의 편리한 제한 위치에 의해 분리된 4영역으로 나누어졌다. 4영역 각각에서 합성 올리고뉴클레오티드는 단일가닥 단부를 돌출하면서 상보적 쌍으로 어닐링하고, 쌍이 적당하게 조립되면 hIL-3유전자의 일부분을 암호화하는 DNA서열을 생성하도록 고안되었다. hIL-3 유전자의 아미노산 치환은 올리고뉴클레오티드가 원하는 치환을 코딩하도록 고안함으로써 행해졌다.

상보적인 올리고 뉴클레오티드는 결합 완충액 +50mM NaCl에서 μℓ당 1pmole의 농도로 어닐링되었다. 샘플을 끓는 물의 100ml 비이커에서 가열시키고 실온까지 천천히 냉각시켰다.

어닐링된 올리고뉴클레오티드 쌍 각각의 1pmole을, 실온에서 하룻밤동안 전체체적 20μℓ에서 New England Biolabs (Beverly, Massachusetts)에서 얻은 T4 DNA 리가제로, 결합 완충액(25mM Tris pH8.0, 10mM $MgCl_2$, 10mM 디티오트레이톨, 1mM ATP, 2mM 스퍼미딘)에서 적당한 제한효소로 분해된 플라스미드 DNA 대략 0.2pmol과 결합시켰다.

Schleicher 및 Schuell(Keene, New Hampshire)의 DEAE 막에 제한 단편을 인터셉트시키고 제조자 지시에 따라 55℃에서 1시간동안 10mM Tris, 1mM EDTA, 1M NaCl으로 DNA를 용출시켜서 아가로스 겔로부터 DNA단편을 분리하였다.

DNA 단편을 포함하는 용액을 제조자지시에 따라 Amicon(W. R. Grace, Beverly MA.)의 Centricon 30 농축기를 이용하여 농출 및 탈염시켰다. 결합완충액에서의 결합을 15℃에서 하룻밤 동안 수행하였다.

폴리머라제 연쇄반응

폴리머라제 연쇄반응(하기에서는 PCR로 나타냄) 기술(Saiki, 1985)은 Perkin-Elmer Cetus(Norwalk, CT.)의 시약키트와 열사이클러를 이용했다. PCR은Thermus aquaticus 의 열안정 DNA폴리머라제에 기초한다. PCR 기술은 생체내 복제와 유사한 방식으로 각 사이클 후에 DNA분자의 수가 2배가 되는 천연 DNA 복제과정을 모방한 DNA 증폭방법이다. DNA 폴리머라제 매개 연장은 5'에서 3' 방향이다. 여기서 사용되는 용어 " 프라이머" 는 DNA 폴리머라제가 뉴클레오티드 서열에 상보적인 뉴클레오티드를 첨가할 수 있는 단부를 제공하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타낸다. 후자의 뉴클레오티드 서열은 " 주형" 으로서 나타내는데, 여기에 프라이머가 어닐링된다.

증폭된 PCR 생성물은 연장 프라이머의 5' 단부사이에서 이루어진 영역으로 정의된다.

프라이머는 일정한 서열을 갖기 때문에 생성물은 프라이머 서열에 대응하는 별개의 단부를 가질 것이다.

프라이머 연장 반응은 35 사이클동안 (1사이클은 1분간 94℃, 2분간 50℃ 및 3분간 72℃로서 정의된다) 주형 플라스미드 DNA 1피코그램 및 각각의 올리고 뉴클레오티드 20피코몰(pmole)을 이용하여 수행하였다. 반응혼합물을 동일체적의 페놀/클로로포름(50%페놀과 50%클로로포름, v/v)으로 추출하여 단백질을 제거하였다. 증폭된 DNA를 함유하는 수층과 용매층을 마이크로 원심분리기(Model 5414 Eppendorf Inc. Fremont CA.)에서 5분간 원심분리하여 분리하였다. 증폭된 DNA를 침전시키기 위해서 수층을 제거하고 새로운 튜브로 옮기고 1/10 체적의 3M NaOAC(pH5.2) 및 2.5체적의 에탄올(-20℃)에서 보관한 100%)을 첨가하였다. 용액을 혼합하고 20분간 드라이아이스상에 놓았다. 마이크로 원심분리기에서 10분간 원심분리하여 DNA를 펠렛화하고 펠렛으로부터 용액을 제거했다. DNA펠렛을 70%에탄올로 세척하고, 에탄올을 제거하고, Speedvac농축기(Savant, Farmingdale, New York)에서 건조시켰다. 펠렛을 25 ㎕TE(20mM Tris-HCl pH7.9, 1mM EDTA)에 재현탁시켰다. 또 다르게는 동일체적의 4M NH_4OAC와 1체적의 이소프로판올을 첨가하여 DNA를 침전시켰다[Trece et al., (1988)]. 용액을 혼합하고 실온에서 10분간 배양하고 원심분리하였다. 이 조건은 20염기보다 더 큰 DNA단편을 선택적으로 침전시키고, 올리고뉴클레오티드 프라이머를 제거하는데 사용되었다. 반응물 1/4을 제한효소로 분해시키고[Higuchi, (1989)] 완결시 70℃로 가열하여 효소를 불활성화 시켰다.

결합혼합물로부터 재조합 플라스미드의 회수

E. coli JM101 세포를 DNA획득에 적합하도록 만들었다. 전형적으로는, 20내지 100ml의 세포를 LB 배지에서 대략 150klett 유니트의 밀도로 생장시킨 다음 원심분리에 의해 수거하였다. 세포를 1/2 배양액 체적의 50mM $CaCl_2$에 재현탁시키고 4℃에서 1시간동안 유지하였다. 원심분리에 의해 세포를 다시 수거하고 1/10 배양액 체적 50mM $CaCl_2$에 재현탁시켰다. 이 세포 150㎕체적에 DNA를 첨가하고, 샘플을 4℃에서 30분동안 유지하였다. 샘플을 1분간 42℃로 옮기고, 1ml의 LB를 첨가하고, 샘플을 37℃에서 1시간동안 진동시켰다. 이 샘플의 세포를 형질전환체를 선택하기 위해 암피실린 함유 플레이트상에 접종하였다.

플레이트를 37℃에서 하룻밤동안 배양하였다. 단일 콜로니를 골라내고, 암피실린으로 보충된 LB에서 37℃에서 하룻밤 진동시키면서 생장시켰다. 이 배양액으로부터 제한 분석을 위해 DNA를 분리하였다.

배양배지

LB 배지(Maniatis et al., 1982)는 DNA분리를 위해 세포를 생장시키는데 사용했다. 1.0%카사미노산, 산 가수분해된 카세인으로 보충된 M9 최소배지(Difco, Detroit, Michigan)는 재조합 hIL-3이 생성되는 배양물에 사용했다. M9배지의 성분은 다음과 같다; 3g/리터 KH_2PO_4, 6g/l Na_2HPO_4, 0.5/l NaCl, 1g/l NH_4Cl, 1.2mM $MgSO_4$, 0.025mM $CaCl_2$, 0.2%글루코스(AraBAD 프로모터와 0.2% 글리세롤), 1% 카사미노산, 0.1ml/l 미량 무기물(리터당 108g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, 4.0g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 7.0g $CoCl_2 \cdot 2H_2O$, 7.0g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, 8.0g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 2.0g H_3BO_3, 5.0g $MnSO_4 \cdot H_2O$, 100ml진한 HCl).

Bacto 한천은 고체 배지에 사용했고 암피실린을 ml 당 200㎍으로 액체 및 고체 LB 배지에 첨가하였다.

DNA 서열분석

플라스미드 DNA의 뉴클레오티드 시퀀싱은 Prober et at. (1987) 및 Sanger et al. (1977)의 방법에 따라 Dupont(Wilmington, Delaware) 에서 얻은 Genesis 2000 시퀀서를 이용하여 결정했다. 일부 DNA서열 결정은 제조자 지시에 따라 Sequenase™ 폴리머라제(U. S. Bio chemicals, Cleveland, Ohio) 를 이용하여 수행하였다.

rec 프로모터를 함유한 벡터를 갖는 E. coli에서 재조합 hIL-3뮤테인의 생성

관심있는 플라스미드를 갖는E. coli 균주를 New Brunswick Scientific(Edison, New Jersey)의 Gyrotory 수조 Model G76에서 진동시키면서 M9+ 카사미노산 배지에서 37℃로 생장시켰다.

생장은 Klett Summerson미터(그린 54 필터), Klett Mfg. Co.(New York, New York) 로 모니터하였다. 대략 150의 클레트(Klett) 값에서 단백질 분석을 위해 배양물 분액 (대개 1ml)을 제거하였다.

남아있는 배양물에 0.1N NaOH중의 날리딕신산(10mg/ml)을 50μg/ml의 최종농도로 첨가하였다. 날리딕신산 첨가후 3내지 4시간동안 37℃에서 배양물을 진동시켰다.

원하는 유전자 산물의 최대 생성을 이루기 위해서 세균생장내내 높은 정도의 통기를 유지하였다. 굴절체(refractile body; RB)의 존재에 대해서 광학현미경하에서 세포를 조사하였다. 단백질 함량의 분석을 위해 배양물의 1ml분액을 제거하였다.

E. coli에서 pAraBAD프로모터로부터 재조합 hIL-3단백질의 생성

관심있는 필라스미드를 갖는E. coli균주를 M9배지+카사미노산 및 글리세롤에서 진동시키면서 30℃로 생장시켰다. 그린 54 필터를 이용하여 Klett Summerson 비색계로 생장을 모니터하였다. 약 150의 클레트 값에서 단백질 분석을 위해 배양물 분액(대개 1ml)을 제거하였다. 남아있는 배양물에 20%아라비노스를 0.05%의 최종 농도로 첨가하였다.

아라비노스의 첨가후 3내지 4시간동안 30℃에서 배양물을 진동시켰다.

원하는 유전자산물의 최대생성을 이루기 위해서 세균생장내내 높은 정도의 통기를 유지하였다. 단백질 함량의 분석을 위해 배양물의 1ml분액을 제거하였다.

분비 및 삼투압 충격

유도후 3시간경에 샘플을 삼투압 충격에 의해 파괴하였다[Neu 및 Heppel(1965)].

배양물의 광학농도 (클레트값)를 결정하고 1.5ml 스냅 톱 마이크로 원심분리 튜브에서 시그마 마이크로원심분리기(West Germany)모델 202MK로 5분간 10,000rpm에서 1ml의 세포를 원심 분리하였다. 세포펠렛을 1μℓ/l 클레트유니트를 이용하여 실온 수크로스용액(20%수크로스 w/v, 30mM Tris-HCl pH7.5, 1mM EDTA)중에 피페팅에 의해 매우 천천히 재현탁시켰다.

실온에서 10분 배양한 다음, 세포를 5분간 10,000rpm에서 원심분리하였다. 세포 펠렛으로부터 수크로스 분획을 주의깊게 제거하였다. 그 다음엔 세포펠렛을 1μℓ/l 클레트 유니트를 이용하여 얼음냉각된 증류수에 피페팅에 의해 매우 천천히 재현탁시켰다. 얼음에서 10분간 방치한후, 12,000rpm에서 5분간 세포를 원심분리 하였다. 물분획을 주의깊게 제거했다. 동일 체적의 수크로스와 물 분획을 모으고 분별하여 활성 스크리닝을 위한 샘플을 제공하였다.

hIL-3 돌연변이체 폴리펩티드를 생성하는 E. coli배양물의 단백질 함량의 분석

상술한 대로 처리한 배양물의 세균세포를 원심분리에 의해 배지로부터 모았다. 이 세포의 분액을 클레트 유니트당 1μℓ의 농도로 SDS 로딩완충액(4X: 6g SDS, 10ml 베타-메르캅토에탄올, 25ml 상부 Tris 겔 스톡(0.5M Tris HCl pH 6.8, 0.4% SDS)을 글리세롤로 50ml로 만듬, 0.2% 브로모페놀블루를 첨가함)중에 재현탁시켰다. 이 샘플을 85℃에서 5분간 배양하고 와동시켰다. 이 샘플 5 또는 10μℓ분액을 Laemmli(1970)방법에 따라 제조한 15% 폴리아크릴아미드 겔에 로딩하였다.

쿠마시 블루를 최종농도 1%까지 첨가한 아세트산, 메탄올 및 물 5:1:5(v/v)의 용액으로 겔을 염색함으로써 단백질 밴드를 가시화하였다. 염색후 겔을 쿠마시 블루 없는 동일 용액에서 세척한 다음 7% 아세트산, 5%메탄올의 용액으로 세척하였다.

겔을 Hoeffer(San Francisco, California)에서 얻은 겔 드라이어 모델 SE 1160에서 건조시켰다. 염색된 단백질의 양은 Joyce-Loebl(Gateshead, England)에서 얻은 농도계를 이용하여 측정하였다.

얻어진 값은 세균세포의 염색된 단백질 총량과 비교하여 염색된 hIL-3단백질의 양의 척도였다.

E. coli에서 만들어진 hIL-3뮤테인의 웨스턴블롯 분석

hIL-3을 생성하는 어떤E. coli 배양물에서, hIL-3단백질의 축적수준은 전체 세균 단백질의 5%보다 더 낮다. 이 수준으로 생성된 hIL-3을 검출하기 위해서 웨스턴 블롯 분석을 사용하였다. 날리딕신산 또는 아리비노스로 유도된 배양물의 단백질을 로딩된 샘플의 체적이 적당한 시그날을 생성하도록 조정된 것을 제외하고는 상술한대로 폴리아크릴아미드 겔에서 전개시켰다. 전기영동후 단백질을 Renart et al, (1979) 방법에 따라 APT페이퍼, Transa-bind, Schleicher 및 Schuell(Keene, New Hampshire)에 전기 블로팅시켰다. 이 블롯을 프로브화하는데 사용되는 항혈청은 면역원으로서 hIL-3의 아미노산 20내지 41과 94내지 118서열의 펩티드를 이용하여 토끼에서 만들어졌다.

결합된 항체의 존재는 New England Nuclear(Boston, Massachusetts)에서 얻은 ^{125}I로 방사성 표지된 포도상 구균의 프로틴 A로 검출하였다.

세포질에서 hIL-3단백질을 생성하는 E. coli세포의 분류

hIL-3 뮤테인을 생성하는 플라스미드를 갖는E. coli 배양물의 세포를 날리딕신산으로 유도시켰다. 3시간후 hIL-3뮤테인이 굴절체로 축적되었다.

hIL-3 뮤테인의 정제의 제1단계는 세포를 초음파 처리하는 것이었다. 배양물의 분액을 세포 펠렛으로부터 초음파처리 완충액중에 재현탁시켰다: 10mM Tris, pH8.0, 1mM EDTA, 50mM NaCl 및 0.1mM PMSF. 이렇게 재현탁된 세포를 Heat systems-Ultrasonics Inc.(Farmingdale, New York)에서 얻은 소니케이터 세포파쇄기 Model W-375로부터 마이크로팁을 이용하여 여러번 반복하여 초음파 파쇄시켰다. 광학현미경하에서 호모게네이트를 조사함으로써 초음파처리의 정도를 모니터하였다. 거의 모든 세포가 파쇄되었을 때, 호모게네이트를 원심분리에 의해 분류시켰다. 대부분의 굴절체를 포함하는 펠렛은 hIL-3뮤테인이 매우 풍부하다.

방법: E. coli에서 굴절체로서 발현되는 인터류킨-3(IL-3)뮤테인의 추출, 재폴딩 및 정제 굴절체(RB)의 추출

RB 각 그램당(전형적으로는 1그램은 300ml E. coli 배양물로부터 얻어진다) 6M 구아니딘 하이드로클로라이드(GnHCl), 50mM 2-N-시클로헥실아미노에탄술폰산 (CHES)pH 9.5 및 20mM 디티오트레이톨(DTT)을 포함하는 용액 5ml을 첨가하였다.

RB를 15-30초동안 Bio-Homogenizer로 추출하고 5℃에서 2시간동안 약하게 진동시켜서 단백질이 완전히 환원 및 변성되게 하였다.

IL-3뮤테인의 재폴딩

단백질 용액을 투석튜빙(1000 분자량 차단)으로 옮기고 적어도 100체적의 4M GnHCl-50mM CHES pH8.0에 대해 투석하였다.

투석은 약하게 교반하면서 5℃에서 하룻밤동안 계속하였다.

그 다음엔 적어도 100체적의 2M GnHCl-50mM CHES pH8.0에 대해서 투석을 계속하고, 약하게 교반하면서 5℃에서 하룻밤 동안 투석하였다.

IL-3뮤테인의 정제

투석 튜빙으로부터 단백질 용액을 제거하고 40% 아세토니트릴(CH_3CN)-0.2%트리플루오로 아세트산(TFA)의 첨가에 의해 최종농도 20% CH_3CN-0.1 TFA까지 산성화시켰다.

이것을 정화시키기 위해 원심분리하고(5분간 16,000×g)상징액을 사전에 20% CH_3CN-0.1% TFA에서 평형된 Vydac(Hesperia, California)에서 구입할 수 있는 VydacC-18 역상컬럼(10×250mm)에 로딩하였다. 컬럼을 3ml/분의 유속으로 40-50% CH_3CN-0.1%TFA사이의 직선 구배(0.2% CH_3CN/분)로 용출시키고 1.5ml 분획을 모았다.

분획을 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(SDS-PAGE)에 의해 분석하고 적당한 분획을 모았다. 모은 물질을 동결건조에 의해 또는 Speed Vac 농축기에서 건조시켰다. 건조 분말을 10mM 중탄산암모늄 pH7.5와 재구성하고, 원심분리하고(5분간 16,000×g)표준물로서 소혈청 알부민으로 Bradford(1976)방법에 의해 단백질 농도를 분석하였다.

이 단백질은 SDS-PAGE, 일렉트로스프레이 매스분광측정법, 역사 HPLC, 모세관 존 전기 영동, 아미노산 조성분석, ELISA(효소-결합 면역흡착제 분석) 같은 추가 기술에 의해 더욱 분석할 수 있다.

hIL-3 샌드위치 ELISA

IL-3 단백질 농도는 친화성 정제된 폴리클론 염소 항-rhIL-3에 기초한 샌드위치 ELISA를 이용하여 결정할 수 있다. 마이크로타이터 플레이트(Dynatech Immulon II)를 100mM $NaHCO_3$, pH8.2 중의 대략 1μg/ml 농도의 150μℓ 염소-항-rhIL-3로 피복시켰다.

100%습도를 유지하는 챔버에서 실온에서 하룻밤동안 플레이트를 배양하였다. 웰을 비우고 플레이트상의 남아있는 반응부위를 10mM PBS, 3% BSA 및 0.05% Tween20, pH7.4를 포함하는 용액 200μℓ로 37℃ 그리고 100%습도에서 1시간동안 차단시켰다. 웰을 비우고 0.05%Tween20을 포함하는 150mM NaCl(세척완충액)로 4번 세척하였다. 그다음 각 웰에 rhIL-3 표준물, 콘트롤, 샘플을 포함하는 150μℓ의 희석완충액(0.1% BAS, 0.01% Tween20, pH7.4을 포함하는 10mM PBS)또는 희석완충액 단독을 넣었다. rhIL-3의 스톡용액을 이용하여 0,125ng/ml부터 5ng/ml 까지 범위의 농도로 표준곡선을 구하였다(농도는 아미노산 조성분석에 의해 결정됨). 37℃ 및 100%습도에서 플레이트를 2.5시간 배양하였다. 웰을 비우고 각 플레이트를 세척완충액으로 4번 세척하였다.

그다음 각 웰에 최적 희석도(체커판 분석 포맷에서 결정됨)의 호스래디쉬 퍼옥시다제에 컨쥬게이트된 염소 항-rhIL-3를 150μℓ 가하였다. 플레이트를 37℃ 및 100% 습도에서 1.5시간 배양하였다. 웰을 비우고 각 플레이트를 세척완충액으로 4번 세척하였다. 그 다음엔 각 웰에 150μℓ의 ABTS 기질용액(Kirkegaard 및 Perry)을 가하였다. 5ng/ml rhIL-3를 포함하는 표준 웰의 색깔이 Dynatech 마이크로 타이터 플레이트 리더에서 570nm의 기준파장 및 410nm의 시험파장에서 계측할 때 0.5-1.0사이의 흡광도를 생성할 만큼 충분히 발색될때까지 플레이트를 실온에서 배양하였다.

미지의 샘플에서 면역반응성 rhIL-3의 농도는 플레이트 리더와 함께 제공된 소프트웨어를 이용하여 표준곡선으로부터 계산하였다.

생물학적 활성이 있는 사람 인터류킨-3의 AML증식분석

인자-의존 세포주 AML 193을 아케리칸 타입 컬춰 콜렉션(ATCC, Rockville, MD)으로부터 얻었다. 급성 골수성 백혈병 환자로부터 확립된 이 세포주는 GM/CSF 보충된 배지에서 증가된 생장을 나타낸 성장인자 의존 세포주이다(Lange, B., et al., (1987); Valtieri, M., et al., (1987)). 또한 사람 IL-3의 존재하에서 AML 193세포가 증식할 수 있는 능력이 발표되었다(Santoli, D., et al., (1987)). 세포주 변이체 AML 193 1.3이 사용되었는데, 이것은 성장인자를 씻어내고 24시간동안 성장인자에 대해 시토카인 의존 AML 193 세포를 고갈시킴으로써 IL-3에서의 장기간 생장에 적합하게 되었다.

그다음 세포를 100U/ml IL-3를 포함하는 배지에서 24 웰 플레이트에서 1×10^{5} 세포/웰로 재플레이팅 하였다. 세포가 IL-3에서 빠르게 생장하는데는 대략 2개월 걸렸다. 이 세포는 조직배양배지(하기 참조)를 사람 IL-3로 보충함으로써 이후에는 AML 193 1.3으로 유지되었다.

세포현탁액을 250×g에서 10분간 원심분리한후 상징액을 따라내서 AML 193 1.3세포를 냉각 Hanks 균형 염 용액(HBSS, Gibco, Grand Island, NY)에서 6번 세척하였다. 펠렛화된 세포를 HBSS에 재현탁시키고 6번의 세척사이클이 종결될때까지 이 과정을 반복하였다. 이 과정에 의해 6번 세척한 세포를 2×10^{5} 내지 5×10^{5} 생세포/ml 범위의 밀도로 조직 배양배지에 재현탁시켰다. 이 배지는 Iscove 변형 Dulbecco 배지(IMDM, Hazleton, Lenexa, KS)를 알부민, 트란스페린, 지질 및 2-메르캅토에탄올로 보충함으로써 제조하였다. 소 알부민(Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN)은 500μg/ml 첨가했다; 사람 트란스페린(Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN)은 100μg/ml 첨가했다; 콩 지질(Boehringer-Mannheim, Indianapolis, IN)은 50μg/ml 첨가했다; 그리고 2-메르캅토에탄올(Sigma, St. Louis, MO)은 5×10^{-5} M 첨가했다.

사람 인터류킨-3 또는 사람 인터류킨-3 변이체 단백질(hIL-3뮤테인)의 연속희석은 96 웰 Costar 3596 조직 배양 플레이트에서 상술한 대로 보충된 조직배양배지로 삼중으로 행해졌다.

연속 희석이 완료되면 각 웰은 인터류킨-3 또는 인터류킨-3변이체 단백질을 함유하는 배지 50μℓ를 포함하였다. 콘트롤 웰은 조직배양배지 만을 포함했다(네가티브 콘트롤). 상기와 같이 제조한 AML 193 1.3 세포현탁액을 각 웰에 50μℓ(2.5×10^{4} 세포)를 피페팅함으로써 각 웰에 첨가하였다. 5% CO_2 습기찬 공기중에서 3일동안 조직배양 플레이트를 37℃에서 배양하였다. 3일경에 조직배양배지 50μℓ에 0.5μCi ^{3}H-티미딘(2 Ci/mM, New England Nuclear, Boston, MA)을 첨가하였다.

18-24 시간동안 5% CO_2 습기찬 공기중에서 37℃에서 배양물을 배양하였다.

물세척 사이클후 70%에탄올세척 사이클을 이용한 TOMTEC 세포수거기(TOMTEC, Orange, CT)를 이용하여 글래스 필터 매트(Pharmacia LKB, Gaithersburg, MD)상에 세포 DNA를 수거했다. 필터매트를 공기건조 시키고, 신틸레이션 액(ScintiverseII, Fisher Scientific, St. Louis, MO 또는 Betaplate Scintillation Fluid, Pharmacia LKB, Gaithersburg, MD)이 첨가된 샘플백속에 놓았다. 각 조직 배양 웰로부터 샘플의 베타 방출을 LKB Betaplate 모델 1205 신틸레이션 카운터(Pharmacia LKB, Gaithersburg, MD)로 계수했고 데이터는 각 조직 배양 웰로부터 세포속에 투입된 ^{3}H-티미딘의 분 당 카운트로서 표현되었다.

각 사람 인터류킨-3 제제 또는 사람 인터류킨-3 변이체 제제의 활성은 등급을 매긴 농도의 인터류킨-3또는 인터류킨-3변이체에 의해 유도된 세포증식(^{3}H-티미딘 삽입)을 측정함으로써 정량하였다. 전형적으로, 이러한 분석에서는 0.05pM-10^{5} pM의 농도 범위가 정량된다. 활성은 최대증식의 50%를 제공하는 인터류킨-3 또는 인터류킨-3 변이체의 투여량을 측정함으로써 결정된다[EC_{50} =0.5×(시험한 인터류킨-3의 모든 농도의 삼중 배양물중에서 웰당 투입된 ^{3}H-티미딘의 분당 최대 평균 카운트-인터류킨-3이 결핍된 삼중배양물에서 관찰된 ^{3}H-티미딘 투입에 의해 측정된 백그라운드 증식].

이 EC_{50} 값은 또한 1 유니트의 생체활성과 등가이다. 모든 분석은 상대활성 수준이 결정될 수 있도록 기준 표준물로서 천연 인터류킨-3과 함께 수행되었다.

본 발명의 IL-3 뮤테인의 상대적인 생물학적 활성은 표 1에서 보여진다. IL-3 돌연변이체의 상대적인 생물학적 활성은(1-133)hIL-3의 EC_{50} 을 돌연변이체의 EC_{50} 으로 나누어서 계산한다. 상대적인 생물학적 활성은 복제 분석의 평균일 수 있다.

표 1

IL-3유태인의 생물학적 활성

플라스미드 코드	폴리펩티드 구조	상대적인* 생물학적활성
기준	(1-133)hIL-3	1
pMON13298	SEQ ID NO. 82	3
pMON13299	SEQ ID NO. 83	2
pMON13300	SEQ ID NO. 84	3
pMON13301	SEQ ID NO. 85	2
pMON13302	SEQ ID NO. 86	1.2
pMON13303	SEQ ID NO. 87	0.6
pMON13287	SEQ ID NO. 88	26
pMON13288	SEQ ID NO. 89	24
pMON13289	SEQ ID NO. 90	13
pMON13290	SEQ ID NO. 91	20
pMON13292	SEQ ID NO. 92	6
pMON13294	SEQ ID NO. 93	3
pMON13295	SEQ ID NO. 94	3
pMON13312	SEQ ID NO. 95	4
pMON13313	SEQ ID NO. 96	8
pMON13285	SEQ ID NO. 259	32
pMON13286	SEQ ID NO. 260	8
pMON13325	SEQ ID NO. 261	8
pMON13326	SEQ ID NO. 262	25
pMON13330	SEQ ID NO. 263	19
pMON13329	SEQ ID NO. 406	10
pMON13364	SEQ ID NO. 117	13

표 1(계속)

IL-3유태인의 생물학적 활성

플라스미드 코드	폴리펩티드 구조	상대적인* 생물학적활성
pMON13475	SEQ ID NO. 280	7
pMON13366	SEQ ID NO. 281	38
pMON13367	SEQ ID NO. 282	36
pMON13368	SEQ ID NO. 278	1.6
pMON13369	SEQ ID NO. 283	10
pMON13370	SEQ ID NO. 284	6
pMON13373	SEQ ID NO. 285	12
pMON13374	SEQ ID NO. 286	6
pMON13375	SEQ ID NO. 287	14
pMON13376	SEQ ID NO. 288	0.4
pMON13377	SEQ ID NO. 289	0.4
pMON13379	SEQ ID NO. 291	0.9
pMON13380	SEQ ID NO. 279	0.05
pMON13381	SEQ ID NO. 293	10
pMON13382	SEQ ID NO. 313	38
pMON13383	SEQ ID NO. 294	0.5
pMON13384	SEQ ID NO. 295	0.25
pMON13385	SEQ ID NO. 292	1
pMON13387	SEQ ID NO. 308	32
pMON13388	SEQ ID NO. 296	23
pMON13389	SEQ ID NO. 297	10
pMON13391	SEQ ID NO. 298	30
pMON13392	SEQ ID NO. 299	17
pMON13393	SEQ ID NO. 300	32
pMON13394	SEQ ID NO. 301	20
pMON13395	SEQ ID NO. 302	11
pMON13396	SEQ ID NO. 303	20
pMON13397	SEQ ID NO. 304	16
pMON13398	SEQ ID NO. 305	36
pMON13399	SEQ ID NO. 306	18
pMON13404	SEQ ID NO. 307	1.3
pMON13417	SEQ ID NO. 310	24
pMON13420	SEQ ID NO. 311	19
pMON13421	SEQ ID NO. 312	0.5
pMON13432	SEQ ID NO. 313	10
pMON13400	SEQ ID NO. 317	0.09
pMON13402	SEQ ID NO. 318	20
pMON13403	SEQ ID NO. 321	0.03
pMON13405	SEQ ID NO. 267	9

표 1(계속)

IL-3뮤테인의 생물학적 활성

플라스미드 코드	폴리펩티드 구조	상대적인* 생물학적활성
pMON13406	SEQ ID NO. 264	5
pMON13407	SEQ ID NO. 266	16
pMON13408	SEQ ID NO. 269	7
pMON13409	SEQ ID NO. 270	15
pMON13410	SEQ ID NO. 271	0.4
pMON13411	SEQ ID NO. 322	1.2
pMON13412	SEQ ID NO. 323	0.5
pMON13413	SEQ ID NO. 324	0.6
pMON13414	SEQ ID NO. 265	4
pMON13415	SEQ ID NO. 268	4
pMON13418	SEQ ID NO. 326	0.5
pMON13419	SEQ ID NO. 325	0.015
pMON13422	SEQ ID NO. 272	0.4
pMON13423	SEQ ID NO. 273	0.4
pMON13424	SEQ ID NO. 274	3
pMON13425	SEQ ID NO. 275	6
pMON13426	SEQ ID NO. 276	>0.0003
pMON13429	SEQ ID NO. 277	>0.0002
pMON13440	SEQ ID NO. 319	9
pMON13451	SEQ ID NO. 320	0.1
pMON13459	SEQ ID NO. 328	0.003
pMON13416	SEQ ID NO. 309	19.9
pMON13428	SEQ ID NO. 327	0.008
pMON13467	SEQ ID NO. 329	0.16
pMON13446	SEQ ID NO. 315	21.5
pMON13390	SEQ ID NO. 316	20

* IL-3돌연변이체의 상대적인 생물학적 활성은(1-133)hIL-3의 EC_{50} 을 돌연변이체의 EC_{50} 으로 나누어서 계산한다.

하기의 분석은 사람 단핵 세포로부터 IL-3 매개된 술피도류코트리엔 방출을 측정하는데 이용된다.

사람 단핵세포로부터 IL-3 매개된 술피도류코트리엔 방출

헤파린-함유 사람 혈액을 모으고 바로 배지에 사용하도록(밀도 1.077g/ml) 동일체적의 Ficoll-Paque(Pharmacia #17-0840-02)위에 층지게 하였다. 사용하기전에 Ficoll을 실온까지 데우고 투명한 50ml 폴리스티렌 튜브를 이용하였다. Sorvall RT6000B 냉각원심분리기에서 H1000B로터를 이용하여 실온에서 30분간 Ficoll 구배를 300×g로 원심분리하였다. 단핵세포를 포함하는 밴드를 주의깊게 제거하고, Dulbecco인산염 완충식염수(Gibco Laboratories cat. #310-4040PK)로 체적을 50ml로 조정하고, 4℃에서 10분간 400×g로 원심분리하고 상징액을 주의깊게 제거했다.

세포펠렛을 HA 완충액 [20mM Hepes(Sigma # H-3375), 125mM NaCl(Fisher # S271-500), 5mM KCl(Sigma # P-9541), 0.5mM 글루코스(Sigma # G-5000), 0.025% 사람혈청 알부민(Calbiochem # 126654)]으로 두번 세척하고, 300×g, 10분, 4℃에서 원심분리하였다. 세포를 HACM 완충액(1mM $CaCl_2$ (Fisher # C79-500)및 1mM $MgCl_2$ (Fisher # M-33)으로 보충된 HA 완충액)중에 1×10^6 세포/ml의 농도로 재현탁시키고 96 웰 조직배양 플레이트의 각 웰속에 180㎕를 옮겼다. 세포를 37℃에서 15분간 방치하였다.

각종 농도의 시토카인의 20 ×스톡 10㎕를 각 웰에 첨가함으로써 세포를 준비시켰다. (전형적으로는 100000, 20000, 4000, 800, 160, 32, 6.4, 1.28, 0 fM IL3). 37℃에서 세포를 15분간 배양하였다. 20×(1000nM)fmet-leu-phe (Calbiochem # 344252) 최종 농도 50nM FMLP 10 ㎕의 첨가에 의해 술피도 류코트리엔 방출을 활성화시키고 37℃에서 10분간 배양하였다.

플레이트를 4℃에서 20분간 350×g로 회전시켰다. 상징액을 제거하고 제조자 지시에 따라 Cayman의 류코트리엔 C4 EIA 키트(cat. #420211)를 이용하여 술피도류코트리엔에 대해 분석하였다. 각 분석에서 표준물 콘트롤로서 천연(15-125)hIL-3를 이용하였다.

천연 hIL-3는 상당한 염증활성을 갖고 아라키돈산 대사물질 LTC_4, LTD_4, 및 LTE_4의 생성, 히스타민생성, 히스타민 방출을 자극시키는 것으로 밝혀졌다. 천연 hIL-3로의 사람임상 시험은 염증반응을 나타냈다(Biesma, et al., BLOOD, 80: 1141-1148(1992) 및 Postmus et al., J. CLIN. ONCOL., 10: 1131-1140(1992)). 최근의 연구는 류코트리엔이 생체내 IL-3 작용에 관여하고 IL-3 치료의 생물학적 효과에 중요한 역할을 할 수 있다는 것을 나타낸다(Denzlinger, C., et al., BLOOD, 81: 2466-2470(1993)).

본 발명의 일부 뮤테인은 천연hIL-3또는 (15-125)hIL-3와 비교했을 때 개선된 치료 프로필을 가질 수 있다. 예컨대, 본 발명의 일부 뮤테인은 류코트리엔 또는 히스타민 자극의 유사하거나 대응하는 증가를 나타내지 않고 천연 hIL-3 또는 (15-125) hIL-3와 비교하여 유사하거나 더 강력한 성장인자 활성을 가질 수 있다. 이 뮤테인은 원하는 성장인자 활성(가령, 세포증식)을 얻기 위해 주어질 필요가 있는 폴리펩티드의 양이 더 적은 류코트리엔 또는 히스타민 자극효과를 갖기 때문에 더 바람직한 치료 프로필을 갖는 것으로 기대된다. 천연의 hIL-3의 연구에서 염증인자의 자극은 치료의 바람직하지 않은 부작용이었다. 염증매개인자의 자극의 감소 또는 제거는 천연 hIL-3사용에 이점을 제공할 것이다.

pMON 13288 폴리펩티드는 류코트리엔 C4(LTC4) 생성 및 히스타민 방출의 자극의 대응하는 증가를 나타내지 않고 AML 193 세포증식 분석에서 천연 hIL-3에 비해 더 강력한 성장인자 활성을 나타냈다(pMON13288에서는 EC_{50} =0.8-3.8pM 그리고 천연 hIL-3에서는 EC_{50} =30.2pM).

즉, 그것은 천연 hIL-3와 유사한 효능으로 LTC4 생성과 히스타민 방출을 자극시키면서 천연 hIL-3에 비하여 세포증식을 자극시킬 수 있는 능력이 개선되었다.

따라서 pMON 13288 폴리펩티드로는 바람직하지 않은 염증매개인자의 더 적은 자극을 나타내면서 원하는 치료반응, 가령 세포증식을 일으킬 수 있을 것으로 기대된다.

본 발명의 일부 뮤테인은 천연 hIL-3와 다른 항원성 프로필을 갖는다. 예컨대, 친화성 정제된 폴리클론 염소 항-hIL-3 항체로의 경쟁 ELISA에서, 천연 hIL-3는 표지화된 hIL-3와 폴리클론 항-hIL-3항체의 결합을 처단한 반면에 pMON13288폴리펩티드는 hIL-3와 항-hIL-3항체의 결합은 차단하지 못하였다.

표 2는 본 발명의 뮤테인을 제조하는데 사용된 어떤 올리고뉴클레오티드의 서열을 나열하고 있다.

표 3은 천연(15-125)hIL-3(펩티드 #1)의 아미노산 서열과 본 발명의 어떤 돌연변이체 폴리펩티드의 아미노산 서열을 나열하고 있다. 서열은 천연 hIL-3의 것에 대응하도록 아미노산 넘버링을 하였다[제 1도].

표 4는 본 발명의 돌연변이체 폴리펩티드를 코드화하는 어떤 DNA서열의 뉴클레오티드 서열을 나열하고 있다.

표 2

올리고뉴클레오티드

Oligo #1 길이: 000040

CATGGCTAAC TGCTCTATAA TGATCGATGA AATTATACAT [SEQ ID NO:15]

Oligo #2 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATAATTT CATCGATCAT TATAGAGCAG TTAGC [SEQ ID NO:16]

Oligo #3 길이: 000036

CACTTAAAGA GACCACCTGC ACCTTTGCTG GACCCG [SEQ ID NO:17]

Oligo #4 길이: 000036

GAGGTTGTTC GGGTCCAGCA AAGGTGCAGG TGGTCT [SEQ ID NO:18]

Oligo #5 길이: 000036

CACTTAAAGA GACCACCTAA CCCTTTGCTG GACCCG [SEQ ID NO:19]

Oligo #6 길이: 000036
GAGGTTGTTC GGGTCCAGCA AAGGGTTAGG TGGTCT [SEQ ID NO:20]

Oligo #7 길이: 000036
CACTTAAAGG TTCCACCTGC ACCTTTGCTG GACAGT [SEQ ID NO:21]

Oligo #8 길이: 000036
GAGGTTGTTA CTGTCCAGCA AAGGTGCAGG TGGAAC [SEQ ID NO:22]

Oligo #9 길이: 000027
AACAACCTCA ATGCTGAAGA CGTTGAT [SEQ ID NO:23]

Oligo #10 길이: 000018
ATCAACGTCT TCAGCATT [SEQ ID NO:24]

Oligo #11 길이: 000027
AACAACCTCA ATTCTGAAGA CATGGAT [SEQ ID NO:25]

Oligo #12 길이: 000018
ATCCATGTCT TCAGAATT [SEQ ID NO:26]

Oligo #13 길이: 000022
CATGGGAACC ATATGTCAGG AT [SEQ ID NO:27]

Oligo #14 길이: 000018
ATCCTGACAT ATGGTTCC [SEQ ID NO:28]

Oligo #15 길이: 000016
TGAACCATAT GTCAGG [SEQ ID NO:29]

Oligo #16 길이: 000024
AATTCCTGAC ATATGGTTCA TGCA [SEQ ID NO:30]

Oligo #17 길이: 000020
AATTCGAACC ATATGTCAGA [SEQ ID NO:31]

Oligo #18 길이: 000020
AGCTTCTGAC ATATGGTTCG [SEQ ID NO:32]

Oligo #19 길이: 000022
ATCGAACCAT ATGTCAGATG CA [SEQ ID NO:33]

Oligo #20 길이: 000018
TCTGACATAT GGTTCGAT [SEQ ID NO:34]

Oligo #21 길이: 000036
ATCCTGATGG AACGAAACCT TCGACTTCCA AACCTG [SEQ ID NO:35]

Oligo #22 길이: 000027
AAGTCGAAGG TTTCGTTCCA TCAGGAT [SEQ ID NO:36]

Oligo #23 길이: 000036
ATCCTGATGG AACGAAACCT TCGAACTCCA AACCTG [SEQ ID NO:37]

Oligo #24 길이: 000027
AGTTCGAAGG TTTCGTTCCA TCAGGAT [SEQ ID NO:38]

Oligo #25 길이: 000024
CTCGCATTCG TAAGGGCTGT CAAG [SEQ ID NO:39]

Oligo #26 길이: 000024
CCTTACGAAT GCGAGCAGGT TTGG [SEQ ID NO:40]

Oligo #27 길이: 000024
GAGAGCTTCG TAAGGGCTGT CAAG [SEQ ID NO:41]

Oligo #28 길이: 000024
CCTTACGAAG CTCTCCAGGT TTGG [SEQ ID NO:42]

Oligo #29 길이: 000015
CACTTAGAAA ATGCA [SEQ ID NO:43]

Oligo #30 길이: 000020
TTTTCTAAGT GCTTGACAGC [SEQ ID NO:44]

Oligo #31 길이: 000015
AACTTAGAAA ATGCA [SEQ ID NO:45]

Oligo #32 길이: 000020
TTTTCTAAGT TCTTGACAGC [SEQ ID NO:46]

Oligo #33 길이: 000048
GGTGATTGGA TGTCGAGAGG GTGCGGCCGT GGCAGAGGGC AGACATGG
[SEQ ID NO:47]

Oligo #34 길이: 000048
CTGCCCTCTG CCACGGCCGC ACCCTCTCGA CATCCAATCA CCATCAAG
[SEQ ID NO:48]

Oligo #35 길이: 000048
GATGATTGGA TGTCGAGAGG GTGCGGCCGT GGCAGAGGGC AGACATGG
[SEQ ID NO:49]

Oligo #36 길이: 000048
CTGCCCTCTG CCACGGCCGC ACCCTCTCGA CATCCAATCA TCATCAAG
[SEQ ID NO:50]

Oligo #37 길이: 000018
TACGAGATTA CGAAGAAT [SEQ ID NO:51]

Oligo #38 길이: 000018
CGTAATCTCG TACCATGT [SEQ ID NO:52]

Oligo #39 길이: 000018
TTGGAGATTA CGAAGAAT [SEQ ID NO:53]

Oligo #40 길이: 000018
CGTAATCTCC AACCATGT [SEQ ID NO:54]

Oligo #41 길이: 000019
TGCCTCAATA CCTGATGCA [SEQ ID NO:55]

Oligo #42 길이: 000021
TCAGGTATTG AGGCAATTCT T [SEQ ID NO:56]

Oligo #43 길이: 000026
AATTCTTGCC AGTCACCTGC CTTGAT [SEQ ID NO:57]

Oligo #44 길이: 000016
GCAGGTGACT GGCAAG [SEQ ID NO:58]

Oligo #45 길이: 000032
AATTCCGGGA AAAACTGACG TTCTATCTGG TT [SEQ ID NO:59]

Oligo #46 길이: 000037
CTCAAGGGAA ACCAGATAGA ACGTCAGTTT TTCCCGG [SEQ ID NO:60]

Oligo #47 길이: 000032
ACCCTTGAGC ACGCGCAGGA ACAACAGTAA TA [SEQ ID NO:61]

Oligo #48 길이: 000027
AGCTTATTAC TGTTGTTCCT GCGCGTG [SEQ ID NO:62]

Oligo #49 길이: 000032
ACCCTTGAGC AAGCGCAGGA ACAACAGTAA TA [SEQ ID NO:63]

Oligo #50 길이: 000027
AGCTTATTAC TGTTGTTCCT GCGCTTG [SEQ ID NO:64]

Oligo #51 길이: 000034
GCCGATACCGCGGCATACTCCCACCATTCAGAGA [SEQ ID NO:155]

Oligo #52 길이: 000033
GCCGATAAGATCTAAAACGGGTATGGAGAAACA [SEQ ID NO:156]

Oligo #53
ATAGTCTTCCCCAGATATCTAACGCTTGAG [SEQ ID NO:157]

Oligo #54 길이: 24
CAATACCTGATGCGTTTTCTAAGT [SEQ ID NO:158]

Oligo #55 길이: 33
GGTTTCGTTCCATCAGAATGTCCATGTCTTCAG [SEQ ID NO:159]

Oligo #165 NCOECRV1.REQ 길이: 000040

CATGGCTAAC TGCTCTAACA TGATCGATGA AATTATAACA [SEQ ID NO:162]

Oligo #166 NCOECRV4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGT GTTATAATTT CATCGATCAT GTTAGAGCAG TTAGC [SEQ ID NO:163]

Oligo #167 NCOECRV2.REQ 길이: 000036

CACTTAAAGC AGCCACCTTT GCCTTTGCTG GACTTC [SEQ ID NO:164]

Oligo #168 NCOECRV5.REQ 길이: 000036

GAGGTTGTTG AAGTCCAGCA AAGGCAAAGG TGGCTG [SEQ ID NO:165]

Oligo #169 2D5M6SUP.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATGACGAAGA CATGTCT [SEQ ID NO:166]

Oligo #170 2D5M6SLO.REQ 길이: 000018

AGACATGTCT TCGTCATT [SEQ ID NO:167]

Oligo #15(A) 길이: 000016

TGAACCATAT GTCAGG [SEQ ID NO:168]

Oligo #16(A) 길이: 000024

AATTCCTGAC ATATGGTTCA TGCA [SEQ ID NO:169]

Oligo #B1 19ALA1.REQ 길이: 000040

CATGGCAAAC TGCTCTATAG CTATCGATGA AATTATACAT [SEQ ID NO:170]

Oligo #B2 19ALA4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATAATTT CATCGATAGC TATAGAGCAG TTTGC [SEQ ID NO:171]

Oligo #B3 19ILE1.REQ 길이: 000040

CATGGCAAAC TGCTCTATAA TCATCGATGA AATTATACAT [SEQ ID NO:172]

Oligo #B4 19ILE4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATAATTT CATCGATGAT TATAGAGCAG TTTGC [SEQ ID NO:173]

Oligo #B5 49ASP1.REQ 길이: 000036

ATCCTGGACG AACGAAACCT TCGAACTCCA AACCTG [SEQ ID NO:174]

Oligo #B6 49ASP4.REQ 길이: 000027

AGTTCGAAGG TTTCGTTCGT CCAGGAT [SEQ ID NO:175]

Oligo #B7 49ILE1.REQ 길이: 000036

ATCCTGATCG AACGAAACCT TCGAACTCCA AACCTG [SEQ ID NO:176]

Oligo #B8 49ILE4.REQ 길이: 000027

AGTTCGAAGG TTTCGTTCGA TCAGGAT [SEQ ID NO:177]

Oligo #B9 49LEU1.REQ 길이: 000036

ATCCTGCTGG AACGAAACCT TCGAACTCCA AACCTG [SEQ ID NO:178]

Oligo #B10 49LEU4.REQ 길이: 000027

AGTTCGAAGG TTTCGTTCCA GCAGGAT [SEQ ID NO:179]

Oligo #B11 42S45V3.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATTCTGAAGA CGTTGAT [SEQ ID NO:180]

Oligo #B12 42S45V6.REQ 길이: 000018

ATCAACGTCT TCAGAATT [SEQ ID NO:181]

Oligo #B13 18I23A5H.REQ 길이: 000051

CGCGCCATGG CTAACTGCTC TATAATGATC GATGAAGCAA TACATCACTTA [SEQ ID NO:182]

Oligo #B14 2341HIN3.REQ 길이: 000018

CGCGTCGATA AGCTTATT [SEQ ID NO:183]

Oligo #B15 2341NCO.REQ 길이: 000018

GGAGATATAT CCATGGCT [SEQ ID NO:184]

Oligo #B16 2A5M6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGACA TGTCTTCAGC ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:185]

Oligo #B17 2A5V6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGAAA CGTCTTCAGC ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:186]

Oligo #B18 2D5M6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGACA TGTCTTCGTC ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:187]

Oligo #B19 2D5V6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGAAA CGTCTTCGTC ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:188]

Oligo #B20 2S5M6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGACA TGTCTTCAGA ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:189]

Oligo #B21 2S5V6S0D.REQ 길이: 000042

TCGGTCCATC AGAATAGAAA CGTCTTCAGA ATTGAGGTTG TT [SEQ ID NO:190]

Oligo #B22 100ARG3.REQ 길이: 000048

CTGCCCTCTG CCACGGCCGC ACCCTCTCGA CATCCAATCA TCATCCGT [SEQ ID NO:191]

Oligo #B23 100ARG8.REQ 길이: 000026

AATTCTTGCC AGTCACCTGC ACGGAT [SEQ ID NO:192]

Oligo #B24 101MET4.REQ 길이: 000016

ATGGGTGACT GGCAAG [SEQ ID NO:193]

Oligo #B25 10R01M8.REQ 길이: 000026

AATTCTTGCC AGTCACCCAT ACGGAT [SEQ ID NO:194]

Oligo #B26 23ALA1.REQ 길이: 000040

CATGGCTAAC TGCTCTATTA TGATCGATGA AGCAATACAT [SEQ ID NO:195]

Oligo #B27 23ALA4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATTGCTT CATCGATCAT AATAGAGCAG TTAGC [SEQ ID NO:196]

Oligo #B28 29V2R4S2.REQ 길이: 000036

CACTTAAAGG TACCACCTCG CCCTTCCCTG GACCCG [SEQ ID NO:197]

Oligo #B29 29V2R4S5.REQ 길이: 000036

GAGGTTGTTC GGGTCCAGGG AAGGGCGAGG TGGTAC [SEQ ID NO:198]

Oligo #B30 34SER2.REQ 길이: 000036

CACTTAAAGA GACCACCTGC ACCTTCCCTG GACCCG [SEQ ID NO:199]

Oligo #B31 34SER5.REQ 길이: 000036

GAGGTTGTTC GGGTCCAGGG AAGGTGCAGG TGGTCT [SEQ ID NO:200]

Oligo #B32 42D45M3.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATGACGAAGA CATGGAT [SEQ ID NO:201]

Oligo #B33 42D45M6.REQ 길이: 000018

ATCCATGTCT TCGTCATT [SEQ ID NO:202]

Oligo #B34 42D45V3.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATGACGAAGA CGTCGAT [SEQ ID NO:203]

Oligo #B35 42D45V6.REQ 길이: 000018

ATCGACGTCT TCGTCATT [SEQ ID NO:204]

Oligo #B36 42D5M6S3.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATGACGAAGA CATGTCT [SEQ ID NO:205]

Oligo #B37 42D5M6S6.REQ 길이: 000018

AGACATGTCT TCGTCATT [SEQ ID NO:206]

Oligo #B38 42D5V6S3.REQ 길이: 000027

AACAACCTCA ATGACGAAGA CGTCTCT [SEQ ID NO:207]

Oligo #B39 42D5V6S6.REQ 길이: 000018

AGAGACGTCT TCGTCATT [SEQ ID NO:208]

Oligo #B40 50ASP1.REQ 길이: 000036

ATCCTGATGG ACCGAAACCT TCGACTTCCA AACCTG [SEQ ID NO:209]

Oligo #B41 50ASP4.REQ 길이: 000027

AAGTCGAAGG TTTCGGTCCA TCAGGAT [SEQ ID NO:210]

Oligo #B42 50D56S1.REQ 길이: 000036

ATCCTGATGG ACCGAAACCT TCGACTTAGC AACCTG [SEQ ID NO:211]

Oligo #B43 56SER5.REQ 길이: 000024

CCTTACGAAG CTCTCCAGGT TGCT [SEQ ID NO:212]

Oligo #B44 82TRP2.REQ 길이: 000018

CGTAATCTCT GGCCATGT [SEQ ID NO:213]

Oligo #B45 82TRP6.REQ 길이: 000018

CCAGAGATTA CGAAGAAT [SEQ ID NO:214]

Oligo #B46 9E12Q6W1.REQ 길이: 000032

AATTCCGGGA AAAACTGCAA TTCTATCTGT GG [SEQ ID NO:215]

Oligo #B47 9E12Q6W3.REQ 길이: 000037

CTCAAGGGTC CACAGATAGA ATTGCAGTTT TTCCCGG [SEQ ID NO:216]

Oligo #B48 9E12Q6V1.REQ 길이: 000032

AATTCCGGGA AAAACTGCAA TTCTATCTGG TT [SEQ ID NO:217]

Oligo #B49 9E12Q6V3.REQ 길이: 000037

CTCAAGGGTA ACCAGATAGA ATTGCAGTTT TTCCCGG [SEQ ID NO:218]

Oligo #B50 S09E16V1.REQ 길이: 000023

AATTCCGGGA AAAACTGACG TTC [SEQ ID NO:219]

Oligo #B51 S09E16V3.REQ 길이: 000028

AACCAGATAG AACGTCAGTT TTTCCCGG [SEQ ID NO:220]

Oligo #B52 S116VD31.REQ 길이: 000023

TATCTGGTTA CCCTTGAGTA ATA [SEQ ID NO:221]

Oligo #B53 SECR1D33.REQ 길이: 000018

AGCTTATTAC TTCAAGGGT [SEQ ID NO:222]

Oligo #B54 S9E2Q6V1.REQ 길이: 000023

AATTCCGGGA AAAACTGCAA TTC [SEQ ID NO:223]

Oligo #B55 S9E2Q6V3.REQ 길이: 000028

AACCAGATAG AATTGCAGTT TTTCCCGG [SEQ ID NO:224]

Oligo #B56 Ent338.Lo 길이: 61

CGATCATTAT AGAGCAGTTA GCCTTGTCAT CGTCGTCCTT GTAATCAGTT TCTGGATATG C [SEQ ID NO:225]

Oligo #B57 Ent338.UP 길이: 63

CATGGCATAT CCAGAAACTG ATTACAAGGA CGACGATGAC AAGGCTAACT GCTCTATAAT GAT SEQ ID NO:226]

09L2Q6S1.REQ 길이: 000032

AATTCCGGCT TAAACTGCAA TTCTATCTGT CT [SEQ ID NO:227]

09L2Q6S3.REQ 길이: 000037

CTCAAGGGTA GACAGATAGA ATTGCAGTTT AAGCCGG [SEQ ID NO:228]

117S2.REQ 길이: 000032

TCTCTTGAGC AAGCGCAGGA ACAACAGTAA TA [SEQ ID NO:229]

19I0L3A1.REQ 길이: 000040

CATGGCAAAC TGCTCTATAA TACTCGATGA AGCAATACAT [SEQ ID NO:230]

19I0L3A4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATTGCTT CATCGAGTAT TATAGAGCAG TTTGC [SEQ. ID NO.:231]

20P23A1.REQ 길이: 000040

CATGGCAAAC TGCTCTATAA TGCCAGATGA AGCAATACAT [SEQ. ID NO.:232]

20P23A4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATTGCTT CATCTGGCAT TATAGAGCAG TTTGC [SEQ. ID NO.:233]

23L1.REQ 길이: 000040

CATGGCaAAC TGCTCTATAA TGATCGATGA AactgATACAT [SEQ. ID NO.:234]

23L4.REQ 길이: 000045

CTTTAAGTGA TGTATcagTT CATCGATCAT TATAGAGCAG TTtGC [SEQ. ID NO.:235]

29I4S7S2.REQ 길이: 000036

CACTTAAAGA TACCACCTAA CCCTAGCCTG GACAGT [SEQ. ID NO.:236]

29I4S7S5.REQ 길이: 000036

GAGGTTAGCA CTGTCCAGGC TAGGGTTAGG TGGTAT [SEQ. ID NO.:237]

38A5V6S3.REQ 길이: 000027

GCTAACCTCA ATTCCGAAGA CGTCTCT [SEQ. ID NO.:238]

38A5V6S6.REQ 길이: 000018

AGAGACGTCT TCGGAATT [SEQ. ID NO.:239]

50D51S1.REQ 길이: 000036

ATCCTGATGG ACTCCAACCT TCGAACTCCA AACCTG [SEQ. ID NO.:240]

50D51S4.REQ 길이: 000027

AGTTCGAAGG TTGGAGTCCA TCAGGAT [SEQ. ID NO.:241]

5VYWPTT3.REQ 길이: 000048

GTTCCCTATT GGACGGCCCC TCCCTCTCGA ACACCAATCA CGATCAAG [SEQ. ID NO.:242]

5VYWPTT7.REQ 길이: 000048

CGTGATTGGT GTTCGAGAGG GAGGGGCCGT CCAATAGGGA ACACATGG [SEQ. ID NO.:243]

62P3H5S2.REQ 길이: 000024

CTCGCATTCC CACATGCTTC TAAG [SEQ. ID NO.:244]

62P63H2.REQ 길이: 000024

CTCGCATTCC CACATGCTGT CAAG [SEQ. ID NO.:245]

62P63H5.REQ 길이: 000024

ATGTGGGAAT GCGAGCAGGT TTGG [SEQ. ID NO.:246]

65S67Q6.REQ 길이: 000020

TTTTCTAATT GCTTAGAAGC [SEQ. ID NO.:247]

67Q3.REQ 길이: 000015

CAATTAGAAA ATGCA [SEQ. ID NO.:248]

67Q6.REQ 길이: 00002]

TTTTCTAATT GCTTGACAGC [SEQ. ID NO.:249

76P1.REQ 길이: 000021

TCAGGTATTG AGCCAATTCT T [SEQ. ID NO.:250]

76P5.REQ 길이: 000019

TGGCTCAATA CCTGATGCA [SEQ. ID NO.:251]

79S2.REQ 길이: 000018

TCTAATCTCC AACCATGT [SEQ. ID NO.:252]

79S6.REQ 길이: 000018

TTGGAGATTA GAAAGAAT [SEQ. ID NO.:253]

9L2Q67S3.REQ 길이: 000037

CTCAAGAGAA GACAGATAGA ATTGCAGTTT AAGCCGG [SEQ. ID NO.:254]

9LQS1181.REQ 길이: 000043

AATTCCGGCT TAAACTGCAA TTCTATCTGT CTACCCTTTA ATA [SEQ. ID NO.:256]

9LQS1183.REQ 길이: 000043

AGCTTATTAA AGGGTAGACA GATAGAATTG CAGTTTAAGC CGG [SEQ. ID NO.:257]

S9L2Q6S1.REQ 길이: 000043

AATTCCGGCT TAAACTGCAA TTCTATCTGT CTACCCTTTA ATA [SEQ. ID NO.:258]

표 3

폴리펩티드

펩티드 #1; pMON5988 (실시예 43); (15-125)hIL-3

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:65]
120 125

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:65]

펩티드 #2; pMON13344 (실시예 8); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32A, 37P,
42A 및 45V);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:66]
120 125

펩티드 #3; pMON13345 (실시예 9); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32N, 37P,
42S 및 45M);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:67]
120 125

펩티드 #4; pMON13346 (실시예 10); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A, 37S,
42S 및 45M);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:68]
120 125

펩티드 #5; pMON13347 (실시예 12); (15-125)hIL-3 (51R, 55L, 59L, 62V,
67N 및 69E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:69]
120 125

펩티드 #6; pMON13348 (실시예 13); (15-125)hIL-3 (51R, 55L, 60S, 62V,
67N 및 69E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:70]
120 125

펩티드 #7; pMON13349 (실시예 14); (15-125)hIL-3 (51R, 55T, 59L, 62V,
67H 및 69E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:71]
120 125

펩티드 #8; pMON13350 (실시예 16); (15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82Q, 87S,
93S, 98I, 101A 및 105Q);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:72]
120 125

펩티드 #9; pMON13355 (실시예 17); (15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82V,
87S, 93S, 98T, 101A 및 105Q);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:73]
120 125

펩티드 #10; pMON13352 (실시예 19); (15-125)hIL-3 (109E, 116V, 120Q
및 123E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:74]
120 125

펩티드 #11; pMON13354 (실시예 20); (15-125)hIL-3 (109E, 116V, 117S, 120H
및 123E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:75]
120 125

펩티드 #12; pMON13360 (실시예 21); (15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82Q,
87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ. NO:76]
120 125

i펩티드 #13: pMON13361 (실시예 22); (15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82V,
87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:77]
120 125

펩티드 #14; pMON13362 (실시예 23); (15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82V,
87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E);

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:78]
120 125

펩티드 **#15**; pMON13363 (실시예 24); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32A,
37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N 및 69E);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:79]
120 125

펩티드 **#16**; pMON13364 (실시예 25); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32N,
37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H 및 69E);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:80]
120 125

펩티드 #17; pMON13365 (실시예 26); (15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A,
37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N 및 69E);

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:81]
120 125

펩티드 #18; pMON13298 (실시예 27); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:82]
120 125

펩티드 #19; pMON13299 (**실시예** 28); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:83]
120 125

펩티드 #20; pMON13300 (**실시예** 29); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
30 35 40

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:84]
120 125

펩티드 **#21**; pMON13301 (실시예 30); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N 및 69E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:85]
120 125

펩티드 **#22**; pMON13302 (실시예 31); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H 및 69E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:86]
120 125

펩티드 #23; pMON13303 (실시예 32); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N 및 69E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:87]
120 125

펩티드 #24; pMON13287 (실시예 33); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:88]
120 125

펩티드 #25; pMON13288 (실시예 34); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:89]
        120                 125
```

펩티드 #26; pMON13289 (실시예 35); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:90]
        120                 125
```

펩티드 #27; pMON13290 (실시예 36); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I,

25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:91]
120 125

펩티드 #28; pMON13292 (**실시예** 37); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:92]
120 125

펩티드 #29; pMON13294 (**실시예** 38); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I,

25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:93]
120 125

펩티드 #30; pMON13295 (**실시예** 39); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:94]
120 125

펩티드 #31; pMON13312 (**실시예** 40); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및

123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:95]
120 125

펩티드 #32; pMON13313 (실시예 41); Met-Ala-(15-125)hIL-3 (18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E);

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
105 110 115

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:96]
120 125

펩티드 #A3; pMON13285 Met-Ala-(15-125)hIL-3; (42D, 45M, 46S, 50D);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn **Asp**
30 35 40

Glu Asp **Met Ser** Ile Leu Met **Asp** Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:259]
120 125

펩티드 **#A4**; pMON13286 Met-Ala-(15-125)hIL-3; (42D, 45M, 46S);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn **Asp**
30 35 40

Glu Asp **Met Ser** Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:260]
120 125

펩티드 **#A5**; pMON13325 Met-Ala-(15-125)hIL-3; (42D, 45M, 46S, 116W);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn **Asp**
30 35 40

Glu Asp **Met Ser** Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

```
        45                  50                  55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Trp Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln  [SEQ ID NO:261]
        120                 125
```

펩티드 **#A6**; pMON13326 Met-Ala-(15-125)hIL-3; (42D, 45M, 46S, 50D, 116W);

```
Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
        15                  20                  25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Trp Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln  [SEQ ID NO:262]
        120                 125
```

펩티드 **#A7**; pMON13330 Met-Ala-IL-3; (42D, 45M, 46S, 50D, 95R, 98I, 100R, 116W);

```
Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
        15                  20                  25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
        60                  65                  70
```

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg **Arg** Pro Ile **Ile** Ile **Arg** Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu **Trp** Thr
105 110 115

Leu Glu **Asn** Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:263]
120 125

펩티드 #A8; pMON13329 Met-Ala-(15-125)hIL-3; (42D, 45M, 46S, 98I, 100R, 116W);

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
15 20 25

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn **Asp**
30 35 40

Glu Asp **Met Ser** Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
60 65 70

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile **Ile** Ile **Arg** Asp Gly
90 95 100

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu **Trp** Thr
105 110 115

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:406]
120 125

펩티드 #B1 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13406

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ala Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 264]
120 125

펩티드 # B2 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13414

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 265]
120 125

펩티드 #B3 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13407

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 266]
120 125

펩티드 #B4 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13405

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Ala Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
       15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
       30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
       45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
       60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
       75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
       90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
       105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 267]
       120                 125
```

펩티드 #B5 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13415

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
       15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
       30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
       45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
       60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
       75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
       90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
       105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 268]
       120                 125
```

펩티드 #B6 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13408

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
       15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
```

30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Ile Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 269]
120 125

펩티드 #B7 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13409

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Leu Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 270]
120 125

펩티드 #B8 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13410

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Asp Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 271]
120 125

펩티드 #B9 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13422

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ala Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Ile Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 272]
120 125

펩티드 #B10 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13423

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Ile Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

```
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 273]
        120                 125
```

펩티드 #B11 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13424

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Ala Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Leu Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 274]
        120                 125
```

펩티드 #B12 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13425

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Leu Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 275]
        120                 125
```

펩티드 #B13 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13426

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ala Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Asp Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 276]
120 125

펩티드 #B14 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13429

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Asp Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 277]
120 125

펩티드 #B15 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13368

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

```
Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO: 278]
        120                 125
```

펩티드 #B16 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13380

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO. 279]
        120                 125
```

펩티드 #B17 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13475

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55
```

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 280]
120 125

펩티드 #B18 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13366

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asn
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 281]
120 125

펩티드 #B19 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13367

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 282]
120 125

펩티드 #B20 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13369

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 283]
120 125

펩티드 #B21 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13370

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 284]
120 125

펩티드 #B22 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13378

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 285]
        120                 125
```

펩티드 #B23 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13374

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 286]
        120                 125
```

펩티드 #B24 Met-Ala-(15-119)hIL-3 pMON13375

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25
```

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu [SEQ ID NO.: 287]
119

펩티드 #B25 Met-Asp-(15-119)hIL-3 pMON13376

Met Asp Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu [SEQ ID NO.: 288]
119

펩티드 #B26 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13377

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 289]
120 125

펩티드 #B27 Met-Asp-(15-119)hIL-3 pMON13378

Met Asp Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu [SEQ ID NO.: 290]
119

펩티드 #B28 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13379

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

```
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 291]
        120                 125
```

펩티드 #B29 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13385

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Val Pro Pro Arg Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 292]
        120                 125
```

펩티드 #B30 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13381

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Trp Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 293]
        120                 125
```

펩티드 #B31 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13383

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115


Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 294]
        120                 125
```

펩티드 #B32 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13384

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 295]
        120                 125
```

펩티드 #B33 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13388

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25
```

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Ser Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 296]
120 125

펩티드 #B34 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13389

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 297]
120 125

펩티드 #B35 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13391

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 298]
120 125

펩티드 #B36 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13392

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 299]
120 125

펩티드 #B37 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13393

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 300]
120 125

펩티드 #B38 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13394

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 301]
120 125

펩티드 #B39 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13395

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Arg Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 302]
120 125

펩티드 #B40 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13396

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Arg Met Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 303]
        120                 125
```

펩티드 #B41 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13397

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Trp Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Arg Met Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 304]
        120                 125
```

펩티드 #B42 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13398

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
```

30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 305]
120 125

펩티드 #B43 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13399

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Val Pro Pro Arg Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 306]
120 125

펩티드 #B44 Met-Ala-(15-119)hIL-3 pMON13404

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
30 35 40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

```
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu [SEQ ID NO.: 307]
    119
```

펩티드 #B45 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13387

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 308]
        120                 125
```

펩티드 #B46 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13416

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100
```

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 309]
120 125

펩티드 #B47 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13417

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 310]
120 125

펩티드 #B48 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13420

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Ser Asn
45 50 55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 311]
120 125

펩티드 #B49 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13421

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Ser Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.:331]
        120                 125
```

펩티드 #B50 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13432

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp
        30                  35                  40

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 312]
        120                 125
```

펩티드 #B51 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13382

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40
```

```
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Trp Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 313]
        120                 125
```

펩티드 #B52 Met-Asp-(15-125)hIL-3 pMON13476

```
Met Asp Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
        30                  35                  40

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
        75                  80                  85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 314]
        120                 125
```

펩티드 #B53 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13446

```
Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asn
-14            -10                 -5                  15

Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu Lys Arg Pro
                20                  25                  30

Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala Glu Asp Val
                35                  40                  45

Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn Leu Glu Ser
```

```
                50                  55                  60

Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser Gly Ile Glu
                65                  70                  75

Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser Ala Thr Ala
                80                  85                  90

Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly Asp Trp Gln
                95                  100                 105

Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr Leu Glu Gln
                110                 115                 120

Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 315]
                125
```

펩티드 #B54 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13390

```
Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asn
-14             -10                 -5                  15

Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu Lys Arg Pro
                20                  25                  30

Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser Glu Asp Met
                35                  40                  45

Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn Leu Leu Ala
                50                  55                  60

Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser Gly Ile Glu
                65                  70                  75

Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser Ala Thr Ala
                80                  85                  90

Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly Asp Trp Gln
                95                  100                 105

Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr Leu Glu Gln
                110                 115                 120

Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 316]
                125
```

펩티드 #C-2 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13400

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Pro Asp Glu Ala Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70
```

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 317]
120 125

펩티드 #C-3 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13402

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Leu Ile His His Leu
15 20 25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 318]
120 125

펩티드 #C-10 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13440

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg Thr Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 319]
120 125

펩티드 #C-11 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13451

Met Ala Asn Cys Ser Ile Ile Leu Asp Glu Ala Ile His His Leu
15 20 25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg Thr Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 320]
120 125

펩티드 #C-4 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13403

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Asp Ser Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Pro His Ala Ser Lys Gln Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 321]
120 125

펩티드 #C-5 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13411

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 322]
120 125

펩티드 #C-6 Met-Ala-(15-118)hIL-3 pMON13412

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Thr Leu
105 110 115 118

[SEQ ID NO.: 323]

펩티드 #C-7 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13413

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Ser
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 324]
120 125

펩티드 #C-8 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13419

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Asp Ser Asn Leu Leu Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Pro His Ala Ser Lys Gln Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Ser
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 325]
120 125

펩티드 #C-1 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13418

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Ser Asn Leu Gln Pro Cys Val Pro Tyr
75 80 85

Trp Thr Ala Pro Pro Ser Arg Thr Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 326]
120 125

펩티드 #C-9 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13428

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
15 20 25

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Ser Asn Leu Gln Pro Cys Val Pro Tyr
75 80 85

Trp Thr Ala Pro Pro Ser Arg Thr Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 327]
120 125

펩티드 #C-12 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13459

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Leu Ile His His Leu
15 20 25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Ser Asn Leu Gln Pro Cys Val Pro Tyr
75 80 85

Trp Thr Ala Pro Pro Ser Arg Thr Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Thr
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 328]
120 125

펩티드 #C-13 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13467

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Leu Ile His His Leu
15 20 25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
30 35 40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
45 50 55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
60 65 70

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
75 80 85

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
90 95 100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Leu Lys Leu Gln Phe Tyr Leu Ser Ser
105 110 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 329]
120 125

펩티드 #C-14 Met-Ala-(15-125)hIL-3 pMON13492

```
Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Leu Ile His His Leu
        15                  20                  25

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn Ser
        30                  35                  40

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
        45                  50                  55

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
        60                  65                  70

Gly Ile Glu Pro Ile Leu Ser Asn Leu Gln Pro Cys Val Pro Tyr
        75                  80                  85

Trp Thr Ala Pro Pro Ser Arg Thr Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
        90                  95                  100

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
        105                 110                 115

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 330]
        120                 125
```

표 4

DNA 서열

pMON13287

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #1

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:97]

pMON13290

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #2

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:98]

pMON13313

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:99]

pMON13288

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #4

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:100]

pMON13312

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #5

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:101]

pMON13294

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #6

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:102]

pMONM13289

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #7

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:103]

pMON13292

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #8

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:104]

pMON13295

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #9

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:105]

pMON13344

(15-125)IL-3

DNA 서열 #10

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:106]

pMON13345

(15-125)IL-3

DNA 서열 #11

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:107]

pMON13346

(15-125)IL-3

DNA 서열 #12

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:108]

pMON13347

(15-125)IL-3

DNA 서열 #13

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:109]

pMON13348

(15-125)IL-3

DNA 서열 #14

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGGAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:110]

pMON13349

(15-125)IL-3

DNA 서열 #15

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:111]

pMON13350

(15-125)IL-3

DNA 서열 #16

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:112]

pMON13355

(15-125)IL-3

DNA 서열 #17

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:113]

pMON13352

(15-125)IL-3

DNA 서열 #18

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:114]

pMON13354

(15-125)IL-3

DNA 서열 #19

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:115]

pMON13363

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #20

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:116]

pMON13364

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #21

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:117]

pMON13365

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #22

AACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:118]

pMON13360

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #23

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:119]

pMON13361

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #24

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:120]

pMON13362

(15-125)IL-3 분비

DNA 서열 #25

AACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:121]

pMON13301

(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #26

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:122]

pMON13302

(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #27

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:123]

pMON13303

(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #28

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG

CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTT

AAAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAG

GACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCAG

GCTCAACAG [SEQ ID NO:124]

pMON13298

(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #29

ATGGCTAACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:125]

pMON13299

(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #30

ATGGCTAACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:126]

pMON13300

Met-Ala-(15-125)IL-3 세포내

DNA 서열 #31

ATGGCTAACTGCTCTAACATGATCGATGAAATCATCACCCACCTGAAGCAGCCACCGCTGCCGCTG

CTGGACTTCAACAACCTCAATGGTGAAGACCAAGATATCCTGATGGAAAATAACCTTCGTCGTCCA

AACCTCGAGGCATTCAACCGTGCTGTCAAGTCTCTGCAGAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCGTACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCACCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTTCCCTTGAGCACGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:127]

DNA 서열 #32

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAACGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO: 160]

DNA 서열 #33

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACATGGACATTTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAACGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO: 161]

DNA 서열 #B1 pMON13406 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAGCTATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 332]

DNA 서열 #B2 pMON13414 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAATCATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 333]

DNA 서열 #B3 pMON13407 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 334]

DNA 서열 #B4 pMON13405 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAGCTATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 335]

DNA 서열 #B5 pMON13415 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAATGATCCATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 336]

DNA 서열 #B6 pMON13408 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATCGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 337]

DNA 서열 #B7 pMON13409 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGCTGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 338]

DNA 서열 #B8 pMON13410 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGGACGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 339]

DNA 서열 #B9 pMON13422 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAGCTATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGATCGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 340]

DNA 서열 #B10 pMON13423 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAATCATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGATCGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 341]

DNA 서열 #B11 pMON13424 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAGCTATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGCTGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 342]

DNA 서열 #B12 pMON13425 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAATCATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGCTGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 343]

DNA 서열 #B13 pMON13426 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAGCTATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTGATATCCTGGACGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 344]

DNA 서열 #B14 pMON13429 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCAAACTGCTCTATAATCATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCTGAAGACGTTATATCCTGGACGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 345]

DNA 서열 #B15 pMONM13368 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATTATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG
CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 346]

DNA 서열 #B16 pMONM13380 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGGTTCCACCTGCACCTTTG
CTGGACAGTAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO.: 347]

DNA 서열 #B17 pMON13475 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTTTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO.: 348]

DNA 서열 #B18 pMON13366 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATAACGAAGACGTTTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO.: 349]

DNA 서열 #B19 pMON13367 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTTTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO.:350]

DNA 서열 #B20 pMON13369 Met-Ala-(15-125)IL-3 42D, 46S, 50D

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTTTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.:351]

DNA 서열 #B21 pMON13370 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACATGTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 352]

DNA 서열 #B22 pMON13373 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 353]

DNA 서열 #B23 pMON13374 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 354]

DNA 서열 #B24 pMON13375 Met-Ala-(15-119)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAG [SEQ ID NO.: 355]

DNA 서열 #B25 pMON13376 Met-Asp-(15-119)IL-3

ATGGATAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAG [SEQ ID NO.: 356]

DNA 서열 #B26 pMON13377 Met-Ala-(15-119)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAG [SEQ ID NO.: 357]

DNA 서열 #B27 pMON13378 Met-Asp-(15-119)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAG [SEQ ID NO.: 358]

DNA 서열 #B28 pMON13379 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTTTCTATCCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA

AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO.: 359]

DNA 서열 #B29 pMON13385 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGGTACCACCTCGCCCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 360]

DNA 서열 #B30 pMON13381 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCTGGCCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 361]

DNA 서열 #B31 pMON13383 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTTTCTATTCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 362]

DNA DNA 서열 #B32 pMON13384 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 363]

DNA 서열 #B33 pMON13388 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTAGC
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 364]

DNA 서열 #B34 pMON13389 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 365]

DNA 서열 #B35 pMON13391 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 366]

DNA 서열 #B36 pMON13392 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 367]

DNA 서열 #B37 pMON13393 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 368]

DNA 서열 #B38 pMON13394 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 369]

DNA 서열 #B39 pMON13395 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGGTACCACCTCGCCCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 370]

DNA 서열 #B40 pMON13396 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCCGT
ATGGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 371]

DNA 서열 #B41 pMON13397 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCTGGCCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCCGT
ATGGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 372]

DNA 서열 #B42 pMON13398 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 373]

DNA 서열 #B43 pMON13399 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGGTACCACCTCGCCCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 374]

DNA 서열 #B44 pMON13404 Met-Ala-(15-119)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGGTTACCCTTGAG [SEQ ID NO.: 375]

DNA 서열 #B45 pMON13387 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 376]

DNA 서열 #B46 pMON13416 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCGATTCTCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 377]

DNA 서열 #B47 pMON13287 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCATGTCTCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 378]

DNA 서열 #B48 pMON13420 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGACCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACGTCTCTATCCTGATGGACCGAAACCTTCACTTAGC
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 379]

DNA 서열 #B49 pMON13421 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGTCTATCCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTAGC
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 380]

DNA 서열 #B50 pMON13432 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTCC
CTGGACCCGAACAACCTCAATGACGAAGACATGTCTATCCTGATGGACCGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 381]

DNA 서열 #B51 pMON13382 Met-Ala-(15-125)IL-3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGCAATTCTATCTGTGGACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 382]

DNA 서열 #B52 pMON13476 Met-Asp-(15-125)IL-3

ATGGATAACTGCTCTATTATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAAGACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCA
AACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTCAAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO.: 383]

pMON13400

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C2

ATGGCTAACTGCTCTATAATGCCAGATGAAGCAATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC
CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:384]

pMON13402

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C3

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC
CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:385]

pMON13440

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C10

ATGGCTAACTGCTCTATTATGATCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC
CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT
CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:386]

pMON13451

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C11

ATGGCTAACTGCTCTATAATACTCGATGAAGCAATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC

CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:387]

pMON13403

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C4

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGACTCCAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCCCACATGCTGTCAAGCAATTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:388]

pMON13419

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C8

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGACTCCAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCCCACATGCTTCTAAGCAATTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:389]

pMON13411

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C5

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:390]

pMON13412

Met-Ala-(15-118)IL-3

DNA 서열 #C6

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTACCCTTTAATA
[SEQ ID NO:391]

pMON13413

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C7

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG

CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTTCTCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:392]

pMON13418

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C1

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGCCAATTCTT
TCTAATCTCCAACCATGTGTTCCCTATTGGACGGCCCCTCCCTCTCGAACACCAATCACGATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:393]

pMON13428

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C9

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTG
CTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAAGACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGCCAATTCTT
TCTAATCTCCAACCATGTGTTCCCTATTGGACGGCCCCTCCCTCTCGAACACCAATCACGATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:394]

pMON13459

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C12

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC
CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA
AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGCCAATTCTT
TCTAATCTCCAACCATGTGTTCCCTATTGGACGGCCCCTCCCTCTCGAACACCAATCACGATCAAG
GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTACCCTTGAGCAAGCGCAG
GAACAACAG [SEQ ID NO:395]

pMON13467

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C13

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC

CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTT

CGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCTGCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGCTTAAACTGCAATTCTATCTGTCTTCTCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:396]

pMON13492

Met-Ala-(15-125)IL-3

DNA 서열 #C14

ATGGCTAACTGCTCTATAATGATCGATGAAATTATACATCACTTAAAGATACCACCTAACCCTAGC

CTGGACAGTGCTAACCTCAATTCCGAAGACGTCTCTATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCA

AACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTCAAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGCCAATTCTT

TCTAATCTCCAACCATGTGTTCCCTATTGGACGGCCCCTCCCTCTCGAACACCAATCACGATCAAG

GCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAAAAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAG

GAACAACAG [SEQ ID NO:397]

pMON13446

Met-Ala-Tyr-Pro-Glu-Thr-Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys-Ala (15-125)IL-3

DNA 서열 #B53

ATGGCATATCCAGAAACTGATTACAAGGACGACGATGACAAGGCTAACTGCTCTATAATGATCGAT

GAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTGCACCTTTGCTGGACCCGAACAACCTCAATGCTGAA

GACGTCGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGACTTCCAAACCTGGAGAGCTTCGTAAGGGCTGTC

AAGAACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTTCGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCT

GCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAGGCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAA

AAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAGGAACAACAG [SEQ ID NO:404]

pMON13390

Met-Ala-Tyr-Pro-Glu-Thr-Asp-Tyr-Lys-Asp-Asp-Asp-Asp-Lys-Ala (15-125)IL-3

DNA 서열 #B54

ATGGCATATCCAGAAACTGATTACAAGGACGACGATGACAAGGCTAACTGCTCTATAATGATCGAT

GAAATTATACATCACTTAAAGAGACCACCTAACCCTTTGCTGGACCCGAACAACCTCAATTCCGAA

GACATGGATATCCTGATGGAACGAAACCTTCGAACTCCAAACCTGCTCGCATTCGTAAGGGCTGTC

AAGCACTTAGAAAATGCATCAGGTATTGAGGCAATTCTTCGTAATCTCCAACCATGTCTGCCCTCT

GCCACGGCCGCACCCTCTCGACATCCAATCATCATCAAGGCAGGTGACTGGCAAGAATTCCGGGAA

AAACTGACGTTCTATCTGGTTACCCTTGAGCAAGCGCAGGAACAACAG [SEQ ID NO:405]

4이상의 아미노산 치환을 함유하는 (1-133)hIL-3 로 이루어지는 [SEQ IN NO. 129]에 해당하는 폴리펩티드는 적당한 올리고 뉴클레오티드로 시작해서 폴리펩티드를 코드화하는 DNA를 제조하고 그것을 적당한 숙주세포에서 발현시킴으로써 상술한 방법 및 하기의 실시예의 방법을 이용하여 제조할 수 있다. 유사한 방식으로 [SEQ ID NO.130]에 해당하고 4이상의 아미노산 치환을 포함하는 폴리펩티드로서 1내지 14 아미노산이 N-말단으로부터 연속적으로 결실되고, 또는 1내지 15 아미노산이 C-말단으로부터 결실되거나 또는 N-말단 및 C-말단으로부터 아미노산의 결실이 행해진 폴리펩티드는 적당한 출발물질로 시작하여 상술한 방법과 하기 실시예의 방법에 따라 제조할 수 있다.

당업자들에게 알려진 추가 세부사항은 T. Maniatis, et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1982)에서 발견될 수 있고 여기서 인용된 참고문헌은 여기서 참고문헌으로 통합되었고, J. Sambrook, et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory (1989)에서 발견될 수 있고 여기서 인용된 참고문헌은 여기서 참고문헌으로 통합되었다.

하기의 실시예는 본 발명을 더 세부적으로 기술할 것이지만 본 발명이 특이적인 실시예에 제한되지 않는다는 것이 이해될 것이다.

아미노산은 여기서 하기와 같이 표준 1문자 또는 3문자 약자에 의해 표시된다.

	약자표시	아미노산
A	Ala	알라닌
C	Cys	시스테인
D	Asp	아스파르트산
E	Glu	글루탐산
F	Phe	페닐알라닌
	약자표시	아미노산
G	Gly	글리신
H	His	히스티딘
I	Ile	이소류신
K	Lys	리신
L	Leu	류신
M	Met	메티오닌
N	Asn	아스파라긴
P	Pro	프롤린
Q	Gln	글루타민
R	Arg	아르기닌
S	Ser	세린
T	Thr	트레오닌
V	Val	발린
W	Trp	트립토판
Y	Tyr	티로신

본 발명의 정신 및 영역으로부터 벗어나지 않고 본 개시내용을 읽은 후 당업자들에게는 다양한 다른 실시예들도 명배해질 것이다.

모든 그러한 다른 실시예들도 첨부된 청구범위내에 포함되도록 의도된다.

참고문헌

Adams, S.P., Kavka, K.S., Wykes, E.J., Holder, S.B. and Galluppi, G.R. Hindered Dialkyamino Nucleoside Phosphate reagents in the synthesis of two DNA 51-mers. J. Am. Chem. Soc., 105, 661-663 (1983).

Atkinson, T. and Smith, M., in Gait, M.J., Oligonucleotide Sythesis (1984) (IRL Press, Oxford England).

Bachmann, B., Pedigrees of some mutant strains of Escherichia coli K-12, Bacteriological Reviews, 36:525-557 (1972).

Bayne, M. L., Expression of a synthetic gene encoding human insulin-like growth factor I in cultured mouse fibroblasts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 2638-2642 (1987).

Ben-Bassat, A., K. Bauer, S-Y. Chang, K. Myambo, A. Boosman and S. Ching. Processing of the initiating methionine from proteins: properties of the Escherichia coli methionine aminopeptidase and its gene structure. J. Bacteriol., 169: 751-757 (1987).

Biesma, B. et al., Effects of interleukin-3 after chemotherapy for advanced ovarian cancer. Blood, 80:1141-1148 (1992).

Birnboim, H. C. and J. Doly. A rapid alkaline extraction method for screening recombinant plasmid DNA. Nucleic Acids Research, 7(6): 1513-1523 (1979).

Bradford, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing

the principle of protein-dye binding, Analytical Biochemistry, 72: 248-254 (1976).

Clark-Lewis, I., L. E. Hood and S. B. H. Kent. Role of disulfide bridges in determining the biological activity of interleukin 3, Proc. Natl. Acad. Sci., 85: 7897-7901 (1988).

Clement, J. M. and Hofnung, M. Gene sequence of the receptor, an outer membrane protein of E. coli K12. Cell, 27: 507-514 (1981).

Covarrubias, L., L. Cervantes, A. Covarrubias, X. Soberon, I. Vichido, A. Blanco, Y. M. Kupersztoch-Portnoy and F. Bolivar. Construction and characterization of new cloning vehicles. V. Mobilization and coding properties of pBR322 and several deletion derivates including pBR327 and pBR328. Gene 13: 25-35 (1981).

Deng, W.P. & Nickoloff, J.A. Site-directed mutagenesis of virtually any plasmid by eliminating a unique site Anal. Biochem. 200:81 (1992).

Dente, L., G. Cesareni and R. Cortese, pEMBL: a new family of single stranded plasmids, Nucleic Acids Research, 11: 1645-1655 (1983).

Dunn, J.J. and Studier, F.W., Complete nucleotide sequence of bacteriophage T7 DNA and the locations of T7 genetic elements. J. Mol. Biol. 166:477-535 (1983).

Falk, S., G. Seipelt, A. Ganser, O. G. Ottmann, D. Hoelzer, H. J. Stutte and K. Hubner. Hematopathology 95: 355 (1991).

Fling, M. E., et al. Nucleotide sequence of the

transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3"(9)-O-nucleotidyltransferase. Nucl. Acids Res. 13:7095-7106 (1985).

Ganser, A., A. Lindemann, G. Seipelt, O. G. Ottmann, F. Herrmann, M. Eder, J. Frisch, G. Schulz, R. Mertelsmann and D. Hoelzer. Effects of Recombinant Human Interleukin-3 in Patients With Normal Hematopoiesis and in Patients with Bone Marrow Failure, Blood 76: 666 (1990).

Gething and Sambrook, Cell-surface expression of influenza haemagglutinin from a cloned DNA copy of the RNA gene, Nature, 293: 620-625 (1981).

Gillio, A. P., C. Gasparetto, J. Laver, M. Abboud, M. A. Bonilla, M. B. Garnick and R. J. O'Reilly. J. Clin. Invest. 85: 1560 (1990).

Gouy, M. and G. Gautier, Codon usage in bacteria: Correlation with gene expressivity, Nucleic Acids Research, 10: 7055-7074 (1982).

Greenfield, L., T. Boone, and G. Wilcox. DNA sequence of the araBAD promoter in Escherichia coli B/r. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 4724-4728 (1978).

Higuchi, R, (1989) in *PCR Technology*, H.A. Erlich ed., Stockton Press, N.Y. chapter 2-6.

Hunkapiller, M. W., R. W. Hewick, R. J. Dreyer and L. E. Hood. High sensitivity sequencing with a gas-phase sequenator. Methods in Enzymology 153: 399-413 (1983).

Kaufman, et al., Coamplification and Coexpression of Human Tissue-Type Plasminogen Activator and Murine Dihydrofolate Reductase Sequences in Chinese Hamster

Ovary Cells, Mol. Cell. Biol., 5(7): 1750-1759 (1985).

Kaufman, R. J. High level production of proteins in mammalian cells, in Genetic Engineering, Principles and Methods, Vol. 9, J. K. Setlow, editor, Plenum Press, New York (1987).

Kunkel, T. A. Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 488-492 (1985).

Laemmli, U. K., Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4, Nature, 227:680-685 (1970).

Lange, B., M. Valtieri, D. Santoli, D. Caracciolo, F. Mavilio, I. Gemperlein, C. Griffin, B. Emanuel, J. Finan, P. Nowell, and G. Rovera. Growth factor requirements of childhood acute leukemia: establishment of GM-CSF-defendent cell lines. Blood 70:192 (1987).

Mahler, H. R. and E. H. Cordes, in Biological Chemistry, p. 128, New York, Harper and Row (1966).

Maniatis, T., E. F. Fritsch and J. Sambrook, Molecular Cloning, A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor Laboratory (1982).

Marinus, M. G. Location of DNA methylation genes on the Escherichia coli K-12 genetic map. Molec. Gen. Genet. 127: 47-55 (1973).

McBride, L.J. and Caruthers, M.H. An investigation of several deoxynucleoside phosphoramidites. Tetrahedron Lett., 24, 245-248 (1983).

Messing, J., A multipurpose cloning system based on the

single-stranded DNA bacteriophage M13. Recombinant DNA Technical Bulletin, NIH Publication No. 79-99, Vol. 2, No. 2, pp. 43-48 (1979).

Neu, H. C. and L. A. Heppel. The release of enzymes from Escherichia coli by osmotic shock and during the formation of spheroplasts. J. Biol. Chem., 240: 3685-3692 (1965).

Obukowicz, M.G., Staten, N.R. and Krivi, G.G., Enhanced Heterologous Gene Expression in Novel rpoH Mutants of Escherichia coli. Applied and Environmental Microbiology 58, No. 5, p. 1511-1523 (1992).

Olins, P. O., C. S. Devine, S. H. Rangwala and K. S. Kavka, The T7 phage gene 10 leader RNA, a ribosome-binding site that dramatically enhances the expression of foreign genes in Escherichia coli, Gene, 73:227-235 (1988).

Olins, P. O. and S. H. Rangwala, Vector for enhanced translation of foreign genes in Escherichia coli, Methods in Enzymology, 185: 115-119 (1990).

Postmus, et al., Effects of recombinant human interleukin-3 in patients with relapsed small-cell lung cancer treated with chemotherapy: a dose-finding study. J. Clin. Oncol., 10:1131-1140 (1992).

Prober, J. M., G. L. Trainor, R. J. Dam, F. W. Hobbs, C. W. Robertson, R. J. Zagursky, A. J. Cocuzza, M. A. Jensen and K. Baumeister. A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides. Science 238: 336-341 (1987).

Renart J., J. Reiser and G. R. Stark, Transfer of proteins from gels to diazobenzyloxymethyl-paper and

detection with anti-sera: a method for studying antibody specificity and antigen structure, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76:3116-3120 (1979).

Saiki, R.K., Schorf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A. and Arnheim, N., Enzymatic Amplification of ß-Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anemia, Science, 230: 1350-1354 (1985).

Sambrook, J., et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory (1989).

Sancar, A., C. Stachelek, W. Konigsberg and W. D. Rupp, Sequences of the recA gene and protein, Proc. Natl. Acad. Sci., 77: 2611-2615 (1980).

Sanger, F., S. Nicklen and A. R. Coulson. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 74: 5463-5467 (1977).

Santoli, D., Y. Yang, S. C. Clark, B. L. Kreider, D. Caracciolo, and G. Rovera. Synergistic and antagonistic effects of recombinant human interleukin (IL-3), IL-1 , granulocyte and macrophage colony-stimulating factors (G-CSF and M-CSF) on the growth of GM-CSF-dependent leukemic cell lines. J. Immunol. 139:348 (1987).

Smith, M. In vitro mutagenesis. Ann. Rev. Genet., 19:423-462 (1985).

Soberon, X., L. Covarrubias and F. Bolivar, Construction and characterization of new cloning vehicles. IV. Deletion derivatives of pBR322 and pBR325, Gene, 9: 211-223 (1980).

Stader, J. A. and T. J. Silhavy. Engineering Escherichia coli to secrete heterologous gene products, Methods in Enzymology, 185: 166-87 (1990).

Summers, M. D. and G. E. Smith. A manual of methods for Baculovirus vectors and insect cell culture procedures. Texas Agricultural Experiment Station Bulletin No. 1555 (1987).

Taylor, J.W., Ott, J. and Eckstein, F.. The rapid generation of oligonucleotide-directed mutants at high frequency using phosphorothioate modified DNA. Nucl. Acids Res., 13:8764-8785 (1985).

Treco, D.A., (1989) in *Current protocols in Molecular Biology*, Seidman et al., eds. J Wiley N.Y., unit 2.1.

Valtieri, M., D. Santoli, D. Caracciolo, B. L. Kreider, S. W. Altmann, D. J. Tweardy, I. Gemperlein, F. Mavilio, B. J. Lange and G. Rovera. Establishment and characterization of an undifferentiated human T leukemia cell line which requires granulocyte-macrophage colony stimulating factor for growth. J. Immunol. 138:4042 (1987).

Voet, D., W. B. Gatzer, R. A. Cox, P. Doty. Absorption spectra of the common bases. Biopolymers 1: 193 (1963).

Wells, J.A., Vasser, M., and Powers, D.B. Cassette mutagenesis: an effective method for generation of multiple mutants at defined sites. Gene, 34:315-323 (1985).

Wong, Y. Y., R. Seetharam, C. Kotts, R. A. Heeren, B. K. Klein, S. B. Braford, K. J. Mathis, B. F. Bishop, N. R. Siegel, C. E. Smith and W. C. Tacon. Expression of secreted IGF-1 in Escherichia coli. Gene, 68: 193-203 (1988).

Yanisch-Perron, C., J. Viera and J. Messing. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. Gene 33: 103-119 (1985).

Zoller, M.J. and Smith, M. Oligonucleotide-directed mutagenesis using M13-derived vectors: an efficient and general procedure for the production of point mutations in any fragment of DNA. Nucleic Acid Research, 10: 6487-6500 (1982).

Zoller, M.J. and Smith, M. Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors. Methods in Enzymology, 100:468-500 (1983).

Zoller, M.J. and Smith, M. Oligonucleotide-directed Mutagenesis: A simple method using two oligonucleotide primers and a single-stranded DNA template. DNA, 3: 479 (1984).

실시예1

[Met-(1-133) hIL-3 (Arg 129)] 을 코드화하는 pMON5846 (제4도) 의 제조

HindIII 단편에 EcoRI의 pUC 18 로 클로닝시킨 hIL-3의 cDNA을 위한 유전자를 함유하는 플라스미드는 British Biotechnology Ltd. (캠브리지, 영국) 에서 얻었다. 이 플라스미드를 pP0518 로 명명하였다. 정제한 플라스미드 DNA를 제한 엔도뉴클레아제 NheI 및 BamHI으로 절단시켰다. 약 0.5 마이크로그람의 절단된 플라스미드 DNA를 하기의 서열을 갖는 1.0피코몰의 어닐링된 올리고뉴클레오티드 한쌍에 결합시켰다.

5'-CTAGCGATCTTTTAATAAGCTTG-3' [SEQ ID NO: 1]
3'-GCTAGAAAATTATTCGAACCTAG-5' [SEQ ID NO: 2]

결합 혼합물은 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다. 콜로니를 골라내서 플라스미드 DNA를 정제하고 제한효소 분석하였다. C 말단을 코드화하는 유전자의 부분을 상기 올리고뉴클레오티드 서열이 치환한 분리물이 확인되었다. 신규의 서열에는 효소 Hind III에 대한 인식부위, 신규의 종결코돈, TAA가 있었다. 신규의 플라스미드를 pMON5846 으로 명명하였다.

실시예2

(a) 발현벡터 플라스미드 pMON2341 의 제조

E. coli 에서 hIL-3및 hIL-3 뮤테인을 생산하는데 사용된 많은 수의 플라스미드 제조를 위해 사용된 특정한 레플리콘 및 발현 요소를 공급하는데 플라스미드 pMON2341 을 사용하였다. 이들 발현 요소는 재료 및 방법섹션에서 기술되었다.

pMON2341은 pMON5515 (Olins 등., 1988)과 pMON2429로부터 유도된다.

pMON2429는 BamHI 부위에 삽입된 pBR328 (Covarrubias 등., 1981)로부터의 클로람페니콜 아세틸 트란스페라제 (cat) 유전자를 수반한 Bcℓ I 단편과 파지 mp18(Yanisch-Perron 등., 1985) 로 이루어진다. pMON2429 중의 cat 유전자는 부위 특이적 돌연변이유발(Kunkel, 1985)에 의하여 pBR328 중의 것으로부터 변형되었다.

천연 유전자중에 존재하는 NcoI 및 EcoRI에 대한 인식부위는 이들 두가지 제한효소가 더 이상 이 부위들을 인식하지 않도록 변형시켰다. 이 변화는 유전자에 의해 특정화된 단백질을 변화시키지 않았다. 또한 NcoI부위는 개시 메티오닌에 대한 코돈에 중복되도록 코딩 서열의 N- 말단에 도입되었다.

pMON2341 의 제조에 수반된 단계를 하기에 나열한다.

(1) pMON5515 및 pMON2429 의 DNA를 NcoI 와 HindIII로 처리하였다.

단편을 결합시키고, 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는E. coli 를 형질전환하는데 사용하였다. 이들 콜로니들로 부터 클로람페니콜 내성을 갖는 어떤것이 확인되었다. 이들 콜로니들중의 하나로부터, pMON2429 의 cat 유전자를 함유하는 NcoI 내지 HindIII 단편에 의해 pMON5515의 래트 아트리오펩티겐 유전자가 치환된 플라스미드 DNA를 분리했다. 이 단편은 mp18의 복합 링커 영역으로부터 유도된 부분에서 몇몇의 제한효소를 위한 인식부위를 함유한다. 이 신규의 플라스미드를 pMON2412 로 명명했다.

(2) pMON2412 를 pBR327 유도된 DNA 부분의 한 위치에서 절단하는 효소 Cℓ aI로 처리하였다. 돌출된 말단은 뉴클레오티드 전구물질의 존재하에 클레노우(Klenow)로 처리하여 블런트로 만들었다. 이 DNA를 pEMBL8 (Dente등, 1983)로 부터 유도된 분리된 514 bp RsaI 단편과 혼합하였다. 이 RsaI 단편은 파지 f1 의 복제의 개시점을 함유한다. 이 결합혼합물은 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는E. coli 세포를 형질전환하는데 사용하였다. 이들 세포로부터 분리된 플라스미드 DNA중에 pMON5578이 있었다.

이 플라스미드는 Cℓ aI 부위에 삽입된 f1 복제의 개시점 영역과 함께 pMON2412의 구조를 가진다. 이것은 도면 및 Olins 및 Rangwala (1990)에서 설명된다.

(3) pMON5578의 DNA를 제한효소 HindIII 및 MstII로 처리하였다.

그후 DNA는 말단을 블런트로 만들기 위해 뉴클레오티드 전구물질의 존재하에 클레노우 효소로 처리하였다. 이 처리된 DNA를 결합시켜 암피실린 내성을 갖도록 수용능력 있는E. coli를 형질전환하는데 사용하였다. 암피실린 내성 콜로니로부터, HindIII와 MstII 사이의 부분이 없는 한 플라스미드를 회수하였다.

이 결실은 다수의 제한 엔도뉴클레아제 부위로 인식되는 플라스미드 서열의 제거를 일으켰다. 신규의 플라스미드는 pMON5582로 명명하였다.

(4) pMON5582의 DNA를 SstII와 Bcℓ II로 처리하여 하기 서열을 갖는 어닐링된 올리고뉴클레오티드의 존재하에 결합시켰다.

```
5'-  GGCAACAATTTCTACAAAACACTTGATACTGTATGAGCAT-
3'-CGCCGTTGTTAAAGATGTTTTGTGAACTATGACATACTCGTA-

ACAGTATAATTGCTTCAACAGAACAGATC-3' [SEQ ID NO:3]
TGTCATATTAACGAAGTTGTCTTGT-5' [SEQ ID NO:4]
```

이 서열은 전사시작부위와 ℓexA 억제인자 결합부위(오퍼레이터)(Sancar 등., 1980)를 포함하는 E. coli의 recA 프로모터의 필수적인 요소를 코드화한다.

결합혼합물로부터 회수된 플라스미드는 pMON5582(및 pMON5515)에 있는 것 대신에 이 recA 프로모터를 포함하였다. recA 프로모터의 작용성은 Olins 및 Rangwala (1990)에 의해 설명되었다. 신규의 플라스미드는 pMON5594로 명명하였다.

(5) pMON5594중의 단일 EcoRI 부위를 제거하기 위해 DNA를 EcoRI로 처리한후, 뉴클레오티드 전구물질의 존재하에 클레노우로 말단을 블린트로 만든후 DNA를 결합시켰다.

이 결합혼합물로부터 DNA가 EcoRI으로 절단되지 않는 플라스미드를 회수하였다.

이 플라스미드는 pMON5630으로 명명하였다.

(6) PstI의 단일 인식부위를 변경하기 위해, 플라스미드 pMON5630을 부위 특이적 돌연변이 유발시켰다(Kunkel, 1985). 이 과정에서 사용된 올리고뉴클레오티드는 하기의 서열을 가진다.

5'-CCATTGCTGCCGGCATCGTGGTC-3' [SEQ ID NO:5]

이 과정의 결과는 베타 락타마제 유전자중의 PstI 부위가 더 이상 PstI이 이 부위를 인식하지 않도록 변형된 pMON5630과 다른 pMON2341을 제조하는 것이었다.

이 단일 뉴클레오티드 변화는 베타-락타마제 단백질의 아미노산 서열을 변경하지 않는다.

(b) [Met-(1-133) hIL-3(Arg129)] 을 코드화하는 pMON5847의 제조(제5도)

플라스미드 pMON2341은 cDNA 유도된 hIL-3 유전자로부터 E. coli에서 hIL-3을 생산하는데 사용된 플라스미드의 레플리콘, 프로모터, 리보솜 결합부위, 전사종결암호 및 항생제 내성마커(marker)를 공급하는데 사용하였다.

플라스미드 pMON2341은 제한효소 NcoI와 HindIII로 처리하였다.

복제의 개시점을 함유하는 제한단편을 정제하였다.

플라스미드 pMON5846 의 DNA를 NcoI와 HindIII로 처리하였다.

hIL-3 유전자를 함유하는 제한단편을 겔 정제하였다.

이들 정제한 제한단편을 혼합하여 결합시켰다. 이 결합혼합물은 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다.

콜로니를 선택하고, 플라스미드 DNA를 정제시켜 제한효소를 사용하여 분석하였다.

pMON5847은 클로람페니콜 아세틸 트란스페라제 유전자 대신에 pMON2341의 레플리콘과 hIL-3 유전자를 갖는 플라스미드로써 확인되었다. 이 플라스미드를 갖는 JN101세포를 M9 배지에서 배양하고 상기의 날리딕신산으로 처리하였다. 배양물의 샘플을 단백질 함량에 대해 조사했다. 이 hIL-3뮤테인은 쿠마시배지(coomassie) 염색된 폴리아크릴아미드겔에서 측정된 것과 같이 총 세포단백질의 약 6%만큼 생산되는 것을 발견하였다.

실시예3

[Met-(1-133) hIL-3(Arg129)]을 코드화하는 pMON5854 (제7도)의 제조

E. coli 중의 hIL-3의 축적을 증가시키기 위해, 단백질의 아미노 말단부분의 코딩서열을 높은 레벨의 단백질을 생산하는E. coli 유전자에서 발견한 코돈 바이어스를 더욱 더 가깝게 반영하기 위해 변경시켰다(Gouy 및 Gautier, 1982).

유전자의 아미노 말단부분에 대한 코딩서열의 변경을 위해, 합성 올리고뉴클레오티드쌍을 코딩서열내의 NcoI와 HpaI 부위사이에 삽입하였다.

플라스미드 pMON5847 의 DNA 약 0.5 마이크로그람(실시예 2)을 NcoI 와 HpaI로 처리하였다. 이 DNA를 하기의 서열을 갖는 한쌍의 어닐링된 올리고뉴클레오티드와 혼합하였다.

```
5'-CATGGCTCCAATGACTCAGACTACTTCTCTTAAGACT-
    3'-CGAGGTTACTGAGTCTGATGAAGAGAATTCTGA-

TCTTGGGTT-3' [SEQ ID NO:6]
AGAACCCAA-5' [SEQ ID NO:7]
```

이 단편들을 결합하였다. 이 결합혼합물은 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 콜로니를 집어내서 배양즙에 넣었다. 배양물에서 플라스미드 DNA를 만들어 DdeI 부위(CTNAG)의 존재에 대하여 조사하였다.

이것은 합성서열중에서는 존재하지만, pMON5847의 서열중의 NcoI 와 HpaI 부위 사이에서는 존재하지 않는다. 새로운 재조합 플라스미드를 pMON5854 라고 명명하였다.

pMON5854중의 hIL-3 유전자의 아미노 말단부분의 코딩서열에서 DNA의 뉴클레오티드 서열은 DNA 서열결정에 의해 결정하였고 결합에 사용된 합성올리고뉴클레오티드의 서열과 같다는 것을 발견하었다. 이 플라스미드를 갖는 JM101 세포의 배양물을 생장시켰고 hIL-3 돌연변이체 단백질의 생성을 유도하기 위해 날리딕신 산으로 처리하였다.

쿠마시 겔에서의 단백질 분석은 pMON5854를 갖는 배양물의 전체 세포단백질의 약 25%라는 것을 보였는데, 이것은 pMON5847 을 갖는 배양물에서 보다 상당히 더 높은 것이었다.

실시예4

[Met-(1-125) hIL-3]을 코드화하는 pMON5887(제12도)의 제조

pMON5854의 플라스미드 DNA(실시예3)를 EcoRI와 HindIII로 처리하였고 큰 단편 겔을 정제하였다. 이 DNA 약 0.5 마이크로그람을 hIL-3의 아미노산 107내지 125를 코드화하는 어닐링된 한쌍의 올리고뉴클레오티드 1 피코몰과 결합시켰다.

이들 올리고뉴클레오티드의 서열은 하기에 나타낸다.

EcoRI에서 HindIII

```
5'-AATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAA-
    3'-GGCAGCATTTGACTGGAAGATAGACTTTT-

CCTTGGAGAACGCGCAGGCTCAACAGTAATA-3' [SEQ ID NO:8]
GGAACCTCTTGCGCGTCCGAGTTGTCATTATTCGA-5' [SEQ ID NO:9]
```

결합후, 이 DNA를 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다. 콜로니를 골라내서 배양즙에 넣고, 플라스미드 DNA를 각 배양물로부터 분리하였다. 플라스미드 DNA의 제한분석에서는 pMON5854보다 더 작은 EcoRI내지 HindIII 단편의 존재를 보였다. EcoRI부위와 HindIII부위사이의 코딩서열 부분의 뉴클레오티드 서열은 대체된 서열의 정확성을 증명하기 위해 결정하였다.

이 신규의 플라스미드를 pMON5887로 명명했는데 이것은 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(1-125) hIL-3를 코드화한다.

```
Met Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser
Trp Val Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn

Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:10]
```

실시예5

[Met-Aℓa-(15-125) hIL-3]을 코드화하는 pMON5967의 제조

E. coli GM48(dam-)으로부터 분리한 pMON5887의 플라스미드 DNA를 NcoI와 CℓaI로 절단하여 아미노산 [Met-Aℓa-(15-20) hIL-3]을 코딩하는 한쌍의 어닐링된 올리고뉴클레오티드 1 피코몰과 결합시켰다. 이들 올리고뉴클레오티드의 서열을 하기에 나타내었다.

5'-CATGGCTAACTGCTCTAACATGAT-3'[SEQ ID NO:11]
3'-CGATTGACGAGATTGTACTAGC-5'[SEQ ID NO:12]

결과적인 결합혼합물을 암피실린 내성 콜로니로 수용능력있는E. coli JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA는 이들 세포에서 분리하였고 NcoI와 NsiI를 이용한 제한분석에 의해 삽입된 단편의 크기는 pMON5887의 크기보다 더 작은 것으로 결정하였다. NcoI 와 C ℓ aI사이의 영역의 뉴클레오티드 서열을 결정하였고 합성 올리고뉴클레오티드의 서열인 것으로 밝혀졌다. 이 신규의 플라스미드를 pMON5967로 명명하였고 이것을 함유하는 세포를 단백질 생성을 위해 유도하였다.

초음파 처리된 세포펠렛과 상징액을 단백질의 정제와 생물학적검사에 사용하였다.

실시예6

[Met-A ℓ a -(15-125) hIL-3] 을 코드화하는 pMON5967 의 제조

E. coli GM48 (dam-)으로부터 분리한 pMON5967의 플라스미드 DNA를 C ℓ aI 와 NsiI로 절단하여 hIL-3 아미노산 20-70을 코딩하는 어닐링된 조합의 6개의 올리고뉴클레오티드 1 피코몰과 결합시켰다(제2도). 이 합성단편은 3개의 특유한 제한부위 EcoRV, XhoI 및 PstI 을 코드화한다. 이들 올리고뉴클레오티드의 서열을 제2도에 나타냈다.

결과적인 결합혼합물을 암피실린 내성콜로니로 수용능력있는E. coli JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 분리하여 신규의 제한부위 EcoRV의 존재에 대해서 XbaI 와 EcoRV 으로 스크리닝하였다. C ℓ aI 와 NsiI 사이영역 DNA 서열을 결정하였고, 합성 올리고뉴클레오티드의 서열과 동일하다는 것을 발견하였다.

이 신규의 플라스미드를 pMON5978로 명명하였고, 이것을 함유하는 세포를 단백질 생산을 위해 유도하였다. 초음파 처리된 세포펠렛과 상징액을 단백질의 정제와 생물학적검사에 사용하였다.

플라스미드 pMON5978은 하기의 아미노산 서열을 갖는 [Met-Ala-(15-125) hIL-3]을 코드화한다.

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:13]

실시예7

pMON13356 의 제조

플라스미드 pMON5988를 제한효소 NcoI 와 EcoRV로 분해하였고, 그 결과 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 단편은 하기의 유전적 요소를 함유한다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3 의 아미노산 47-125를 코딩하는 염기. pMON5988 로 부터의 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편을 표(2) 로부터 하기의 어닐링시킨 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합시켰다.

Oligo #13 [SEQ ID NO:27]

Oligo #14 [SEQ ID NO:28]

결합 반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였고, 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였고 삽입된 단편의 크기는 이중 분해에서 제한효소 NcoI 와 HindIII 를 사용한 제한분석에 의해 결정하였다. 결과적인 플라스미드에서 (15-125) hIL-3 유전자중의 NcoI 와 EcoRV 제한부위 사이의 99 염기는 상술한 올리고뉴클레오티드의 22 염기로 대체되었다. 또한 이 링커는 NdeI 인식서열을 함유한다.

실시예8

pMON13344 의 제조

플라스미드 pMON13356 DNA를 제한효소 NcoI 와 EcoRV로 분해하며, 그 결과인 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 단편은 하기의 유전적 요소를 함유한다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-125를 코딩하는 염기. 두번째 DNA 단편은 중복된 말단을 갖는 하기의 상보적인 올리고뉴클레오티드 쌍을 이용한 합성유전자 조합에 의해 생성되었다.

Oligo #1 [SEQ ID NO:15]

Oligo #2 [SEQ ID NO:16]

Oligo #3 [SEQ ID NO:17]

Oligo #4 [SEQ ID NO:18]

Oligo #9 [SEQ ID NO:23]

Oligo #10 [SEQ ID NO:24]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 및 EcoRV 제한말단과 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46을 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A 및 45V. (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

pMON13356 의 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편을 어닐링된 올리고뉴클레오티드 쌍과 결합하였다. 결합반응물을 NdeI로 분해한후, 계속해서E. coli K-12 균주 JM101 을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다.

DNA 서열은 올리고뉴클레오티드의 서열인 것으로 결정되었다. 플라스미드, pMON13344는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #2

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:66]

DNA 서열 #10 [SEQ ID NO:106] 은 전술한 pMON13344 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예9

pMON13345의 제조

pMON13356 으로부터 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍들과 결합하였다.

Oligo #1 [SEQ ID NO:15]

Oligo #2 [SEQ ID NO:16]

Oligo #5 [SEQ ID NO:19]

Oligo #6 [SEQ ID NO:20]

Oligo #11 [SEQ ID NO:25]

Oligo #12 [SEQ ID NO:26]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 및 EcoRV 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46을 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S 및 45M. (15-125) hIL-3 의 아미노산 15-46을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. DNA를 시퀀싱하여 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인 것으로 결정하였다. 플라스미드 pMON13345는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 #3

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:67]

DNA 서열 #11 [SEQ ID NO:107] 은 상술한 pMON13345 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예10

pMON13346 의 제조

pMON13356 으로부터 4190 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드쌍과 결합하였다.

Oligo #1 [SEQ ID NO:15]

Oligo #2 [SEQ ID NO:16]

Oligo #7 [SEQ ID NO:21]

Oligo #8 [SEQ ID NO:22]

Oligo #11 [SEQ ID NO:25]

Oligo #12 [SEQ ID NO:26]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 및 EcoRV 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46을 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S 및 45M. (15-125) hIL-3 의 아미노산 15-46을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. DNA를 시퀀싱하여 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인 것으로 결정하였다. 플라스미드 pMON13346은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 #4

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:68]

DNA 서열 #12 [SEQ ID NO:108]는 상술한 pMON13346 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예11

pMON13357의 제조

플라스미드 pMON5988 DNA를 제한효소 EcoRV와 NsiI로 분해하였고, 그 결과인 4218 염기쌍 EcoRV, NsiI 단편은 하기의 유전적 요소를 포함한다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3 의 아미노산 15-46과 72-125를 코딩하는 염기. pMON5988 로부터의 4218 염기쌍 EcoRV, NsiI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #19 [SEQ ID NO:33]

Oligo #20 [SEQ ID NO:34]

결합반응 혼합물은E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용되었다.

형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙중에서 배양한 콜로니로부터 분리하였고, 삽입된 단편의 크기는 이중 분해에서 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용하는 제한분석에 의해 결정하였다. 그 결과적인 플라스미드에서 (15-125) hIL-3 유전자중의 EcoRV와 NsiI 제한 부위사이의 71염기는 상술한 올리고뉴클레오티드의 22 염기로 대체되었다.

이 링커는 또한 NdeI 인식 서열을 함유한다.

실시예12

pMON13347의 제조

pMON13357 로부터의 4218 염기쌍 EcoRV, NsiI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍들과 결합하였다.

Oligo #21 [SEQ ID NO:35]

Oligo #22 [SEQ ID NO:36]

Oligo #25 [SEQ ID NO:39]

Oligo #26 [SEQ ID NO:40]

Oligo #31 [SEQ ID NO:45]

Oligo #32 [SEQ ID NO:46]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRV 및 NsiI 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한 DNA 서열을 만든다: 51R, 55L, 59L, 62V, 67N 및 69E. (15-125) hIL-3 의 아미노산 47-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인지를 결정하기 위해 DNA를 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13347는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #5

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:69]

DNA 서열 #13 [SEQ ID NO:109]은 상술한 pMON13347 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예13

pMON13348의 제조

pMON13357로부터의 4218 염기쌍 EcoRV와 NsiI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드쌍과 결합하였다:

Oligo #21 [SEQ ID NO:35]

Oligo #22 [SEQ ID NO:36]

Oligo #27 [SEQ ID NO:41]

Oligo #28 [SEQ ID NO:42]

Oligo #31 [SEQ ID NO:45]

Oligo #32 [SEQ ID NO:46]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRV 및 NsiI 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한 DNA 서열을 만든다: 51R, 55L, 60S, 62V, 67N 및 69E. (15-125) hIL-3 의 아미노산 47-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인지를 결정하기 위해 DNA를 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13348는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #6

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:70]

DNA 서열 #14 [SEQ ID NO:110]는 상술한 pMON13348 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예14

pMON13349의 제조

pMON13357로부터의 4218 염기쌍 EcoRV와 NsiI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍들과 결합하였다:

Oligo #23 [SEQ ID NO:37]

Oligo #24 [SEQ ID NO:38]

Oligo #25 [SEQ ID NO:39]

Oligo #26 [SEQ ID NO:40]

Oligo #29 [SEQ ID NO:43]

Oligo #30 [SEQ ID NO:44]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRV 및 NsiI 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한 DNA 서열을 만든다: 51R, 55T, 59L, 62V, 67H 및 69E. (15-125) hIL-3 의 아미노산 47-71을 코드화한 코돈은 아미노산 치환이 행해진 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인지를 결정하기 위해 DNA를 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13349는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #7

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:71]

DNA 서열 #15 [SEQ ID NO:111]는 상술한 pMON13349 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예15

pMON13358의 제조

플라스미드 pMON5988 DNA를 제한효소 NsiI와 EcoRI로 분해하였고 그 결과인 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편은 하기의 유전적 요소를 포함한다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로의 파지 f1 복제의 개시점, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3 의 아미노산 15-71 과 106-125를 코딩하는 염기. pMON5988 로 부터의 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #15 [SEQ ID NO:29]

Oligo #16 [SEQ ID NO:30]

결합 반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였고, 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였고 삽입된 단편의 크기는 이중 분해에서 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용한 제한분석에 의해 결정하였다. 그 결과적인 플라스미드에서 (15-125) hIL-3 유전자중의 NsiI와 EcoRI 제한부위 사이의 111 염기를 상술한 올리고뉴클레오티드에서 24 염기로 대체되었다. 이 링커는 NdeI 인식서열을 함유한다.

실시예16

pMON13350의 제조

pMON13358로부터의 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍들과 결합하였다:

Oligo #41 [SEQ ID NO:55]

Oligo #42 [SEQ ID NO:56]

Oligo #39 [SEQ ID NO:53]

Oligo #40 [SEQ ID NO:54]

Oligo #35 [SEQ ID NO:49]

Oligo #36 [SEQ ID NO:50]

Oligo #43 [SEQ ID NO:57]

Oligo #44 [SEQ ID NO:58]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NsiI와 EcoRI 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-105를 코드화한 DNA 서열을 만든다: 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A 및 105Q. (15-125) hIL-3 의 아미노산 72-105을 코드화한 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 배양즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다. 서열이 올리고뉴클레오티드의 서열인지를 결정하기 위해 DNA를 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13350는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #8

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:72]

DNA 서열 #16 [SEQ ID NO:112]은 상술한 pMON13350 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예17

pMON13355의 제조

pMON13358로부터의 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍들과 결합하였다:

Oligo #41 [SEQ ID NO:55]

Oligo #42 [SEQ ID NO:56]

Oligo #37 [SEQ ID NO:51]

Oligo #38 [SEQ ID NO:52]

Oligo #33 [SEQ ID NO:47]

Oligo #34 [SEQ ID NO:48]

Oligo #43 [SEQ ID NO:57]

Oligo #44 [SEQ ID NO:58]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NsiI와 EcoRI 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-105를 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A 및 105Q. (15-125) hIL-3 의 아미노산 72-105을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 결합반응물을 NdeI로 분해하였고, E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 LB 육즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다.

DNA를 올리고뉴클레오티드의 서열로 결정짓기 위해 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13355는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 #9

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:73]

DNA 서열 #17 [SEQ ID NO:113]은 상술한 pMON13355 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예18

pMON13359의 제조

플라스미드 pMON5988 DNA를 제한효소 EcoRI와 HindIII로 분해하였고, 그 결과 4225 염기쌍 EcoRI, HindIII 단편은 하기의 유전적 요소를 함유한다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비 리더 및 (15-125) hIL-3 의 아미노산 15-105를 코딩하는 염기. pMON5988 로 부터의 4225 염기쌍 EcoRI, HindIII 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #17 [SEQ ID NO:31]

Oligo #18 [SEQ ID NO:32]

결합 반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였고, 형질 전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 LB 육즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였고 삽입된 단편의 크기는 이중 분해에서 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용한 제한분석에 의해 결정하였다. 결과적인 플라스미드에서 (15-125) hIL-3 유전자의 EcoRI 및 HindIII 제한부위 사이의 64 염기를 상술한 올리고뉴클레오티드의 20 염기로 대체하였다. 이 링커는 또한 NdeI 인식서열을 함유한다.

실시예19

pMON13352의 제조

pMON13359로부터의 4225 염기쌍 EcoRI, HindIII 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍과 결합하였다:

Oligo #45 [SEQ ID NO:59]

Oligo #46 [SEQ ID NO:60]

Oligo #49 [SEQ ID NO:63]

Oligo #50 [SEQ ID NO:64]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRI와 HindIII 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 106-125를 코딩하는 DNA 서열을 만든다: 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3 의 아미노산 106-125을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 육즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다.

DNA를 올리고뉴클레오티드의 서열로 결정짓기 위해 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13352는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 #10

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:74]

DNA 서열 #18 [SEQ ID NO:114]은 상술한 pMON13352 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예20

pMON13354의 제조

pMON13359로부터의 4225 염기쌍 EcoRI, HindIII 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드의 쌍과 결합하였다:

Oligo #45 [SEQ ID NO:59]

Oligo #46 [SEQ ID NO:60]

Oligo #47 [SEQ ID NO:61]

Oligo #48 [SEQ ID NO:62]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRI와 HindIII 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 106-125를 코딩하는 DNA 서열을 만든다: 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E. (15-125) hIL-3 의 아미노산을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

결합반응물을 NdeI로 분해하였고,E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 LB 육즙에서 배양한 콜로니로부터 분리하였다.

DNA를 올리고뉴클레오티드의 서열로 결정짓기 위해 서열결정하였다. 플라스미드 pMON13354는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 #11

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:75]

DNA 서열 #19 [SEQ ID NO:115]는 상술한 pMON13354 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예21

pMON13360 의 제조

플라스미드 pMON13352 DNA를 제한효소 NsiI 및 EcoRI로 분해하여 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편을 얻었다. pMON13352로부터 유도된 유전적 요소는 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 fl 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비 리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71 및 106-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13350 DNA를 NsiI 와 EcoRI로 분해하였다.

결과적인 111 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 71-105를 코드화한다.

용출된 제한단편을 농축시켰고, Centricon 30 농축기를 사용하여 염을 제거하였다.

제한단편을 결합하였고, 결합반응혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리한후 제한 분석으로 분석하였다. 정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 pMON13352와 비교하였을때 XmnI 부위를 상실하였다.

양성의 클론들을 615 염기쌍 XmnI 단편의 상실에 의해 확인하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13360은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #12

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ. NO:76]

DNA 서열 #23 [SEQ ID NO:119]은 상술한 pMON13360 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예22

pMON13361 의 제조

플라스미드 pMON13352 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRI로 분해시켜, 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편을 얻었다. pMON13352로부터 유도된 유전적 요소는 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비 리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71 및 106-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13355 DNA를 NsiI 와 EcoRI로 분해하였다.

그 결과 111 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 71-105를 코드화한다.

제한단편을 결합시켜서, 그 결합 반응혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 1200 염기쌍 RsaI 단편을 생성하는 부가적인 RsaI 부위를 함유하였다. DNA를 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13361은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #13

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:77]

DNA 서열 #24 [SEQ ID NO:120]는 상술한 pMON13361 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예23

pMON13362 의 제조

플라스미드 pMON13354 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRI로 분해시켜, 4178 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편을 얻었다. pMON13354로부터 유도된 유전적 요소는 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71 및 106-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13355 DNA를 NsiI 와 EcoRI로 분해하였다.

그 결과 111 염기쌍 NsiI, EcoRI 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-105를 코드화한다.

제한단편을 결합시켜서, 그 결합 반응혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 1200 염기쌍 RsaI 단편을 생성하는 부가적인 RasI 부위를 함유하였다. DNA를 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E. (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13362는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #14

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:78]

DNA 서열 #25 [SEQ ID NO:121]는 상술한 pMON13362 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예24

pMON13363 의 제조

플라스미드 pMON13344 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRV로 분해시켜, 4218 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편을 얻었다. pMON13344로부터 유도된 유전적 요소는 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46 및 72-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13348 DNA를 NsiI 와 EcoRV로 분해하였다.

그 결과 71 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한다.

제한단편을 T4 리가제로 결합시켜 그 결합 반응혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다. 정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 pMON13344중의 973 염기쌍들과 비교하여 806 및 167 염기쌍의 DdeI 제한 단편을 생성하는 부가적인 DdeI 부위를 함유하였다.

그 DNA를 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N 및 69E. (15-125) hIL-3의 아미노산 51-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13363은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #15

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:79]

DNA 서열 #20 [SEQ ID NO:116]은 상술한 pMON13363 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예25

pMON13364 의 제조

플라스미드 pMON13345 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRV로 분해시켜, 4218 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편을 얻었다. pMON13345로부터 유도된 유전적 요소는 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비 리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46 및 72-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13349 DNA를 NsiI 와 EcoRV로 분해하였다.

그 결과 71 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유 플레이트에서 선택하였다.

정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 pMON13344중의 973 염기쌍들과 비교할때 806 및 167 염기쌍의 DdeI 제한 단편을 생성하는 부가적 DdeI 부위를 함유하였다.

그 DNA를 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H 및 69E. (15-125) hIL-3의 아미노산 51-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13364은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #16

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:80]

DNA 서열 #21 [SEQ ID NO:117]은 상술한 pMON13364 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예26

pMON13365의 제조

플라스미드 pMON13346 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRV로 분해시켜, 4218 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편을 얻었다. pMON13346으로부터 유도된 유전적 요소들은 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-46 과 72-125를 코딩하는 염기이다.

플라스미드 pMON13347 DNA를 NsiI 와 EcoRV로 분해하였다.

그 결과 71 염기쌍 NsiI, EcoRV 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-71을 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

정확한 삽입체를 함유하는 클론들은 pMON13344중의 973 염기쌍들과 비교할때 806 및 167 염기쌍의 DdeI 제한 단편을 생성하는 부가적인 DdeI 부위를 함유하였다.

그 DNA를 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N 및 69E. (15-125) hIL-3의 아미노산 51-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13365는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #17

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:81]

DNA 서열 #22 [SEQ ID NO:118]는 상술한 pMON13365 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예27

pMON13298 의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NsiI 와 HindIII로 분해시켜, 3789 염기쌍 NsiI, HindIII 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13360 DNA를 NsiI 와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하여, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13298은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #18

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:82]

DNA 서열 #29 [SEQ ID NO:125]는 상술한 pMON13298 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예28

pMON13299 의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NsiI 와 HindIII로 분해시켜, 3789 염기쌍 NsiI, HindIII 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13361 DNA를 NsiI 와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환 시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하여, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13299는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #19

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:83]

DNA 서열 #30 [SEQ ID NO:126]은 상술한 pMON13299 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예29

pMON13300 의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NsiI 와 HindIII로 분해시켜, 3789 염기쌍 NsiI, HindIII 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13362 DNA를 NsiI 와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하여, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E.

(15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13300은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #20

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu

Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:84]

DNA 서열 #31 [SEQ ID NO:127]은 상술한 pMON13300 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예30

pMON13301 의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NcoI 와 NsiI로 분해시켜, 3794 염기쌍 NcoI, NsiI 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13363 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하여, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과, (15-125) hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N 및 69E. (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13301은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #21

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:85]

DNA 서열 #26 [SEQ ID NO:122]은 상술한 pMON13301 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예31

pMON13302의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NcoI 와 NsiI로 분해시켜, 3794 염기쌍 NcoI, NsiI 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13364 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125) hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하여, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과, (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L,

62V, 67H 및 69E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다. 플라스미드, pMON13302는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #22

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:86]

DNA 서열 #27 [SEQ ID NO:123]은 상술한 pMON13302 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예32

pMON13303의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NcoI 와 NsiI로 분해시켜, 3794 염기쌍 NcoI, NsiI 단편을 얻었다. pMON5978로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화하는 염기들이다.

플라스미드 pMON13365 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환 시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 분리시켜, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과적인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다 :18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N 및 69E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 이루어진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것들이다.

플라스미드, pMON13303은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #23

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu

Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:87]

DNA 서열 #28 [SEQ ID NO:124]은 상술한 pMON13303 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예33

pMON13287 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다. 플라스미드 pMON13363 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다. 그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다. 플라스미드 pMON13360 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다. 그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을 E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13287은 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #24

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:88]

DNA 서열 #1 [SEQ ID NO:97]은 상술한 pMON13287 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예34

pMON13288 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13364 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13360 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

플라스미드, pMON13288은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #25

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:89]

DNA 서열 #4 [SEQ ID NO: 100]는 상술한 pMON13288 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예35

pMON13289 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13365 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13360 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

플라스미드, pMON13289는 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #26

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:90]

DNA 서열 #7 [SEQ ID NO: 103]는 상술한 pMON13289 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예36

pMON13290 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13363 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13361 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13290은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #27

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:91]

DNA 서열 #2 [SEQ ID NO: 98]는 상술한 pMON13290 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예37

pMON13292 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13365 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13361 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 바른 삽입을 혹인하기 위하여 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E.

(15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13292는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #28

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:92]

DNA 서열 #8 [SEQ ID NO:104]은 상술한 pMON13292 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예38

pMON13294 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13364 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13362 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13294는 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #29

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:93]

DNA 서열 #6 [SEQ ID NO:102]은 상술한 pMON13294 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예39

pMON13295 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13365 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13362 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29V, 32A, 37S, 42S, 45M, 51R, 55L, 59L, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13295는 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #30

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:94]

DNA 서열 #9 [SEQ ID NO:105]은 상술한 pMON13295 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예40

pMON13312 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13364 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13361 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13312는 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #31

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser

Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:95]

DNA 서열 #5 [SEQ ID NO:101]는 상술한 pMON13312 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예41

pMON13313 의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위이다.

플라스미드 pMON13363 DNA를 NcoI 와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON13362 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한분석에 의해 분석한후 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다. 그 결과인 (15-125)hIL-3 변이체는 하기의 아미노산 치환체를 갖는다: 18I, 25H, 29R, 32A, 37P, 42A, 45V, 51R, 55L, 60S, 62V, 67N, 69E, 73G, 76A, 79R, 82V, 87S, 93S, 98T, 101A, 105Q, 109E, 116V, 117S, 120H 및 123E. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-125를 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13313는 하기 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다:

펩티드 #32

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser

Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:96]

DNA 서열 #3 [SEQ ID NO:99]은 상술한 pMON13313 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예42

pMON5987 의 제조

플라스미드 pMON6458 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3940 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON6458로부터 유도된 유전적 요소들은 베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서의 파지 f1 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터 및 g10L 리보솜 결합부위 및 ℓamB 분비 리더이다.

플라스미드 pMON5978 DNA를 NcoI와 NsiI로 분해하였다.

그 결과 170 염기쌍 NcoI, NsiI 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-71을 코드화한다.

플라스미드 pMON5976 DNA를 NsiI와 HindIII로 분해하였다.

그 결과 175 염기쌍 NsiI, HindIII 단편은 (15-125)hIL-3의 아미노산 72-125를 코드화한다. 제한단편을 결합시켜, 그 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환시키는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 제한 부위 EcoRV 와 NheI에 대하여 스크리닝하였고, DNA를 바른 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

실시예43

pMON5988 의 제조

pMON5987의 플라스미드 DNA를 NheI 와 EcoRI로 분해시켜 3903 염기쌍 NheI, EcoRI 단편을 얻었다. 3903 염기쌍 NheI, EcoRI 단편을 하기의 어닐링된 올리고 뉴클레오티드의 1.0 피코몰에 결합시켰다.

```
5'-CTAGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAA-
    3'-GGTGCCGGCGTGGGTGCGCTGTAGGTTAGGTATAGTT-

GGACGGTGACTGGAATG-3' [SEQ ID NO:131]
CCTGCCACTGACCTTACAATT-5' [SEQ ID NO:132]
```

그 결합 반응혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하기 위해 사용하였고, 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리시켜, 양성의 클론들을 확인하기 위해 서열결정하였다.

이 플라스미드를 hIL-3 유전자(15-125)중의 알라닌 101을 아스파르트산으로 변화시키기 위해 이용하였다. 이 플라스미드를 pMON5988로 명명하였다.

실시예44

[Met-(15-133) hIL-3 (Arg 129)] 을 코드화하는 pMON5853 (제6도) 의 제조

pMON5847의 플라스미드 DNA (실시예2)를 NcoI 로 처리하였다.

제한효소를 열처리(10분동안 65℃) 로 불활성화시켰다.

그 다음에 DNA를 모든 4개의 뉴클레오티드 프리커서가 있는 중에서 DNA 폴리머라제 I의 큰 단편(클레노우)으로 처리시켰다. 이것은 비-중복 단부를 갖는 DNA 말단을 생성한다. 37℃에서 5분후, 그 폴리머라제를 10분동안 65℃에서 열처리하여 불활성화시켰다. 그후, DNA를 비-중복말단을 만드는 효소인 HpaI로 처리하였다. DNA를 에탄올 침전시키고 결합시켰다. 그 결합 반응혼합물을 암피실린 내성을 갖도록 수용능력 있는 JM101 세포를 형질전환하는데 사용하였다.

콜로니들을 뽑아, 플라스미드 DNA를 제한분석으로 분석하였다.

pMON5853으로 명명한 플라스미드가 hIL-3 유전자의 아미노 터미날 14 코돈의 삭제부분을 함유하는 것을 확인하였다. (15-133)hIL-3 유전자와 리보솜 결합부위의 연결부의 DNA 서열은 하기와 같은 것으로 결정되었다:

```
5'-AAGGAGATATATCCATGAACTGCTCTAAC-3' [SEQ ID NO:133]
                M   N   C   S   N [SEQ ID NO:134]
```

아래쪽줄은 15-133 hIL-3 유전자의 아미노 말단의 코딩서열에 의해 특정된 아미노산에 대한 1문자 코드를 함유한다. 그들은 메티오닌, 아스파라긴, 시스테인, 세린 및 아스파라긴이다. 이 플라스미드를 갖는 JM101 세포의 배양물이 날리딕신산으로 유도될때 hIL-3(15-133)은 hIL-3(pMON5847)보다 더 높은 수준으로 축적되는 것을 발견하였다. 플라스미드, pMON5853은 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(15-133) hIL-3(Arg 129)를 코드화한다:

Met Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln Thr Thr Leu Arg
Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:135]

실시예45

[Met-(1-133)hIL-3] 을 코드화하는 pMON5873 의 제조

British Biotechnology, Ltd로부터 얻은 유전자는 코돈 위치 129에서 아르기닌을 특정하였다. 천연의 hIL-3 cDNA에서 특정된 아미노산은 세린이다.

이 위치에서 천연의 서열을 갖는 단백질을 생성하기 위해서 코돈 106과 107에서의 EcoRI 부위 및 코돈 129와 130에서의 NheI 부위 사이의 코딩서열의 부분을 대체시켰다.

pMON5854(실시예3)과 pMON5853(실시예44)의 플라스미드 DNA를 EcoRI와 NheI로 처리하였다. 각각의 큰 단편들을 겔 정제하였다. 이들을 하기의 서열을 갖는 어닐링된 올리고뉴클레오티드의 한쌍에 결합시켰다:

5'-AATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACC-
3'-GGCAGCATTTGACTGGAAGATAGACTTTTGG-

TTGGAGAACGCGCAGGCTCAACAGACCACTCTGTCG-3' [SEQ ID NO: 136]
AACCTCTTGCGCGTCCGAGTTGTCTGGTGAGACAGCGATC-5' [SEQ ID NO:137]

이 결합반응 혼합물을 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101 세포를 형질전환시키는데 사용하였다. 콜로니들을 배양즙 속에 넣고 생장시켰다.

플라스미드 DNA를 분리시켜 합성 DNA에는 존재하지만 pMON5854 와 pMON5853에는 없는 신규의 StyI 인식부위의 존재에 대하여 스크리닝하였다. EcoRI 와 NheI사이의 영역에서 유전자의 뉴클레오티드 서열을 결정하고 합성올리고뉴클레오티드 서열인 것을 발견하였다. 이 신규의 플라스미드를 [Met-(1-133)hIL-3]을 코딩하는 pMON5873 및 [Met-(15-133)hIL-3]을 코딩하는 pMON5872로 명명하였다.

플라스미드, pMON5873은 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(1-133)hIL-3을 코드화 한다.

Met Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser
Trp Val Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln Thr Thr Leu Ser
Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:128]

실시예46

pMON6458의 제조

플라스미드 pMON6525를 제한효소 HindIII와 Sa ℓ I로 분해시켜, 그 결과인 3172 염기쌍 단편을 DEAE 멤브레인에서 차단하여 1% 아가로스 겔로부터 분리시켰다.

pMON6525로부터 유도된 유전적 요소들은 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점 및 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점이다(플라스미드 pMON6525로부터 유도된 유전적 요소들은 pMON6458 제조에도 사용될수 있는 플라스미드 pMON2341의 요소들과 동일하다). 플라스미드 pMON6457을 제한효소 HindIII와 Sa ℓ I로 분해시킨후, 그 결과인 1117염기쌍 단편을 PAGE와 분쇄 및 침액용리로 분리시켰다.

pMON6457로부터 유도된 유전적 요소들은 pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓ amB 분비리더 및 (15-125)hIL-3유전자이다.

제한단편을 결합시킨후, 결합반응 혼합물을E. coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다.

형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리시켜, 삽입된 단편의 크기를 이중분해에서 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용하는 제한분석으로 결정하였다. hIL-3유전자(아미노산 15-125를 코딩)를 함유하는 클론들은 345염기쌍 NcoI, HindIII 제한단편을 함유하였다.

이 구조체를 pMON6458로 명명하였다. 이 플라스미드를 플라스미드 pMON6457 중의 hIL-3유전자 코딩 영역 바깥 부분의 EcoRI 제한부위를 제거하는데 이용하였다.

실시예47

[Met-(15-125)hIL-3(Ala 101)] 을 코드화하는 pMON5976 의 제조

dam-E. coli 균주 GM48로부터 분리된 pMON5941의 플라스미드 DNA를 ClaI와 NsiI로 절단시켜, hIL-3의 아미노산 20-70를 코딩하는 어닐링된 조합의 6개의 올리고뉴클레오티드 1피코몰과 결합시켰다(제2도). 이 합성단편은 3개의 단일 제한부위 EcoRV, XhoI와 PstI을 코드화한다. 이들 올리고뉴클레오티드의 서열은 제2도에 나타낸다. 그 결과인 결합혼합물은 암피실린 내성콜로니로 수용능력있는E. coli JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜 그 삽입된 단편이 EcoRV와 NheI 부위를 갖는지 결정하였다. C ℓ aI와 NsiI 사이 영역의 뉴클레오티드 서열을 결정하였고, 합성올리고뉴클레오티드의 서열인 것을 발견하였다. (15-125)hIL-3을 코드화하는 뉴클레오티드 서열의 코돈 86-87에, NheI 부위를 도입하였다.

이런 교체를 갖는 플라스미드를 pMON5941로 명명하였다.

이 플라스미드는 101위치에서 아스파르트산의 알라닌에 의한 치환에 의해 변화된 Met-(15-125)hIL-3을 코드화한다.

pMON5976 플라스미드는 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(15-125)hIL-3(Ala101)을 코드화한다.

Met Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Ala Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:138]

실시예48

[Met-(15-88) hIL-3] 을 코드화하는 pMON5917 의 제조

pMON5853의 플라스미드 DNA를 NsiI와 HindIII로 절단시켜 코돈 86-87에 신규의 NheI 엔도뉴클레아제 제한부위를 갖는 (70-88) hIL-3을 코딩하는 올리고뉴클레오티드의 어닐링된 쌍과 결합시켰다. 이들 올리고뉴클레오티드의 서열은 실시예 18에 나타낸다. 결합혼합물을 수용능력있는E. coli JM101 세포를 형질전환하는데 사용하여 암피실린 내성 콜로니들을 골라냈다. 각각의 콜로니로부터 분리한 플라스미드 DNA를 신규의 NheI 제한부위의 존재에 대하여 스크리닝하였다. 치환된 부분의 뉴클레오티드 서열을 결정하였고, 합성 올리고뉴클레오티드의 서열인 것을 발견하였다.

이 신규의 플라스미드를 코돈 86-87에 신규의 NheI 부위를 포함하는 Met-(15-88) hIL-3을 코딩한 pMON5917로 명명하였다.

플라스미드 pMON5917은 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(15-88) hIL-3을 코드화한다.

Met Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala [SEQ ID NO:
139]

실시예49

[Met-(15-125) hIL-3 Aℓa101]을 코드화하는 pMON5941의 제조

pMON5917의 플라스미드 DNA를 NheI와 HindIII로 절단시켜, hIL-3의 아미노산 86-106 및 107-125를 코드화하는 어닐링된 2쌍의 올리고뉴클레오티드와 결합시켰다.

이들 올리고뉴클레오티드의 서열은 하기에 나타낸다.

NheI 내지 EcoRI

5'-CTAGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATATCAAGGCTG-
3'-GGTGCCGGCGTGGGTGCGCTGTAGGTTAGGTATAGTTCCGAC-

GTGACTGGAATG-3' [SEQ ID NO:140]
CACTGACCTTACTTAA-5' [SEQ ID NO:141]

EcoRI 내지 HindIII

5'-AATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGGAGAACGCGCA-
3'-GGCAGCATTTGACTGGAAGATAGACTTTTGGAACCTCTTGCGCGT-

GGCTCAACAGTAATA-3' [SEQ ID NO:142]
CCGAGTTGTCATTATTCGA-5' [SEQ ID NO:143]

이 결합 혼합물을 암피실린 내성 콜로니로 대한 수용능력있는E. coli JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 이들 세포들로부터 분리시켰고, 삽입된 단편의 크기는 NcoI와 HindIII로의 제한분석으로 더 크다는 것이 결정되었다.

Asp의 Ala101로의 변화는 NheI 내지 EcoRI 단편에서 코드화된다.

NheI와 HindIII 부위 사이 코딩영역부분의 뉴클레오티드 서열을 결정하였고 합성 올리고뉴클레오티드의 서열인 것을 발견하였다.

이 신규의 플라스미드를 pMON5941로 명명하였다. 플라스미드, pMON5941은 Met-(15-125)hIL-3 (Aℓa101)을 코드화하고 신규의 NheI 제한부위를 함유한다.

실시예50

pMON6455의 제조

플라스미드 pMON5905를 제한효소 HindIII와 NcoI로 분해시켜, 3936 염기쌍 단편을 얻었다. pMON5905부터 유도된 유전적 요소들은 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위, ℓamB 분비리더 및 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점이다. 플라스미드 pMON5905로부터 유도된 다음의 유전적 요소들: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, g10L 리보솜 결합부위 및 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점은 pMON6455를 제조하는데 사용될수 있는 플라스미드 pMON5594 중의 것과 동일하다.

AraBAD 프로모터는 pMON6235에서 기술한 것과 동일하다. pMON6455 중에 사용된 ℓamB 시그날 펩티드 서열은 NcoI 부위에 hIL-3(15-125)와 융합된 제8도에서 보여지는 것이다.

플라스미드 pMON5887을 제한효소 HindIII와 NcoI로 분해시켜 384 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. 제한단편들을 결합시켜, 그 결합반응혼합물을E.coliK-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리하고, 삽입된 단편의 크기를 이중 분해에서 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용하는 제한분석으로 결정하였다.

hIL-3 유전자(아미노산 1-125를 코딩)를 함유하는 양성 클론들은 384염기쌍 NcoI, HindIII 제한단편을 함유하였다. 이 구조체를 pMON6455로 명명하였다.

실시예51

pMON6456의 제조

플라스미드 pMON5905를 제한효소 HindIII와 NcoI로 분해시켜, 3936 염기쌍 단편을 얻었다. pMON5905로부터 유도된 유전적 요소들은 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제개시점, pAraBAD 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 ℓamB 분비 리더이다. 플라스미드 pMON5871을 제한효소 HindIII와 NcoI로 분해시켜, 330 염기쌍 NcoI, HindIII단편을 얻었다.

pMON5871로부터 유도된 유전적 요소들은 (1-107)hIL-3 유전자를 코딩한 염기를 포함하였다. 제한단편을 결합하고, 그 결합반응 혼합물을E.coliK-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리하고, 삽입된 단편의 크기는 이중 분해 중의 제한효소 NcoI와 HindIII를 사용한 제한분석으로 결정하였다.

hIL-3유전자(아미노산 1-107를 코딩)를 함유하는 양성 클론들은 330염기쌍 NcoI, HindIII 제한단편을 함유하였다. 이 구조체를 pMON6456로 명명하였다.

실시예52

pMON6457의 제조

E.coli균주 GM48(dam-)에서 배양한 플라스미드 pMON6455 DNA를 제한효소 NcoI와 CℓaI로 분해시켜, 4263염기쌍 NcoI, CℓaI 단편을 얻었다.

이 제한단편은 Met Aℓa 14-20 hIL-3을 코딩하는 하기의 서열을 갖는 어닐링된 올리고뉴클레오티드의 1.0 피코몰과 결합시켰다.

5'-CATGGCTAACTGCTCTAACATGAT-3'[SEQ ID NO:151]
3'-CGATTGACGAGATTGTACTAGC-5'[SEQ ID NO:152]

그 결과적인 DNA를E.coliK-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다.

플라스미드 DNA를 분리하고, 삽입된 단편의 크기는 이중 분해중의 제한효소 NcoI와 EcoRI를 사용한 제한분석으로 결정하였다.

hIL-3유전자(hIL-3의 aa15-125를 코딩)를 함유하는 양성 클론들은 433염기쌍 XbaI, EcoRI 제한단편을 함유하였다. 이 구조체를 pMON6457로 명명하였다.

이 플라스미드를 hIL-3의 처음의 14 아미노산을 제거하는데 이용하였다.

결과적인 유전자의 코딩서열은 하기와 같이 시작한다.

```
5'    ATG GCT AAC TGC...     3' [SEQ ID NO:153]
      Met Ala Asn Cys...          [SEQ ID NO:154]
               15
```

처음의 두 아미노산(메티오닌, 알라닌)은 NcoI 제한부위 및 ℓamB 시그날 펩티드와 (15-125) hIL-3사이의 시그날 펩티다제 절단부위를 생성한다.

실시예53

pMON6235의 제조

이 플라스미드를 생성하는데 사용된 DNA 단편의 하나는 이 과정에서 프라이머로서 사용된 하기의 올리고뉴클레오티드 올리고 #51 [SEQ ID NO:155] 및 올리고 #52 [SEQ ID NO:156]을 이용한 전술한 PCR 기술을 사용하는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 생성되었다. PCR 반응을 위한 주형은 Maniatis (1982)에서 전술한 것과 같이 제조한 E.coli균주 W3110 염색체 DNA이었다.

올리고뉴클레오티드 프라이머는 AraBAD 프로모터(Greenfield 외., 1978)를 증폭하도록 디자인하였다. 그 결과적인 DNA 산물을 제한효소 SacII와 BgℓII로 분해하였다. 그 반응 혼합물을 전술한 것과 같이 정제하였다.

플라스미드, pMON5594, DNA를 SacII와 BgℓII로 분해시켜 다음의 유전적 요소들을 함유하는 4416 염기쌍 SacII, BgℓII 제한단편을 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, g10L 리보솜 결합부위 및 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제 개시점 및 클로람페니콜 아세틸 트란스페라제(cat) 유전자,

pMON5594로부터 4416 염기쌍 SacII, BgℓII 제한단편을 PCR- 생성된 SacII, BgℓII DNA 단편과 결합하였다. 이 결합 혼합물을E.coliK-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 양성 클론들은 323염기쌍 SacII, BgℓII 단편을 함유하고, SacII, BgℓII 단편이 AraBAD 프로모터인 것을 확인하기 위해 DNA 서열결정하였다. 이 구조체를 pMON6235로 명명하였다.

실시예54

pMON5647의 제조

플라스미드 pMON5585 [전체가 참고문헌으로 여기서 통합된 EP 0241446에서 개시된 것과 같이 제조함] DNA를 제한효소 NcoI와 HindIII로 분해시켜 3273 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON5585로부터 유도된 유전적 요소들은 pBR327 복제의 개시점, precA 프로모터 및 g10L 리보솜 결합 단백질, 소 소마토트로핀 유전자(bST), 베타-락타마제 유전자(AMP), T7 전사 터미네이터이다. 플라스미드 pMON3267 [전체가 참고문헌으로 여기서 통합된 EP 0241446에서 개시된 것과 같이 제조함] DNA를 NcoI와 HindIII효소로 분해시켜 돼지 소마토트로핀(pST) 유전자를 함유하는 580염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. 제한단편을 결합하고, 그 결합 반응혼합물을 E.coli균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리하고, 제한분석으로 분석하고, 정확한 삽입체를 확인하기 위해 서열결정하였다.

실시예55

pMON710의 제조

플라스미드 pMON709는 스트렙토마이신 아데닐릴 트란스페라제 유전자(Fling 외., 1985)를 함유하는 트랜스포존 TN7의 1614 염기쌍 AvaI, EcoRI 단편 및 pUC19의 HindIII와 EcoRI 부위 사이에서 클로닝된 pUC9 링커(XmaI, HindIII)로 이루어진다.

스트렙토마이신 아데닐릴 트란스페라제 유전자는 스트렙토마이신과 스펙티노마이신에 대한 내성을 부여한다. 플라스미드 pMON709는 스트렙토마이신 아데닐릴 트란스페라제 유전자의 3' 말단에 EcoRV 부위를 도입하기 위해 올리고뉴클레오티드 부위-특이적 돌연변이 유발(졸러와 스미스에 의해 기술된 방법, 1982)에 의해 돌연변이되었다.

올리고 #53 [SEQ ID NO:157] 올리고뉴클레오티드는 이 과정에서 EcoRV 부위를 도입하기 위해 사용하였다. 그 결과적인 플라스미드를 pMON710으로 명명하였다.

실시예56

pMON5723의 제조

플라스미드 pMON5647 DNA를 제한효소 DraI와 SspI으로 분해시켜 2916 염기쌍 DraI, SspI 단편을 얻었다. pMON5647로부터 유도된 유전적 요소들은 pBR327 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합단백질, 돼지 소마토트로핀 유전자(pST) 및 T7 전사 터미네이터(던과 스트러디어, 1983)이다.

플라스미드 pMON710 DNA를 제한효소 HincII와 EcoRV로 분해시켜 스트렙토마이신과 스펙티노마이신에 내성을 부여하는 스트렙토마이신 아데닐릴 트란스페라제 유전자를 함유하는 940 염기쌍 HincII, EcoRV 단편을 얻었다. 제한단편을 결합시켜, 각각 GAT에서 GAC 그리고 ATC에서 ATT로 EcoRV 인식 부위를 파괴하였다.

올리고뉴클레오티드 올리고 #55[SEQ ID NO:159]를 이 과정에서 EcoRV 부위를 제거하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아를 암피실린을 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리시켜, EcoRV 부위의 손실을 확인하기 위한 제한분석으로 분석한 후, (15-125) hIL-3 변이체 유전자의 서열을 확인하기 위해 서열결정하였다.

플라스미드 pMON14058은 펩티드 #25[SEQ ID NO:89]의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다. DNA 서열 #33[SEQ ID NO:161]은 상술한 pMON14058 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예59

pMON13438의 제조

플라스미드 pMON5723 DNA를 제한효소 NcoI와 HindIII로 분해시켜, 3278 NcoI, HindIII 단편을 얻었다. pMON5723으로부터 유도된 유전적 요소들은 pBR327 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합단백질, T7 전사 터미네이터 및 스트렙토마이신 아데닐릴트란스페라제 유전자이다. 플라스미드 pMON14058 DNA를 NcoI와 HindIII로 분해시켜, 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3 유전자를 함유하는 345염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 얻었다: 18I, 25H, 29R, 32N, 37P, 42S, 45M, 51R, 55T, 59L, 62V, 67H, 69E, 73G, 76A, 79R, 83Q, 87S, 93S, 98I, 101A, 105Q, 109E, 116V, 120Q 및 123E.

제한단편을 결합하고, 그 결합반응 혼합물을E.coli균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 형질전환 박테리아는 스펙티노마이신을 함유한 플레이트에서 선택하였다. 플라스미드 DNA를 분리하고, 제한분석으로 분석한후, 정확한 삽입체를 제한분석으로 결정하였다. 플라스미드 pMON13438은 펩티드 #25[SEQ ID NO: 89]의 아미노산 서열을 갖는 (15-125)hIL-3 변이체를 코드화한다.

DNA 서열 #33 [SEQ ID NO:161]은 상술한 pMON13438 폴리펩티드에 대하여 코드화한다.

실시예60

pMON13285의 제조

플라스미드 pMON13252 DNA를 제한효소 NcoI와 EcoRV으로 분해시켜 하기의 유전적 요소들을 함유하는 3669 염기쌍 NcoI, EcoRV 단편을 얻었다: 스트렙토마이신 아데닐트란스페라제 유전자, pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제개시점, recA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 하기 아미노산 치환, 50D를 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 47-125을 코드화하는 염기. pMON13252로부터 3669 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편은 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #165 [SEQ ID NO: 162]

Oligo #166 [SEQ ID NO: 163]

Oligo #167 [SEQ ID NO: 164]

Oligo #168 [SEQ ID NO: 165]

Oligo #169 [SEQ ID NO: 166]

Oligo #170 [SEQ ID NO: 167]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 와 EcoRV 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-46을 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 42D, 45M 및 46S. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-46을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

플라스미드, pMON13285는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #A3 [SEQ ID NO:258]

DNA 서열 #A3 pMON13285 42D, 45M 46S, 50D

ATGGCTAACT GCTCTAACAT GATCGATGAA ATCATCACCC ACCTGAAGCA
GCCACCGCTG CCGCTGCTGG ACTTCAACAA CCTCAATGAC GAAGACATGT
CTATCCTGAT GGACAATAAC CTTCGTCGTC CAAACCTCGA GGCATTCAAC
CGTGCTGTCA AGTCTCTGCA GAATGCATCA GCAATTGAGA GCATTCTTAA
AAATCTCCTG CCATGTCTGC CCCTGGCCAC GGCCGCACCC ACGCGACATC
CAATCCATAT CAAGGACGGT GACTGGAATG AATTCCGTCG TAAACTGACC
TTCTATCTGA AAACCTTGGA GAACGCGCAG GCTCAACAG
[SEQ ID NO:398]

실시예61

pMON13286의 제조

플라스미드 pMON5978 DNA를 제한효소 NcoI와 EcoRV로 분해하였고, 하기의 유전적 요소를 함유하는 3865 염기쌍 NcoI, EcoRV 단편을 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125)hIL-3의 아미노산 47-125를 코딩하는 염기.

pMON5978로부터 3865 염기쌍 NcoI, EcoRV 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #165 [SEQ ID NO: 162]

Oligo #166 [SEQ ID NO: 163]

Oligo #167 [SEQ ID NO: 164]

Oligo #168 [SEQ ID NO: 165]

Oligo #169 [SEQ ID NO: 166]

Oligo #170 [SEQ ID NO: 167]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 와 EcoRV 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125)hIL-3의 아미노산 15-46을 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 42D, 45M 및 46S. (15-125)hIL-3의 아미노산 15-46을 코딩하는 코돈은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다. 플라스미드, pMON13286은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3변이체를 코드화 한다.

펩티드 #A4 [SEQ ID NO:259]

DNA 서열 #A4 pMON13286 42D, 45M, 46S

ATGGCTAACT GCTCTAACAT GATCGATGAA ATCATCACCC ACCTGAAGCA

GCCACCGCTG CCGCTGCTGG ACTTCAACAA CCTCAATGAC GAAGACATGT

CTATCCTGAT GGAAAATAAC CTTCGTCGTC CAAACCTCGA GGCATTCAAC

CGTGCTGTCA AGTCTCTGCA GAATGCATCA GCAATTGAGA GCATTCTTAA

AAATCTCCTG CCATGTCTGC CCCTGGCCAC GGCCGCACCC ACGCGACATC

CAATCCATAT CAAGGACGGT GACTGGAATG AATTCCGTCG TAAACTGACC

TTCTATCTGA AAACCTTGGA GAACGCGCAG GCTCAACAG

[SEQ ID NO:399]

실시예62

pMON13325의 제조

플라스미드 pMON13286 으로부터 3704 염기쌍 EcoRI, HindIII DNA 단편을 플라스미드 pMON13215 로부터 64 염기쌍 EcoRI, HindIII DNA 단편과 결합하였다. 하기의 유전적 요소들은 pMON13286으로부터 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 다음의 변이 42D, 45M 및 46S를 갖는 (15-125) hIL-3 유전자의 아미노산 15-105를 코딩하는 염기.

다음의 변이, 116W를 갖는 (15-125) 유전자의 아미노산 106-125를 코딩하는 염기는 pMON13215로부터 유도된다. 그 결과적인 플라스미드, pMON13325는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #A5 [SEQ ID NO:261]

실시예63

pMON13326의 제조

플라스미드 pMON13215 로부터 3683 염기쌍 NcoI, EcoRI DNA 단편을 플라스미드 pMON13285 로부터 281 염기쌍 NcoI, EcoRI DNA 단편과 결합하였다. 하기의 유전적 요소들은 pMON13215로부터 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 다음의 변이 116W를 갖는 (15-125) hIL-3 유전자의 아미노산 106-125를 코딩하는 염기.

다음의 변이, 42D, 45M, 46S 및 50D 를 갖는 (15-125) 유전자의 아미노산 15-105를 코딩하는 염기는 pMON13285로부터 유도된다. 그 결과적인 플라스미드, pMON13326는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #A6 [SEQ ID NO:262]

실시예64

pMON13332의 제조

플라스미드 pMON13326 DNA를 제한효소 NsiI 와 EcoRI로 분해시켜 다음의 유전적 요소들을 포함하는 3853 염기쌍 NsiI, EcoRI DNA 단편을 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, recA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 다음의 변이 42D, 45M, 46S, 50D 및 116W를 갖는 (15-125) hIL-3 유전자의 아미노산 15-71과 106-125를 코딩하는 염기. pMON13326으로 부터의 3853 염기쌍 NsiI, EcoRI 제한단편은 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo #15(A) [SEQ ID NO:168]

Oligo #16(A) [SEQ ID NO:169]

그 결과적인 플라스미드에서 (15-125) hIL-3 유전자중의 NsiI와 EcoRI 제한부위사이의 111 염기는 상술한 올리고뉴클레오티드의 24 염기로 대체하였다.

이 링커는 또한 NdeI 인식 서열을 생성한다.

실시예65

pMON13330의 제조

플라스미드 pMON13332로부터의 3846 염기쌍 PstI, EcoRI DNA 단편을 플라스미드 pMON13305로부터의 118 염기쌍 PstI, EcoRI DNA 단편과 결합하였다.

하기의 유전적 요소들을 pMON13332로부터 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, recA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 다음의 변이 42D, 45M, 46S, 50D 및 116W 를 갖는 (15-125) hIL-3 유전자의 아미노산 15-69 과 106-125를 코딩하는 염기.

다음의 변이, 95R, 98I 및 100R를 갖는 (15-125) 유전자의 아미노산 70-105를 코딩하는 염기는 pMON13305로부터 유도된다. 그 결과적인 플라스미드, pMON13330은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #A7 [SEQ ID NO:263]

실시예66

pMON13329의 제조

플라스미드 pMON13332로부터의 3846 염기쌍 PstI, EcoRI DNA 단편을 플라스미드 pMON13304로부터의 118 염기쌍 PstI, EcoRI DNA 단편과 결합하였다.

하기의 유전적 요소들을 pMON13332로부터 얻었다: 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, recA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 다음의 변이 42D, 45M, 46S, 및 116W 를 갖는 (15-125) hIL-3 유전자의 아미노산 15-69 과 106-125를 코딩하는 염기.

다음의 변이, 98I 및 100R를 갖는 (15-125) 유전자의 아미노산 70-105를 코딩하는 염기는 pMON13304로부터 유도된다. 그 결과적인 플라스미드, pMON13329는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화한다.

펩티드 #A8 [SEQ ID NO:406]

실시예67

[Met-(15-125) hIL-3 (Arg 129)을 코드화하는 pMON5853 (제6도)의 제조

pMON5847의 플라스미드 DNA(실시예2)를 NcoI로 처리하였다.

제한효소를 열처리(10분동안 65℃)로 불활성화하였다.

그 다음에 DNA를 모든 4개의 뉴클레오티드 프리커서가 있는 중에서 DNA 폴리머라제 I의 큰 단편(클레노우)으로 처리하였다. 이것은 비-오버랩 단부를 갖는 DNA 말단을 만든다. 37℃에서 5분후, 그 폴리머라제를 10분동안 65℃에서 열처리하여 불활성화하였다. 그후, DNA를 비-오버랩 말단을 만드는 효소인 HpaI로 처리하였다.

DNA를 에탄올로 침전시키고 결합하였다. 그 결합 반응혼합물을 암피실린 내성을 갖도록 수용능력있는 JM101을 형질전환하는데 사용하였다.

콜로니들을 뽑아 플라스미드 DNA를 제한분석에 의해 분석하였다.

pMON5853으로 명명한 플라스미드는 hIL-3 유전자의 아미노 말단 14 코돈의 삭제를 함유하는 것으로서 확인하였다. (15-133)hIL-3 유전자와 리보솜 결합부위의 연결부의 DNA 서열은 하기와 같이 결정되었다.

5'-AAGGAGATATATCCATGAACTGCTCTAAC-3' [SEQ ID NO:400]
M N C S N [SEQ ID NO:401]

아래쪽줄은 15-133 hIL-3 유전자의 아미노 말단 코딩서열에 의해 특정된 아미노산에 대한 1 문자 코드를 함유한다. 그들은 메티오닌, 아스파라긴, 시스테인, 세린 및 아스파라긴이다. 이 플라스미드를 갖는 JM101 세포의 배양물이 날리딕신산으로 유도될 때, hIL-3 (15-133)은 hIL-3(pMON5847)보다 더 높은 수준으로 축적되는 것을 발견하였다. 플라스미드, pMON5853은 하기의 아미노산 서열을 갖는 Met-(15-133) hIL-3(Arg129)를 코드화한다:

Met Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln Thr Thr Leu Arg
Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:402]

실시예68

pMON13252의 제조

플라스미드 pMON2341 DNA를 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해시켜, 3619 염기쌍 NcoI/HindIII 단편을 얻었다.

pMON2341로부터 유도된 유전적 요소들은 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA, g10L 리보솜 결합부위이다. hIL-3 (15-125) Asp $^{(50)}$ 변이체를 코딩한 플라스미드를 NcoI와 HindIII로 분해시켜 345 염기쌍 NcoI/HindIII 단편을 얻었다. 이 345염기쌍 NcoI/HindIII 단편을 pMON2341로부터의 3619염기쌍 단편과 결합시켜 이 결합반응 혼합물을 E.coli K-12 균주 JM101을 형질전환하는데 사용하였다. 플라스미드 DNA를 분리하고, NcoI 와 HindIII를 이용한 제한분석으로 스크리닝하였다. 양성의 클론들은 345염기쌍 NcoI/HindIII 단편을 함유하였다. 이 구조체를 pMON13252로 명명하였다.

플라스미드 pMON13252는 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체를 코드화 한다.

펩티드 A10: (15-125)HIL-3 $Asp^{(50)}$ pMON13252

```
        Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
        15                  20                  25
Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
        30                  35                  40
Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Asp Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
        45                  50                  55
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
        60                  65                  70
Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
        75                  80                  85
Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
        90                  95                  100
Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
        105                 110                 115
Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:407]
        120                 125
```

DNA 서열 #A10 pMON13252 50D

```
ATGGCTAACT GCTCTAACAT GATCGATGAA ATCATCACCC ACCTGAAGCA
GCCACCGCTG CCGCTGCTGG ACTTCAACAA CCTCAATGGT GAAGACCAAG
ATATCCTGAT GGAACAATAAC CTTCGTCGTC CAAACCTCGA GGCATTCAAC
CGTGCTGTCA ACTCTCTGCA GAATGCATCA GCAATTGAGA GCATTCTTAA
AAATCTCCTG CCATGTCTGC CCCTGGCCAC GGCCGCACCC ACGCGACATC
CAATCCATAT CAAGGACGGT GACTGGAATG AATTCCGTCG TAAACTGACC
TTCTATCTGA AAACCTTGGA GAACGCGCAG GCTCAACAG
[SEQ ID NO:408]
```

실시예69-76

표5에서의 변이체는 재료 및 방법에서 기술된 방법 및 여기에서 포함된 실시예, 특히, 실시예 54-58에서 기술된 방법을 이용하여 카세트 돌연변이 유발에 의해 제조하였다. 적당한 제한효소로 분해시킨(표5), 모 플라스미드 DNA(표5)를 표시된 한쌍의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드(표5)와 결합하였다.

조합된 올리고뉴클레오티드는 적당한 제한말단 및 (15-125) hIL-3 유전자 서열(pMON13288 [SEQ ID NO:100])의 일부를 생성한다.

각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고, (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서 바람직한 변이가 이루어진 것을 확인하기 위해 DNA를 서열결정하였다.

올리고뉴클레오티드는 변이체 폴리펩티드(표5)중의 대응하는 아미노산 치환을 코드화하는 (15-125) hIL-3 유전자의 변이를 생성한다. 폴리펩티드 #25 [SEQ ID NO:89] 중의 치환과 다른 및/또는 이것에 더하여 아미노산 치환들을 표5에 나타낸다.

또한 표는 플라스미드 표기(pMON 번호), 돌연변이된 hIL-3 유전자에 대한 DNA 서열식별번호 및 결과적인 변이체 폴리펩티드에 대한 식별번호를 보여준다.

표5 중의 어떤 변이체에 대한 생물학적 활성 (AML193 세포에서의 성장 촉진 활성)을 표1에 나타낸다.

실시예77-82

표6에서의 변이체를 재료 및 방법 및 실시예, 특히 실시예 60-61에서 기술된 방법에 의해 제조하였다. 적당한 제한효소로 분해시킨(표6), 모 플라스미드 DNA(표6)를 표시한 제한단편(표6)과 결합하였다. 각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고, (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서 바람직한 변이가 이루어진 것을 확인하기 위해 DNA을 서열결정하였다. 결과적인 돌연변이된 (15-125) hIL-3 유전자는 변이체 폴리펩티드(표6)에서 대응하는 아미노산 치환을 코드화한다. 폴리펩티드 #25 [SEQ ID NO:89] 중의 치환과 다른 및/또는 이것에 더하여 아미노산 치환들을 표6에 나타낸다.

또한 표는 플라스미드 표기(pMON 번호), 돌연변이된 hIL-3 유전자에 대한 DNA 서열식별번호 및 결과적인 변이체 폴리펩티드에 대한 식별번호를 보여준다.

표6 중의 어떤 변이체에 대한 생물학적 활성(AML193 세포에서의 성장 촉진 활성)을 표1에 나타낸다.

실시예83

pMON13368의 제조

플라스미드 pMON13368을 구성하는 DNA 단편의 하나를 재료와 방법 및 실시예, 특히 실시예53에서 기술된 PCR 기술을 이용한 부위-특이적 돌연변이 유발에 의해 생성하였다. PCR 반응을 위한 주형은 프라이머로서의 올리고뉴클레오티드, 올리고 #B13 18I23A25H [SEQ ID NO:182] 및 올리고 #B14 2341HIN3 [SEQ ID NO:183]를 사용하는 플라스미드, pMON13289이었다. 그 결과적인 DNA 산물을 제한효소 NcoI 와 HindIII로 분해하였다. 완료시 효소를 불활성화하기 위해 분해물을 15분동안 70℃로 가열하였다. 제한단편을 페놀/클로로포름 추출과 2M NH_4OAc의 존재하에서 같은 부피의 이소프로판올로의 침전에 의해 정제하였다. 올리고뉴클레오티드, 올리고 #B13 18I23A25H [SEQ ID NO:182]는 'ATT'에서 'GCA'로 (Ile에서 Ala 로) (15-125) hIL-3 변이체 유전자 pMON13289 [SEQ ID NO:103]의 위치 23에서 코돈을 변화시킨다. pMON2341로부터 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 제한단편을 PCR- 생성 NcoI, HindIII 제한단편과 결합하였다.

각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고 (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서 바람직한 변이가 이루어진 것을 확인하기 위해 DNA를 서열결정하였다.

플라스미드, pMON13368은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드를 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자(DNA 서열 #B15 [SEQ ID NO:346])을 함유한다:

폴리펩티드 #B15 [SEQ ID NO:278]

실시예84

pMON13380의 제조

플라스미드 pMON13368 DNA를 제한효소 EcoRI 와 HindIII 로 분해하였다.

그 결과적인 3900 염기쌍 EcoRI, HindIII 단편은 하기의 유전적 요소들을 함유한다:

베타- 락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 변이체 pMON13368의 아미노산 15-105를 코딩하는 염기. pMON13368로 부터의 3900 염기쌍 EcoRI, HindIII 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo # B48 9E12Q6V1 [SEQ ID NO:217]

Oligo # B49 9E12Q6V3 [SEQ ID NO:218]

Oligo # 49 120Q123E2 [SEQ ID NO:63]

Oligo # 50 120Q123E4 [SEQ ID NO:64]

조합된 올리고뉴클레오티드는 EcoRl 와 HindIII 제한말단 및 하기의 아미노산 치환을 갖는 (15-125) hIL-3의 아미노산 106-125 를 코드화하는 DNA 서열을 만든다: 109E, 112Q, 116V, 120Q 및 123E. (15-125) hIL-3 유전자에서 사용된 코돈들은 아미노산 치환이 행해진 그들 위치를 제외하고는 hIL-3 cDNA 서열에서 발견되는 것이다.

각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고, (15-125) hIL-3 변이체 유전자의 바람직한 변이가 이루어졌는지 확인하기 위해 DNA를 서열결정하였다.

플라스미드 pMON13380은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드를 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자 (DNA 서열 #B16 [SEQ ID NO: 347]) 를 함유한다.

폴리펩티드 #B16 [SEQ ID NO:279]

실시예85

pMON13476 의 제조

플라스미드 pMON13476 을 구성하는 DNA 단편의 하나를 재료 및 방법 및 실시예, 특히 실시예 54 에서 기술된 PCR 기술을 이용한 부위- 특이적 돌연변이 유발에 의해 생성하였다. PCR 반응에 대한 주형은 프라이머로서의 올리고뉴클레오티드, 올리고 #B13 18I23A25H [SEQ ID NO:182] 및 올리고 #B14 2341HIN3 [SEQ ID NO:183]를 사용하는 플라스미드, pMON13287 이었다. 그 결과적인 DNA 산물을 제한효소 NcoI와 HindIII로 분해하였다. 완료시 효소를 블활성화하기 위해 분해물을 15분동안 70℃로 가열하였다. 제한단편을 페놀/클로로포름 추출과 2M NH_4OAc 의 존재하에서 같은 부피의 이소프로판올로의 침전에 의해 정제하였다.

올리고뉴클레오티드, 올리고 #B13 18I23A25H [SEQ ID NO:182]는 'ATT'에서 'GCA'로(Ile 에서 Ala 으로) (15-125) hIL-3 변이체 유전자 pMON13287 [SEQ ID NO: 97]의 위치 23에서 코돈을 변화시킨다. pMON2341로부터 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 제한단편을 PCR- 생성 NcoI, HindIII 제한단편과 결합하였다.

각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고 (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서 바람직한 변이가 이루어진 것을 확인하기 위해 DNA를 서열결정하였다.

결과적인 클론은 또한 돌연변이 유발 올리고뉴클레오티드에서 고안되지 않은 변이를 포함하는데, 이것은 'GCT'에서 'GAT'로 위치-1 에서 코돈을 변화시키고, 이것은 아미노산을 알라닌에서 아스파르트산으로 변화시킨다. 플라스미드, pMON13476은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드를 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자(DNA 서열 #B52 [SEQ ID NO:303]) 을 함유한다:

폴리펩티드 #B52 [SEQ ID NO:314]

실시예86-92

표7의 변이체를 재료 및 방법 및 실시예, 특히 실시예51 에서 기술된 방법을 이용하는 PCR 기술에 의해 제조하였다. 두번의 연속하는 PCR 반응을 이용하여 변이체를 생성하였다. 처음의 PCR 반응에서 pMON13287 플라스미드 DNA는 주형으로 제공되어지고, 표7 에서 표시된 2개의 올리고뉴클레오티드는 프라이머로서 제공되어졌다. PCR연장 반응후, PCR산물은 연장되지 않은 프라이머를 제거하기 위해 부분적으로 정제하였다. 두번째 PCR 반응에서 pMON13287 플라스미드 DNA는 주형으로 제공되었고 처음의 PCR 반응으로 부터의 정제된 PCR 산물은 프라이머의 하나로서 주어졌고 그리고 두번째 프라이머로서 올리고 #B14 2341Hin3 [SEQ ID NO:183] 가 주어졌다.

두번째 PCR 반응의 산물을 부분정제하고 제한효소 NcoI 및 HindIII 로 분해시키고 pMON2341의 3619 염기쌍 NcoI, HindIII 단편과 결합시켰다.

각각의 분리체는 제한분석에 의해 스크리닝하고 (15-125) hIL-3 변이체에서 바람직한 단편과 결합시켰다.

변이가 이루어졌는지 확인하기 위해 DNA를 서열결정하였다.

아미노산 치환 및/또는 폴리펩티드 #24 [SEQ ID NO:88]와 다른 아미노산 치환을 표7에 나타내었다. 또한 표는 플라스미드 표기 (pMON 번호), 돌연변이된 hIL-3 유전자의 DNA서열 식별번호 및 결과적인 변이체 폴리펩티드에 대한 식별번호를 나타낸다. 표7 중의 어떤 변이체에 대한 생물학적 활성(AML193 세포에서의 성장 촉진활성)을 표1에 나타낸다.

실시예93-120

표8에서의 변이체를 제료 및 방법 및 실시예, 특히 실시예 54-58에서 기술된 방법을 이용한 카세트 돌연변이 유발에 의해 제조하였다. 적당한 제한효소로 분해시킨(표8), 모 플라스미드 DNA (표8)를 표시한 상보적인 올리고뉴클레오티드의 어닐링된 쌍(표8)과 결합하였다. 조합된 올리고뉴클레오티드는 적당한 제한말단 및 (15-125) hIL-3 유전자(pMON13288 [SEQ ID NO:100])서열의 일부를 생성한다.

올리고뉴클레오티드는 대응하는 아미노산 치환을 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서의 변이 및/또는 변이체 폴리펩티드의 C-말단에서의 결실을 생성한다(표8). 각각의 분리체들을 제한분석으로 스크리닝하고 (15-125) hIL-3 변이체 유전자에서 바람직한 변이가 이루어진 것을 확인하기 위해 DNA을 서열결정하였다.

아미노산 치환 및/또는 폴리펩티드 #25 [SEQ ID NO:88] 에서 그들과 다른것은 표8에 나타낸다. 또한 표는 플라스미드 표시(pMON 번호), 돌연변이된 hIL-3 유전자에 대한 DNA 서열 식별번호 및 결과적인 변이체 폴리펩티드에 대한 식별번호를 나타낸다. 표5 중의 어떤 변이체에 대한 생물학적 활성(AML193 세포에서의 성장 촉진활성)을 표1 에 나타낸다.

실시예121

pMON13446 의 제조

플라스미드 pMON13287, DNA (E. coli 균주 GM48 {dam-}) 로부터 정제함) 을 제한효소 NcoI 와 ClaI로 분해하였다. 그 결과적인 3942 염기쌍 NcoI 와 ClaI 단편은 다음의 유전적 요소들을 함유한다. 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3 변이체 pMON13287 의 아미노산 21-125 를 코드화하는 DNA 서열.

pMON13368로 부터의 3942 염기쌍 NcoI, ClaI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo # B57 338UP [SEQ ID NO:226]

Oligo # B56 338DOWN [SEQ ID NO:225]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 와 ClaI 제한말단, 다음의 14 아미노산 서열을 코드화하는 DNA 서열: Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys [SEQ ID NO:403] 및 (15-125) hIL-3 변이체 유전자, pMON13287 [SEQ ID NO:97] 의 아미노산 15-20 을 코드화하는 DNA 서열을 생성한다. 그 결과 변이체 폴리펩티드는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드, pMON13288 [SEQ ID NO:88] 과 융합된 14 아미노산 N- 터미날 신장부를 갖는다. 플라스미드 pMON13446은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드를 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자 (DNA 서열 #B53 [SEQ ID NO:404])를 함유한다.

폴리펩티드 #B53 [SEQ ID NO:315]

실시예 B54

pMON13390 의 제조

플라스미드 pMON13288, DNA (E. coli 균주 GM48 {dam-} 로부터 정제함) 을 제한효소 NcoI 와 ClaI로 분해하였다. 그 결과적인 3942 염기쌍 NcoI 와 ClaI 단편은 다음의 유전적 요소들을 함유한다. 베타-락타마제 유전자(AMP), pBR327 복제의 개시점, 전사 터미네이터로서 파지 f1 복제의 개시점, precA 프로모터, g10L 리보솜 결합부위 및 (15-125) hIL-3 변이체 pMON13288 의 아미노산 21-125 를 코드화하는 DNA 서열.

pMON13288로 부터의 3942 염기쌍 NcoI, ClaI 제한단편을 하기의 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다.

Oligo # B57 338UP [SEQ ID NO:226]

Oligo # B56 338DOWN [SEQ ID NO:225]

조합된 올리고뉴클레오티드는 NcoI 와 ClaI 제한말단, 다음의 14 아미노산 서열을 코드화하는 DNA 서열: Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys [SEQ ID NO:403] 및 (15-125) hIL-3 변이체 유전자, pMON13288 [SEQ ID NO:100] 의 아미노산 15-20 을 코드화하는 DNA 서열을 생성한다. 그 결과 변이체는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리 펩티드, pMON13288 [SEQ ID NO:88] 과 융합된 14 아미노산 N- 터미날 신장부를 갖는다.

플라스미드 pMON13390은 하기의 아미노산 서열을 갖는 (15-125) hIL-3 변이체 폴리펩티드를 코드화하는 (15-125) hIL-3 변이체 유전자 (DNA 서열 #B54 [SEQ ID NO:405]) 를 함유한다.

폴리펩티드 #B54 [SEQ ID NO:316]

실시예 133-136

표10 에서의 변이체를 재료 및 방법 및 실시예, 특히 실시예 54-58 에서 기술된 방법에 의해 제조하였다. 적당한 제한효소로 분해시킨(표10), 모 플라스미드 DNA (표10)를 나열된 변이를 포함한 표시된 제한단편(표10)과 결합하였다.

결과적인 돌연변이된 (15-125) hIL-3 유전자는 변이체 폴리펩티드(표10)에서 대응하는 아미노산 치환을 코드화한다. 아미노산 치환 및/또는 폴리펩티드 #25 [SEQ ID NO:89] 에서 그들과 다른 것은 표10에 나타낸다.

표10에서 어떤 변이체에 대한 생물학적 활성(AML193 세포에서 성장촉진활성)은 표1에 나타낸다.

실시예 123-132

표9중의 변이체를 재료 및 방법 및 실시예 54-58 에서 기술된 방법을 이용한 카세트 돌연변이 유발에 의해 제조하였다. 적당한 제한효소로 분해시킨(표9) 모 플라스미드 DNA (표9)를 한쌍의 표시된 어닐링된 상보적인 올리고뉴클레오티드와 결합하였다. 조합된 올리고뉴클레오티드는 이들 제한부위들 사이에서 (15-125) hIL-3 유전자 (pMON13288 [SEQ ID NO:100]에 삽입시킨 적당한 제한단편을 생성한다.

(15-125) hIL-3 유전자에 의해 코드화된 결실 또는 치환은 변이체 폴리펩티드(표9)에서 아미노산 결실 또는 치환에 해당한다.

아미노산 치환 또는 결실, 및/또는 폴리펩티드 #25 [SEQ ID NO:89] 에서의 그들과 다른 것은 표9에 나타낸다. 표9에서 어떤 변이체에 대한 생물학적활성(AML193 세포에서 성장 촉진 활성)은 표1 에 나타낸다.

하기에 나타낸 식 XI는 아미노산위에 쓰여진 굵은 형태의 숫자가 굵은 숫자 아래의 아미노산이 천연(1-133) hIL-3의 위치를 나타내는 것을 보여준다.

[예로서, 식 XI의 위치1 에서의 아미노산은 천연의 (1-133) hIL-3 중의 위치 15에서 나타나는 Asn에 해당한다]. 굵게 쓰여진 숫자는 천연 IL-3 (1-133)에 해당하는 아미노산을 가리킨다. 아미노산 서열 아래의 굵지 않은 숫자는 Seq Id 참조 번호에 대한 것이다. 뮤테인을 표현할때 처음 아미노산은 Met- 또는 Met-Ala-로 시작될 수 있다.

```
 15                  20                  25
Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu Lys Gln
 1                   5                  10                  15

 30                  35                  40
Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly Glu Asp
                    20                  25                  30

 45                  50                  55
Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu
                    35                  40                  45

 60                  65                  70
Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile
                    50                  55                  60

 75                  80                  85
Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr
                    65                  70                  75

 90                  95                 100
Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp Trp
                    80                  85                  90

105                 110                 115
Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr Leu Glu
                    95                 100                 105
120                 125
Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:23]
                   110
```

표 5

실시예	pMON번호	모플라스미드/제한효소	올리고쌍 1,4	올리고쌍 2,5	올리고쌍 3,6	아미노산변화	결과적인 폴리펩티드
실시예 69	pMON13406 SEQ ID NO:332	pMON13288/ NcoI, EcoRV	19Ala1 OLIGO# B1 SEQ ID NO:170 19Ala4 OLIGO# B2 SEQ ID NO:171	29R32N37P2 OLIGO# 5 SEQ ID NO:19 29R32N37P5 OLIGO#6 SEQ ID NO:20	42S45M3 OLIGO# 11 SEQ ID NO:25 42S45M6 OLIGO# 12 SEQ ID NO:26	19Ala	폴리펩티드 B1 SEQ ID NO:264
실시예 70	pMON13414 SEQ ID NO:333	pMON13288/ NcoI, EcoRV	19Ile1 OLIGO# B3 SEQ ID NO:172 19Ile4 OLIGO# B4 SEQ ID NO:173	29R32N37P2 OLIGO# 5 SEQ ID NO:19 29R32N37P5 OLIGO#6 SEQ ID NO:20	42S45M3 OLIGO# 11 SEQ ID NO:25 42S45M6 OLIGO# 12 SEQ ID NO:26	19Ile	폴리펩티드 B2 SEQ ID NO:265
실시예 71	pMON13407 SEQ ID NO:334	pMON13288/ NcoI, EcoRV	18I25H1 OLIGO# 1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO# 2 SEQ ID NO:16	29R32N37P2 OLIGO# 5 SEQ ID NO:19 29R32N37P5 OLIGO#6 SEQ ID NO:20	42S45V3 OLIGO#B11 SEQ ID NO:180 42S45V6 OLIGO#B12 SEQ ID NO:181	45Val	폴리펩티드 B3 SEQ ID NO:266
실시예 72	pMON13405 SEQ ID NO:335	pMON13288/ NcoI, EcoRV	19Ala1 OLIGO# B1 SEQ ID NO:170 19Ala4 OLIGO# B2 SEQ ID NO:171	29R32N37P2 OLIGO# 5 SEQ ID NO:19 29R32N37P5 OLIGO#6 SEQ ID NO:20	42S45V3 OLIGO#B11 SEQ ID NO:180 42S45V6 OLIGO#B12 SEQ ID NO:181	19Ala,45Val	폴리펩티드 B4 SEQ ID NO:267
실시예 73	pMON13415 SEQ ID NO:336	pMON13288/ NcoI, EcoRV	19Ile1 OLIGO# B3 SEQ ID NO:172 19Ile4 OLIGO# B4 SEQ ID NO:173	29R32N37P2 OLIGO# 5 SEQ ID NO:19 29R32N37P5 OLIGO#6 SEQ ID NO:20	42S45V3 OLIGO#B11 SEQ ID NO:180 42S45V6 OLIGO#B12 SEQ ID NO:181	19Ile,45Val	폴리펩티드 B5 SEQ ID NO:268
실시예 74	pMON13408 SEQ ID NO:337	pMON13288/ EcoRV, NsiI	49Ile1 OLIGO# B7 SEQ ID NO:176 49Ile4 OLIGO# B8 SEQ ID NO:177	59L62V2 OLIGO# 25 SEQ ID NO:39 59L62V5 OLIGO# 26 SEQ ID NO:40	67H69E3 OLIGO# 29 SEQ ID NO:43 67H69E6 OLIGO# 30 SEQ ID NO:44	49Ile	폴리펩티드 B6 SEQ ID NO:269

표 5계속

실시예 75	pMON13409 SEQ ID NO:338	pMON13288/ EcoRV, NsiI	49Leu1 SEQ ID NO:178 OLIGO# B9 49Leu4 OLIGO# B10 SEQ ID NO:179	59L62V2 OLIGO# 25 SEQ ID NO:39 59L62V5 OLIGO# 26 SEQ ID NO:40	67H69E3 OLIGO# 29 SEQ ID NO:43 67H69E6 OLIGO# 30 SEQ ID NO:44	49Leu	폴리펩티드B7 SEQ ID NO:270
실시예 76	pMON13410 SEQ ID NO:339	pMON13288/ EcoRV, NsiI	49Asp1 OLIGO# B5 SEQ ID NO:174 49Asp4 OLIGO# B6 SEQ ID NO:175	59L62V2 OLIGO# 25 SEQ ID NO:39 59L62V5 OLIGO# 26 SEQ ID NO:40	67H69E3 OLIGO# 29 SEQ ID NO:43 67H69E6 OLIGO# 30 SEQ ID NO:44	49Asp	폴리펩티드B8 SEQ ID NO:271

표 6

실시예 No	플라스미드 pMON 번호	모플라스미드/제한분해	제한단편	아미노산치환	결과적인 폴리펩티드
실시예 77	pMON13422 SEQ ID NO:340	pMON13408/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13405	19Ala, 45Val, 49Ile	폴리펩티드B9 SEQ ID NO:272
실시예 78	pMON13423 SEQ ID NO:341	pMON13408/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13415	19Ile, 45Val, 49Ile	폴리펩티드B10 SEQ ID NO:273
실시예 79	pMON13424 SEQ ID NO:342	pMON13409/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13405	19Ala, 45Val, 49Leu	폴리펩티드B11 SEQ ID NO:274
실시예 80	pMON13425 SEQ ID NO:343	pMON13409/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13415	19Ile, 45Val, 49Leu	폴리펩티드B12 SEQ ID NO:275
실시예 81	pMON13426 SEQ ID NO:344	pMON13410/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13405	19Ala, 45Val, 49Asp	폴리펩티드B13 SEQ ID NO:276
실시예 82	pMON13429 SEQ ID NO:345	pMON13410/ NcoI, EcoRV	99염기쌍 NcoI, EcoRV 단편 pMON13415	19Ile, 45Val, 49Asp	폴리펩티드B14 SEQ ID NO:277

표 7

실시예	pMON 번호	주형	단계 1 PCR 프라이머1	단계 1 PCR 프라이머2	단계 2 PCR 프라이머1	단계 2 PCR 프라이머 2	아미노산치환	폴리펩티드
실시예 86	pMON13475 SEQ ID NO:348	pMON13287	18D23A25H OLIGO# B13 SEQ ID NO:182	42D45V46S50D OLIGO# B19 SEQ ID NO:188	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	42D,46S,50D	폴리펩티드 # B17 SEQ ID NO 280
실시예 87	pMON13366 SEQ ID NO:349	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42D45V46S50D OLIGO# B19 SEQ ID NO:188	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	42N,46S,50D	폴리펩티드 # B18 SEQ ID NO 281
실시예 88	pMON13367 SEQ ID NO:350	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42A45V46S50D OLIGO# B17 SEQ ID NO:186	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	46S,50D	폴리펩티드 # B19 SEQ ID NO 282
실시예 89	pMON13369 SEQ ID NO:351	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42D45V46S50D OLIGO# B21 SEQ ID NO:190	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	42D,46S,50D	폴리펩티드 # B20 SEQ ID NO 283
실시예 90	pMON13370 SEQ ID NO:352	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42A45M46S50D OLIGO# B16 SEQ ID NO:185	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	45M,46S,50D	폴리펩티드 # B21 SEQ ID NO 284
실시예 91	pMON13373 SEQ ID NO:353	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42D45M46S50D OLIGO# B18 SEQ ID NO:187	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	42D,45M,46S 50D	폴리펩티드 # B22 SEQ ID NO 285
실시예 92	pMON13374 SEQ ID NO:354	pMON13287	2341NCO OLIGO# B15 SEQ ID NO:184	42S45M46S50D OLIGO# B20 SEQ ID NO:189	단계 1의 생성물	2341HIN3 OLIGO# B14 SEQ ID NO:183	42S,45M46S 50D	폴리펩티드 # B23 SEQ ID NO 286

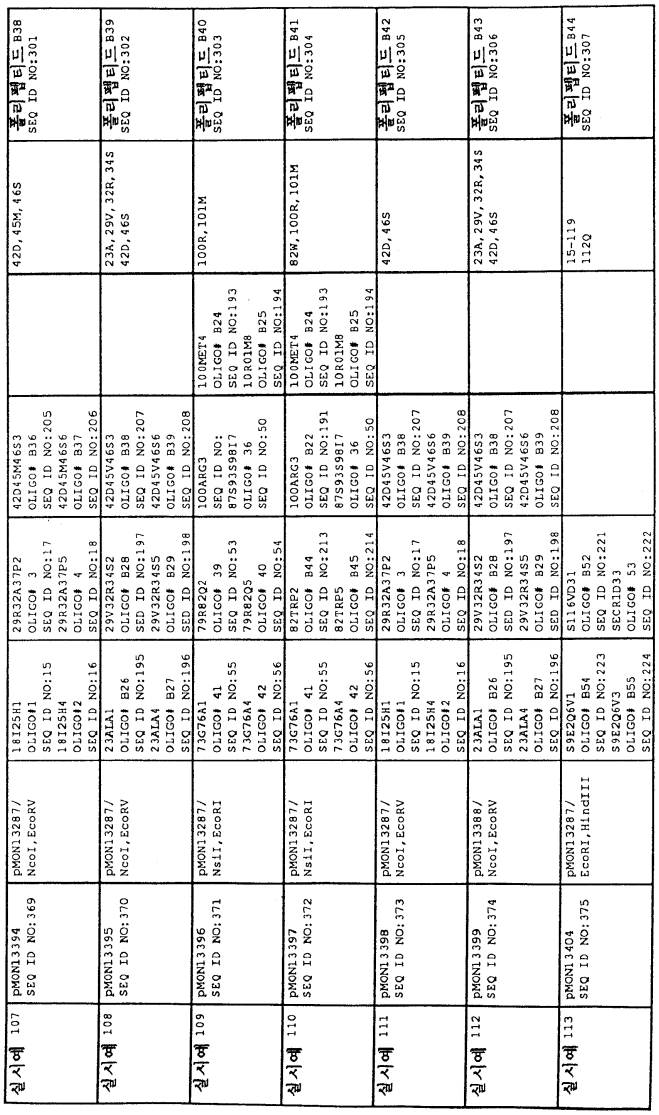
표 8

실시예	폴라스미드	포폴라스미드	올리고쌍	올리고쌍	올리고쌍	결과적인 아미노산치환	폴리펩티드
실시예 93	pMON13375 SEQ ID NO:355	pMON13287/ EcoRI,HindIII	S09E16V1 OLIGO# B50 SEQ ID NO:219 S09E16V3 OLIGO# B51 SEQ ID NO:220	S116VD31 OLIGO# B52 SEQ ID NO:221 SECR1D33 OLIGO# B53 SEQ ID NO:222		15-119	폴리펩티드 B24 SEQ ID NO:287
실시예 94	pMON13376 SEQ ID NO:356	pMON13476/ EcoRI,HindIII	S9E2Q6V1 OLIGO# B54 SEQ ID NO:223 S9E2Q6V3 OLIGO# B55 SEQ ID NO:224	S116VD31 OLIGO# B52 SEQ ID NO:221 SECR1D33 OLIGO# B53 SEQ ID NO:222		15-119,23A,112Q	폴리펩티드 B25 SEQ ID NO:288
실시예 95	pMON13377 SEQ ID NO:357	pMON13475/ EcoRI,HindIII	S9E2Q6V1 OLIGO# B54 SEQ ID NO:223 S9E2Q6V3 OLIGO# B55 SEQ ID NO:224	S116VD31 OLIGO# B52 SEQ ID NO:221 SECR1D33 OLIGO# B53 SEQ ID NO:222		15-119,23A,42D, 46S,50D,112Q	폴리펩티드 B26 SEQ ID NO:289
실시예 96	pMON13378 SEQ ID NO:358	pMON13365/ EcoRI,HindIII	S09E16V1 OLIGO# B50 SEQ ID NO:219 S09E16V3 OLIGO# B51 SEQ ID NO:220	S116VD31 OLIGO# B52 SEQ ID NO:221 SECR1D33 OLIGO# B53 SEQ ID NO:222		15-119,23A	폴리펩티드 B27 SEQ ID NO:290
실시예 97	pMON13379 SEQ ID NO:359	pMON13367/ EcoRI,HindIII	9E12Q6V1 OLIGO# B48 SEQ ID NO:217 9E12Q6V3 OLIGO# B49 SEQ ID NO:218	12DQ123E2 OLIGO# 49 SED ID NO:63 12DQ123E4 OLIGO# 50 SED ID NO:64		46S,50D,112Q	폴리펩티드 B28 SEQ ID NO:291
실시예 98	pMON13385 SEQ ID NO:360	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18125H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18125H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29V32R34S2 OLIGO# B28 SED ID NO:197 29V32R34S5 OLIGO# B29 SED ID NO:198	42A45V3 OLIGO# 9 SEQ ID NO:23 42A45V6 OLIGO# 10 SEQ ID NO:24	29V,32R,34S	폴리펩티드 B29 SEQ ID NO:292
실시예 99	pMON13381 SEQ ID NO:361	pMON13287/ NsiI,EcoRI	73G76A1 OLIGO# 41 SEQ ID NO:55 73G76A4 OLIGO# 42 SEQ ID NO:56	82TRP2 OLIGO# B44 SEQ ID NO:213 82TRP5 OLIGO# B45 SEQ ID NO:214	87593S98I3 OLIGO# 35 SEQ ID NO:49 87593S98I7 OLIGO# 36 SEQ ID NO:50	82W	폴리펩티드 B30 SEQ ID NO:293

표 8계속

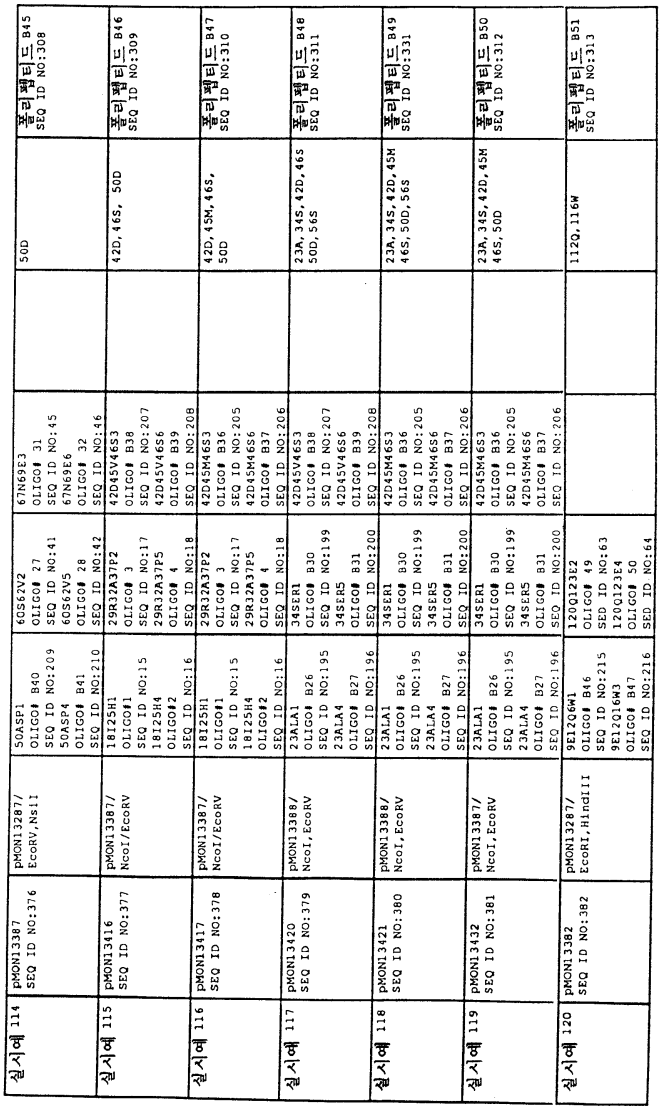
실시예 100	pMON13383 SEQ ID NO:362	pMON13475/ EcoR1,HindIII	9E12Q6V1 OLIGO# B48 SEQ ID NO:217 9E12Q6V5 OLIGO# B49 SEQ ID NO:218	120Q123E2 OLIGO# 49 SED ID NO:63 120Q123E4 OLIGO# 50 SED ID NO:64			23A,42D,46S,50D 112Q	폴리펩티드 B31 SEQ ID NO:294
실시예 101	pMON13384 SEQ ID NO:363	pMON13287/ EcoR1,HindIII	9E12Q6V1 OLIGO# B48 SEQ ID NO:217 9E12Q6V5 OLIGO# B49 SEQ ID NO:218	120Q123E2 OLIGO# 49 SED ID NO:63 120Q123E4 OLIGO#50 SED ID NO:64			112Q	폴리펩티드 B32 SEQ ID NO:295
실시예 102	pMON13388 SEQ ID NO:364	pMON13287/ EcoRV,NsiI	50D56S1 OLIGO# B42 SEQ ID NO:211 50A5P4 OLIGO# B41 SEQ ID NO:210	60S62V2 OLIGO# 27 SEQ ID NO:41 56SER5 OLIGO# B43 SEQ ID NO:212	67N69E3 OLIGO# 31 SEQ ID NO:45 67N69E6 OLIGO# 32 SEQ ID NO:46		50D,56S	폴리펩티드 B33 SEQ ID NO:296
실시예 103	pMON13389 SEQ ID NO:365	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18I25H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45M3 OLIGO# B32 SEQ ID NO:201 42D45M6 OLIGO# B33 SEQ ID NO:202		42D,45M	폴리펩티드 B34 SEQ ID NO:297
실시예 104	pMON13391 SEQ ID NO:366	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18I25H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	34SER1 OLIGO# B30 SEQ ID NO:199 34SER5 OLIGO# B31 SEQ ID NO:200	42A45V3 OLIGO# 9 SEQ ID NO:23 42A45V6 OLIGO# 10 SEQ ID NO:24		34S	폴리펩티드 B35 SEQ ID NO:298
실시예 105	pMON13392 SEQ ID NO:367	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18I25H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45V3 OLIGO# B34 SEQ ID NO:203 42D45V6 OLIGO# B35 SEQ ID NO:204		42D	폴리펩티드 B36 SEQ ID NO:299
실시예 106	pMON13393 SEQ ID NO:368	pMON13287/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	34SER1 OLIGO# B30 SEQ ID NO:199 34SER5 OLIGO# B31 SEQ ID NO:200	42D45M46S3 OLIGO# B36 SEQ ID NO:205 42D45M46S6 OLIGO# B37 SEQ ID NO:206		23A,34S,42D,45M 46S	폴리펩티드 B37 SEQ ID NO:300

표 8계속



실시예 107	pMON13394 SEQ ID NO:369	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18I25H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45M46S3 OLIGO# B36 SEQ ID NO:205 42D45M46S6 OLIGO# B37 SEQ ID NO:206		42D,45M,46S	폴리펩티드 B38 SEQ ID NO:301
실시예 108	pMON13395 SEQ ID NO:370	pMON13287/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	29V32R34S2 OLIGO# B28 SED ID NO:197 29V32R34S5 OLIGO# B29 SED ID NO:198	42D45V46S3 OLIGO# B38 SEQ ID NO:207 42D45V46S6 OLIGO# B39 SEQ ID NO:208		23A,29V,32R,34S 42D,46S	폴리펩티드 B39 SEQ ID NO:302
실시예 109	pMON13396 SEQ ID NO:371	pMON13287/ NsiI,EcoRI	73G76A1 OLIGO# 41 SEQ ID NO:55 73G76A4 OLIGO# 42 SEQ ID NO:56	79R82Q2 OLIGO# 39 SEQ ID NO:53 79R82Q5 OLIGO# 40 SEQ ID NO:54	100ARG3 SEQ ID NO: 87S93S98I7 OLIGO# 36 SEQ ID NO:50	100MET4 OLIGO# B24 SEQ ID NO:193 10R01M8 OLIGO# B25 SEQ ID NO:194	100R,101M	폴리펩티드 B40 SEQ ID NO:303
실시예 110	pMON13397 SEQ ID NO:372	pMON13287/ NsiI,EcoRI	73G76A1 OLIGO# 41 SEQ ID NO:55 73G76A4 OLIGO# 42 SEQ ID NO:56	82TRP2 OLIGO# B44 SEQ ID NO:213 82TRP5 OLIGO# B45 SEQ ID NO:214	100ARG3 OLIGO# B22 SEQ ID NO:191 87S93S98I7 OLIGO# 36 SEQ ID NO:50	100MET4 OLIGO# B24 SEQ ID NO:193 10R01M8 OLIGO# B25 SEQ ID NO:194	82W,100R,101M	폴리펩티드 B41 SEQ ID NO:304
실시예 111	pMON13398 SEQ ID NO:373	pMON13287/ NcoI,EcoRV	18I25H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18I25H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45V46S3 OLIGO# B38 SEQ ID NO:207 42D45V46S6 OLIGO# B39 SEQ ID NO:208		42D,46S	폴리펩티드 B42 SEQ ID NO:305
실시예 112	pMON13399 SEQ ID NO:374	pMON13388/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	29V32R34S2 OLIGO# B28 SED ID NO:197 29V32R34S5 OLIGO# B29 SED ID NO:198	42D45V46S3 OLIGO# B38 SEQ ID NO:207 42D45V46S6 OLIGO# B39 SEQ ID NO:208		23A,29V,32R,34S 42D,46S	폴리펩티드 B43 SEQ ID NO:306
실시예 113	pMON13404 SEQ ID NO:375	pMON13287/ EcoRI,HindIII	S9E2Q6V1 OLIGO# B54 SEQ ID NO:223 S9E2Q6V3 OLIGO# B55 SEQ ID NO:224	S116VD31 OLIGO# B52 SEQ ID NO:221 S6CR1D33 OLIGO# 53 SEQ ID NO:222			15-119 112Q	폴리펩티드 B44 SEQ ID NO:307

표 8계속



실시예 114	pMON13387 SEQ ID NO:376	pMON13287/ EcoRV,NsiI	50ASP1 OLIGO# B40 SEQ ID NO:209 50ASP4 OLIGO# B41 SEQ ID NO:210	6GS62V2 OLIGO# 27 SEQ ID NO:41 6GS62V5 OLIGO# 28 SEQ ID NO:42	67N69E3 OLIGO# 31 SEQ ID NO:45 67N69E6 OLIGO# 32 SEQ ID NO:46	50D	폴리펩티드 B45 SEQ ID NO:308
실시예 115	pMON13416 SEQ ID NO:377	pMON13387/ NcoI/EcoRV	18125H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18125H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45V46S3 OLIGO# B38 SEQ ID NO:207 42D45V46S6 OLIGO# B39 SEQ ID NO:208	42D,46S, 50D	폴리펩티드 B46 SEQ ID NO:309
실시예 116	pMON13417 SEQ ID NO:378	pMON13387/ NcoI/EcoRV	18125H1 OLIGO#1 SEQ ID NO:15 18125H4 OLIGO#2 SEQ ID NO:16	29R32A37P2 OLIGO# 3 SEQ ID NO:17 29R32A37P5 OLIGO# 4 SEQ ID NO:18	42D45M46S3 OLIGO# B36 SEQ ID NO:205 42D45M46S6 OLIGO# B37 SEQ ID NO:206	42D,45M,46S, 50D	폴리펩티드 B47 SEQ ID NO:310
실시예 117	pMON13420 SEQ ID NO:379	pMON13388/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	34SER1 OLIGO# B30 SEQ ID NO:199 34SER5 OLIGO# B31 SEQ ID NO:200	42D45V46S3 OLIGO# B38 SEQ ID NO:207 42D45V46S6 OLIGO# B39 SEQ ID NO:208	23A,34S,42D,46S 50D,56S	폴리펩티드 B48 SEQ ID NO:311
실시예 118	pMON13421 SEQ ID NO:380	pMON13388/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	34SER1 OLIGO# B30 SEQ ID NO:199 34SER5 OLIGO# B31 SEQ ID NO:200	42D45M46S3 OLIGO# B36 SEQ ID NO:205 42D45M46S6 OLIGO# B37 SEQ ID NO:206	23A,34S,42D,45M 46S,50D,56S	폴리펩티드 B49 SEQ ID NO:331
실시예 119	pMON13432 SEQ ID NO:381	pMON13387/ NcoI,EcoRV	23ALA1 OLIGO# B26 SEQ ID NO:195 23ALA4 OLIGO# B27 SEQ ID NO:196	34SER1 OLIGO# B30 SEQ ID NO:199 34SER5 OLIGO# B31 SEQ ID NO:200	42D45M46S3 OLIGO# B36 SEQ ID NO:205 42D45M46S6 OLIGO# B37 SEQ ID NO:206	23A,34S,42D,45M 46S,50D	폴리펩티드 B50 SEQ ID NO:312
실시예 120	pMON13382 SEQ ID NO:382	pMON13287/ EcoRI,HindIII	9E12G6W1 OLIGO# B46 SEQ ID NO:215 9E12Q16W3 OLIGO# B47 SEQ ID NO:216	12DQ123E2 OLIGO# 49 SED ID NO:63 12DQ123E4 OLIGO# 50 SED ID NO:64		112Q,116W	폴리펩티드 B51 SEQ ID NO:313

표 9

실시예 No.	플라스미드	모플라스미드/제한분해	올리고쌍	올리고쌍	올리고쌍	올리고쌍	아미노산 변화	폴리펩티드
실시예 124	pMON13400 SEQ ID NO:384	pMON13288 제한 NcoI-EcoRV	20P23A1 SEQ ID NO:232 20P23A4 SEQ ID NO:233	29I4S7S2 SEQ ID NO:236 29I4S7S5 SEQ ID NO:237	38A5V6S3 SEQ ID NO:238 38A5V6S3 SEQ ID NO:239		20P 23A 29I 34S 37S 38A 45V 46S	폴리펩티드 C-2 SEQ ID NO:317
실시예 125	pMON13402 SEQ ID NO:385	pMON13288 제한 NcoI-EcoRV	23L1 SEQ ID NO:234 23L4 SEQ ID NO:235	29I4S7S2 SEQ ID NO:236 29I4S7S5 SEQ ID NO:237	38A5V6S3 SEQ ID NO:238 38A5V6S3 SEQ ID NO:239		23L 29I 34S 37S 38A 45V 46S	폴리펩티드 C-3 SEQ ID NO:318
실시예 131	pMON13440 SEQ ID NO:386	pMON13288 제한 NcoI-EcoRV	18I3A5H1 SEQ ID NO:195 18I3A5I14 SEQ ID NO:196	29I4S7S2 SEQ ID NO:236 29I4S7S5 SEQ ID NO:237	38A5V6S3 SEQ ID NO:238 38A5V6S3 SEQ ID NO:239		18I 23A 25H 29I 34S 37S 38A 45V 46S	폴리펩티드 C-10 SEQ ID NO:319
실시예 132	pMON13451 SEQ ID NO:387	pMON13288 제한 NcoI-EcoRV	19I0L3A1 SEQ ID NO:230 19I0L3A4 SEQ ID NO:231	29I4S7S2 SEQ ID NO:236 29I4S7S5 SEQ ID NO:237	38A5V6S3 SEQ ID NO:238 38A5V6S3 SEQ ID NO:239		19I 20L 23A 29I 34S 37S 38A 45V 46S	폴리펩티드 C-11 SEQ ID NO:320
실시예 130	pMON13419 SEQ ID NO:389	pMON13288 제한 EcoRV-NsiI	50D61S1 SEQ ID NO:240 50D61S4 SEQ ID NO:241	62P3H5S2 SEQ ID NO:244 62P3H5 SEQ ID NO:246	67Q3 SEQ ID NO:248 65S67Q6 SEQ ID NO:247		50D 61S 62P 63H 65S 67Q	폴리펩티드 C-8 SEQ ID NO:325
실시예 126	pMON13403 SEQ ID NO:388	pMON13288 제한 EcoRV-NsiI	50D61S1 SEQ ID NO:240 50D61S4 SEQ ID NO:241	62P3H2 SEQ ID NO:245 62P3H5 SEQ ID NO:246	67Q3 SEQ ID NO:248 67Q6 SEQ ID NO:249		50D 61S 62P 63H 67Q	폴리펩티드 C-4 SEQ ID NO:321

표 9

실시예 123	pMON13418 SEQ ID NO:393	pMON13288 제한 NsiI-EcoRI	76P1 SEQ ID NO:250 76P5 SEQ ID NO:251	76S2 SEQ ID NO:252 76S6 SEQ ID NO:253	5YYWPTT3 SEQ ID NO:242 5YYWPTT7 SEQ ID NO:243	101A105Q4 SEQ ID NO:57 101A105Q8 SEQ ID NO:58	76P 79S 85V 87Y 88W 91P 95T 96T	폴리 펩티드 C-1 SEQ ID NO:326
실시예 127	pMON13411 SEQ ID NO:390	pMON13288 제한 EcoRI-HindIII	09L2Q6S1 Seq ID NO:227 09L2Q6S3 SEQ ID NO:228	120Q123E2 SEQ ID NO:63 120Q123E4 SEQ ID NO:64			106L 112Q 116S	폴리 펩티드 C-5 SEQ ID NO:322
실시예 128	pMON13412 SEQ ID NO:391	pMON13288 제한 EcoRI-HindIII	9LQS1181 Seq ID NO:255 9LQS1183 SEQ ID NO:256				15-118 106L 112Q 116S	폴리 펩티드 C-6 SEQ ID NO:323
실시예 129	pMON13413 SEQ ID NO:392	pMON13288 제한 EcoRI-HindIII	09L2Q6S1 Seq ID NO:227 09L2Q6S3 SEQ ID NO :228	117S2 SEQ ID NO:229 120Q123E4 SEQ ID NO:64			106L 112Q 116S 117S	폴리 펩티드 C-7 SEQ ID NO:324

표 10

실시예 No	플라스미드	모플라스미드/제한분해	제한단편	아미노산변화	폴리펩티드
실시예 133	pMON13428 SEQ ID NO:394	pMON13411 NsiI-EcoRI	102 bp NsiI-EcoRI 단편 pMON13418	76P 79S 85V 87Y 91P 95T 98T 109L 112Q 116S	폴리펩티드 C-9 SEQ ID NO:327
실시예 134	pMON13459 SEQ ID NO:395	pMON13428 NcoI-NsiI	170 bp NcoI-NsiI 단편 pMON13402	23L 29I 34S 37S 38A 45V 46S 76P 79S 85V 87Y 91P 95T 98T 109L 112Q 116S	폴리펩티드 C-12 SEQ ID NO:328
실시예 135	pMON13467 SEQ ID NO:396	pMON13413 NcoI-NsiI	170 bp NcoI-NsiI 단편 pMON13402	23L 29I 34S 37S 38A 45V 46S 109L 112Q 116S 109L 112Q 116S 117S	폴리펩티드 C-13 SEQ ID NO:329
실시예 136	pMON13492 SEQ ID NO:397	pMON13418 NcoI-NsiI	170 bp NcoI-NsiI 단편 pMON13402	23L 29I 34S 37S 38A 45V 46S 76P 79S 85V 87Y 91P 95T 98T	폴리펩티드 C-14 SEQ ID NO:330

(57) 청구의 범위

청구항 1.

하기 식 I의 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드에서, 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 을 가질 수 있고, 말단으로부터 1내지14아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C- 말단으로 부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있고, X aa 에 의해 표시되는 아미노산 중 4내지 44 가 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 것을 특징으로 하는 폴리펩티드:

Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
1 5 10 15

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
50 55 60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
65 70 75

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
80 85 90

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
95 100 105

Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
110 115 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID
125 130

NO:15]

여기서 위치 17의 Xaa 는 Ser, Lys, Gly, Asp, Met, Gln, 또는 Arg;

위치 18의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;

위치 19의 Xaa 는 Met, Phe, Ile, Arg, Gly, Ala, 또는 Cys;

위치 20의 Xaa 는 Ile, Cys, Gln, Glu, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 21의 Xaa 는 Asp, Phe, Lys, Arg, Ala, Gly, Glu, Gln, Asn, Thr, Ser 또는 Val;

위치 22의 Xaa 는 Glu, Trp, Pro, Ser, Ala, His, Asp, Asn, Gln, Leu, Val 또는 Gly;

위치 23의 Xaa 는 Ile, Val, Ala, Leu, Gly, Trp, Lys, Phe, Leu, Ser, 또는 Arg;

위치 24의 Xaa 는 Ile, Gly, Val, Arg, Ser, Phe, 또는 Leu;

위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;

위치 26의 Xaa 는 His, Thr, Phe, Gly, Arg, Ala, 또는 Trp;

위치 27의 Xaa 는 Leu, Gly, Arg, Thr, Ser, 또는 Ala;

위치 28의 Xaa 는 Lys, Arg, Leu, Gln, Gly, Pro, Val 또는 Trp;

위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Pro, Arg, 또는 Val;

위치 30의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, Asp, Gln, Ser, Leu, 또는 Lys;

위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;

위치 32의 Xaa 는 Leu, Val, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;

위치 33의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala, Thr, 또는 Glu;

위치 34의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Glu, Gln, Thr, Arg, Ala, Phe, Ile or Met;

위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Gly, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;

위치 36의 Xaa 는 Asp, Leu, 또는 Val;

위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;

위치 38의 Xaa 는 Asn, 또는 Ala;

위치 40의 Xaa 는 Leu, Trp, 또는 Arg;

위치 41의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, Leu, His, Met, 또는 Pro;

위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Asn, Lys, Thr, Leu, Val, Glu, Phe, Tyr, Ile, Met 또는 Ala;

위치 43의 Xaa 는 Glu, Asn, Tyr, Leu, Phe, Asp, Ala, Cys, Gln, Arg, Thr, Gly 또는 Ser;

위치 44의 Xaa 는 Asp, Ser, Leu, Arg, Lys, Thr, Met, Trp, Glu, Asn, Gln,

Ala또는Pro;

위치 45의 Xaa 는 Gln, Pro, Phe, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Trp, Asp, Asn,
Arg, Ser, Ala, Ile, Glu또는His;

위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Glu, Asn, Gln, Lys, His, Ala,
Tyr, Ile, Val또는Gly;

위치 47의 Xaa 는 Ile, Gly, Val, Ser, Arg, Pro,또는 His;

위치 48의 Xaa 는 Leu, Ser, Cys, Arg, Ile, His, Phe, Glu, Lys, Thr, Ala,
Met, Val또는Asn;

위치 49의 Xaa 는 Met, Arg, Ala, Gly, Pro, Asn, His,또는 Asp;

위치 50의 Xaa 는 Glu, Leu, Thr, Asp, Tyr, Lys, Asn, Ser, Ala, Ile, Val,
His, Phe, Met또는 Gln;

위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr,또는 His;

위치 52의 Xaa 는 Asn, His, Arg, Leu, Gly, Ser,또는 Thr;

위치 53의 Xaa 는 Leu, Thr, Ala, Gly, Glu, Pro, Lys, Ser, 또는 Met;

위치 54의 Xaa 는 Arg, Asp, Ile, Ser, Val, Thr, Gln, Asn, Lys, His, Ala또는Leu;

위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Ser, Leu,또는 Gly;

위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Glu, Arg, His, Thr, Ala, Tyr, Phe, Leu, Val또는Lys;

위치 57의 Xaa 는 Asn또는Gly;

위치 58의 Xaa 는 Leu, Ser, Asp, Arg, Gln, Val,또는 Cys;

위치 59의 Xaa 는 Glu Tyr, His, Leu, Pro, 또는Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ala, Ser, Pro, Tyr, Asn,또는 Thr;

위치 61의 Xaa 는 Phe, Asn, Glu, Pro, Lys, Arg,또는 Ser;

위치 62의 Xaa 는 Asn His, Val, Arg, Pro, Thr, Asp,또는 Ile;

위치 63의 Xaa 는 Arg, Tyr, Trp, Lys, Ser, His, Pro,또는 Val;

위치 64의 Xaa 는 Ala, Asn, Pro, Ser,또는 Lys;

위치 65의 Xaa 는 Val, Thr, Pro, His, Leu, Phe,또는 Ser;

위치 66의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu,또는 Ser;

위치 67의 Xaa 는 Ser, Ala, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, Pro, 또는 His;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Val, Trp, Ser, Ile, Phe, Thr,또는 His;

위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, Trp, Gly, 또는 Leu;
위치 70의 Xaa 는 Asn, Leu, Val, Trp, Pro,또는 Ala;
위치 71의 Xaa 는 Ala, Met, Leu, Pro, Arg, Glu, Thr, Gln, Trp,또는 Asn;
위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg,또는 Asp;
위치 73의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr,또는 Arg;
위치 74의 Xaa 는 Ile, Met, Thr, Pro, Arg, Gly, Ala;
위치 75의 Xaa 는 Glu, Lys, Gly, Asp, Pro, Trp, Arg, Ser, Gln,또는 Leu;
위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Trp, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;
위치 77의 Xaa 는 Ile, Ser, Arg, Thr,또는 Leu;
위치 78의 Xaa 는 Leu, Ala, Ser, Glu, Phe, Gly,또는 Arg;
위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;
위치 80의 Xaa 는 Asn, Trp, Val, Gly, Thr, Leu, Glu,또는 Arg;
위치 81의 Xaa 는 Leu, Gln, Gly, Ala, Trp, Arg, Val,또는 Lys;
위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Lys, Trp, Arg, Asp, Glu, Asn, His, Thr, Ser, Ala, Tyr, Phe, Ile, Met또는 Val;
위치 83의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp, Arg,또는 Met;
위치 84의 Xaa 는 Cys, Glu, Gly, Arg, Met,또는 Val;
위치 85의 Xaa 는 Leu, Asn, Val,또는 Gln;
위치 86의 Xaa 는 Pro, Cys, Arg, Ala,또는 Lys;
위치 87의 Xaa 는 Leu, Ser, Trp,또는 Gly;
위치 88의 Xaa 는 Ala, Lys, Arg, Val,또는 Trp;
위치 89의 Xaa 는 Thr, Asp, Cys, Leu, Val, Glu, His, Asn, 또는 Ser;
위치 90의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Asp, Ile,또는 Met;
위치 91의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu, Asp,또는 His;
위치 92의 Xaa 는 Pro, Phe, Arg, Ser, Lys, His, Ala, Gly, Ile 또는 Leu;
위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Asn, Pro, Ala, Leu,또는 Arg;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Ile, Ser, Glu, Leu, Val, Gln, Lys, His, Ala, 또는 Pro;
위치 95의 Xaa 는 His, Gln, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Thr, Asn,

Lys, Ser,
Ala, Trp, Phe, Ile,또는 Tyr;
위치 96의 Xaa 는 Pro, Lys, Tyr, Gly, Ile,또는 Thr;
위치 97의 Xaa 는 Ile, Val, Lys, Ala,또는 Asn;
위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr,
Glu, Gln, Ser, Phe, Met, Val, Lys, Arg, Tyr 또는 Pro;
위치 99의 Xaa 는 Ile, Leu, Arg, Asp, Val, Pro, Gln,
Gly, Ser, Phe,또는 His;
위치 100의 Xaa 는 Lys, Tyr, Leu, His, Arg, Ile, Ser, Gln,
또는 Pro;
위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val,
Tyr, Glu, Asn, Ser, Ala, Gly, Ile, Leu,또는 Gln;
위치 102의 Xaa 는 Gly, Leu, Glu, Lys, Ser, Tyr,또는 Pro;
위치 103의 Xaa 는 Asp,또는 Ser;
위치 104의 Xaa 는 Trp, Val, Cys, Tyr, Thr, Met, Pro, Leu,
Gln, Lys, Ala, Phe,또는 Gly;
위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr,
Leu, Lys, Ile, Asp,또는 His;
위치 106의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala, Lys, Thr, Ile, Gly,또는 Pro;
위치 108의 Xaa 는 Arg, Lys, Asp, Leu, Thr, Ile, Gln, His, Ser,
Ala 또는
Pro;
위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Pro, Glu, Tyr, Leu, Ser,또는 Gly;
위치 110의 Xaa 는 Lys, Ala, Asn, Thr, Leu, Arg, Gln, His, Glu,
Ser, Ala,
또는 Trp;
위치 111의 Xaa 는 Leu, Ile, Arg, Asp,또는 Met;
위치 112의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Tyr, Glu, His, Ser,또는 Phe;
위치 113의 Xaa 는 Phe, Ser, Cys, His, Gly, Trp, Tyr, Asp,
Lys, Leu, Ile, Val또는 Asn;
위치 114의 Xaa 는 Tyr, Cys, His, Ser, Trp, Arg,또는 Leu;
위치 115의 Xaa 는 Leu, Asn, Val, Pro, Arg, Ala, His, Thr,
Trp,또는 Met;
위치 116의 Xaa 는 Lys, Leu, Pro, Thr, Met, Asp, Val, Glu,
Arg, Trp, Ser, Asn, His, Ala, Tyr, Phe, Gln,또는 Ile;
위치 117의 Xaa 는 Thr, Ser, Asn, Ile, Trp, Lys,또는 Pro;
위치 118의 Xaa 는 Leu, Ser, Pro, Ala, Glu, Cys, Asp,또는 Tyr;

위치 119의 Xaa 는 Glu, Ser, Lys, Pro, Leu, Thr, Tyr,또는 Arg;
위치 120의 Xaa 는 Asn, Ala, Pro, Leu, His, Val,또는 Gln;
위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는
Gly;
위치 122의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His,
Ile, Tyr,또는 Cys;
위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr,또는 Leu;

청구항 2.

하기 식II의 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드에서, 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 을 가질 수 있고, N-말단으로부터 1내지14아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C- 말단으로부터 1 내지 15 아미노산이 결실될 수 있고, Xaa 에 의해 표시되는 아미노산 중 4 내지 44 가 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 것을 특징으로 하는 폴리펩티드:

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1               5   10                  15

Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa
            20   25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Glu Xaa Xaa
            35   40                  45

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa
            50   55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            65   70                  75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa
            80   85                  90
```

Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa
95 100 105

Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
110 115 120
Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:16]
125 130

여기서
위치 17의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, Met,또는Gln;
위치 18의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg,또는 Gln;
위치 19의 Xaa 는 Met, Phe, Ile, Arg,또는 Ala;
위치 20의 Xaa 는 Ile또는Pro;
위치 21의 Xaa 는 Asp또는 Glu;
위치 23의 Xaa 는 Ile, Val, Ala, Leu,또는 Gly;
위치 24의 Xaa 는 Ile, Val, Phe,또는 Leu;
위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro,또는 Ala;
위치 26의 Xaa 는 His, Phe, Gly, Arg,또는 Ala;
위치 28의 Xaa 는 Lys, Leu, Gln, Gly, Pro,또는 Val;
위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Arg,또는 Val;
위치 30의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly,또는Gln;
위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu,또는Gln;
위치 32의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala,또는Glu;
위치 33의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala,또는Glu;
위치 34의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr또는Met;
위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln,또는 Val;
위치 36의 Xaa 는 Asp또는Leu;
위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp,또는 Ile;
위치 38의 Xaa 는 Asn또는Ala;
위치 41의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, His, Met,또는 Pro;
위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr, Val또는Arg;
위치 44의 Xaa 는 Asp또는Glu;
위치 45의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Ala, Asn, Glu, Ser,또는Trp;
위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Ala, Asn, Gln, Glu,

His, Ile, Lys, Tyr, Val또는 Gly;

위치 47의 Xaa 는 Ile, Val, 또는 His;

위치 49의 Xaa 는 Met, Asn, 또는 Asp;

위치 50의 Xaa 는 Glu, Thr, Ala, Asn, Ser또는 Asp;

위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;

위치 52의 Xaa 는 Asn 또는 Gly;

위치 53의 Xaa 는 Leu, Met, 또는 Phe;

위치 54의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;

위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는 Gly;

위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, His, Leu,

Thr, Val또는 Lys;

위치 59의 Xaa 는 Glu, Tyr, His, Leu, 또는 Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ala, Ser, Asn, 또는 Thr;

위치 61의 Xaa 는 Phe또는 Ser;

위치 62의 Xaa 는 Asn, Val, Pro, Thr, 또는 Ile;

위치 63의 Xaa 는 Arg, Tyr, Lys, Ser, His, 또는 Val;

위치 64의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;

위치 65의 Xaa 는 Val, Thr, Leu, 또는 Ser;

위치 66의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu, 또는 Ser;

위치 67의 Xaa 는 Ser, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, 또는 His;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Val, Ile, Phe, 또는 His;

위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;

위치 70의 Xaa 는 Asn 또는 Pro;

위치 71의 Xaa 는 Ala, Met, Pro, Arg, Glu, Thr, 또는 Gln;

위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;

위치 73의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, Arg, 또는 Pro;

위치 74의 Xaa 는 Ile 또는 Met;

위치 75의 Xaa 는 Glu, Gly, Asp, Ser, 또는 Gln;

위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;

위치 77의 Xaa 는 Ile, Ser, 또는 Leu;

위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 80의 Xaa 는 Asn, Val, Gly, Thr, Leu, Glu, 또는 Arg;

위치 81의 Xaa 는 Leu, 또는 Val;

위치 82의 Xaa 는 is Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr또는Val;

위치 83의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp,또는 Met;

위치 85의 Xaa 는 Leu또는Val;

위치 87의 Xaa 는 Leu또는Ser;

위치 88의 Xaa 는 Ala, Arg,또는 Trp;

위치 89의 Xaa 는 Thr, Asp, Glu, His, Asn,또는 Ser;

위치 90의 Xaa 는 Ala, Asp,또는 Met;

위치 91의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu,또는 Asp;

위치 92의 Xaa 는 Pro또는Ser;

위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu,또는 Arg;

위치 95의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Ile, Phe, Ser또는Thr;

위치 96의 Xaa 는 Pro또는Tyr;

위치 97의 Xaa 는 Ile, Val,또는 Ala;

위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Pro;

위치 99의 Xaa 는 Ile, Leu, Val,또는 Phe;

위치 100의 Xaa 는 Lys, Leu, His, Arg, Ile, Gln, Pro,또는 Ser;

위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Asn, Ile, Leu또는Tyr;

위치 102의 Xaa 는 Gly, Glu, Lys,또는 Ser;

위치 104의 Xaa 는 Trp, Val, Tyr, Met,또는 Leu;

위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp,또는His;

위치 106의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala,또는 Gly;

위치 108의 Xaa 는 Arg, Ala, Gln, Ser또는 Lys;

위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, Ser,또는 Gly;

위치 112의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Glu, His,또는 Ser;

위치 114의 Xaa 는 Tyr 또는Trp;

위치 115의 Xaa 는 Leu또는 Ala;

위치 116의 Xaa 는 Lys, Thr, Met, Val, Trp, Ser, Leu, Ala, Asn, Gln, His, Met, Phe, Tyr또는Ile;

위치 117의 Xaa 는 Thr, Ser,또는 Asn;

위치 119의 Xaa 는 Glu, Ser, Pro, Leu, Thr,또는 Tyr;

위치 120의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val,또는 Gln;

위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는 Gly;

위치 122의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr,또는 Cys;

위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는Leu;

청구항 3.

제 2항에 있어서, 하기 식III을 갖고 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 을 가질 수 있고, N-말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C- 말단으로 부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있고, Xaa 에 의해 표시되는 아미노산중 4내지35가 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 것을 특징으로 하는 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드:

Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
1 5 10 15

Cys Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Lys Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Xaa Xaa
35 40 45

Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Xaa Asn Leu Glu Xaa
50 55 60

Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ile Glu
65 70 75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr Ala
80 85 90

Xaa Pro Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Xaa Xaa
95 100 105

Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Glu Xaa
110 115 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:17]
125 130

여기서

위치 17의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는Gln;

위치 18의 Xaa 는 Asn, His, 또는Ile;

위치 19의 Xaa 는 Met 또는Ile;

위치 21의 Xaa 는 Asp 또는Glu;

위치 23의 Xaa 는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 24의 Xaa 는 Ile, Val, 또는Leu;

위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gln, 또는Ala;

위치 26의 Xaa 는 His또는 Ala;

위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, 또는 Val;

위치 30의 Xaa 는 Pro, Gly, 또는 Gln;

위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, 또는Gln;

위치 32의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;

위치 33의 Xaa 는 Pro또는Glu;

위치 34의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr또는Met;

위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;

위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, 또는Trp;

위치 38의 Xaa 는 Asn또는 Ala;

위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr또는Arg;

위치 44의 Xaa 는 Asp 또는Glu;

위치 45의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Ala, Asn, Glu, Ser 또는Lys;

위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Ala, Asn Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val또는Cys;

위치 50의 Xaa 는 Glu, Ala, Asn, Ser또는Asp;

위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는His;

위치 54의 Xaa는 Arg또는 Ala;

위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는Gly;

위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, Leu, Thr, Val 또는 Lys;

위치 60의 Xaa 는 Ala 또는 Ser;

위치 62의 Xaa 는 Asn, Pro, Thr, 또는 Ile;

위치 63의 Xaa 는 Arg 또는 Lys;

위치 64의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;

위치 65의 Xaa 는 Val 또는 Thr;

위치 66의 Xaa 는 Lys 또는 Arg;

위치 67의 Xaa 는 Ser, Phe, 또는 His;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Ile, Phe, 또는 His;

위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;

위치 71의 Xaa 는 Ala, Pro, 또는 Arg;

위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Arg, 또는 Asp;

위치 73의 Xaa 는 Ala 또는 Leu;

위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, 또는 Gly;

위치 77의 Xaa 는 Ile 또는 Leu;

위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 80의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu, 또는 Arg;

위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Ile, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;

위치 83의 Xaa 는 Pro 또는 Thr;

위치 85의 Xaa 는 Leu 또는 Val;

위치 87의 Xaa 는 Leu 또는 Ser;

위치 88의 Xaa 는 Ala 또는 Trp;

위치 91의 Xaa 는 Ala 또는 Pro;

위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;

위치 95의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Phe, Ser 또는 Thr;

위치 96의 Xaa 는 Pro 또는 Tyr;

위치 97의 Xaa 는 Ile 또는 Val;

위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Leu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Pro;

위치 99의 Xaa 는 Ile, Leu, 또는 Val;

위치 100의 Xaa 는 Lys, Arg, Ile, Gln, Pro, 또는 Ser;

위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Pro, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;

위치 104의 Xaa 는 Trp 또는 Leu;
위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 106의 Xaa 는 Glu 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는 Ser;
위치 112의 Xaa 는 Thr, Val, 또는 Gln;
위치 114의 Xaa 는 Tyr 또는 Trp;
위치 115의 Xaa 는 Leu 또는 Ala;
위치 116의 Xaa 는 Lys, Thr, Val, Trp, Ser, Ala, His, Met, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 117의 Xaa 는 Thr 또는 Ser;
위치 120의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 121의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Asp, 또는 Gly;
위치 122의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 123의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

청구항 4.

제 3항에 있어서, 하기 식IV를 갖고 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 을 가질 수 있고, N-말단으로부터 1내지 14 아미노산이 결실될 수 있고 및/또는 C- 말단으로 부터 1내지 15 아미노산이 결실될 수 있고, Xaa 에 의해 표시되는 아미노산중 4내지 44 가 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 것을 특징으로 하는 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드:

```
Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser Trp Val Asn
 1           5   10                  15

Cys Xaa Xaa Met Ile Asp Glu Xaa Ile Xaa Xaa Leu Lys Xaa Xaa
            20  25                  30

Pro Xaa Pro Xaa Xaa Asp Phe Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa
            35  40                  45
```

Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Glu Ala
50 55 60

Phe Xaa Arg Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Asn Ala Ser Ala Ile Glu
65 70 75

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Pro Cys Leu Pro Xaa Xaa Thr Ala
80 85 90

Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Trp Xaa
95 100 105

Glu Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu Xaa Xaa Leu Glu Xaa
110 115 120

Xaa Xaa Xaa Gln Gln Thr Thr Leu Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:18]
125 130

여기서

위치 17의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, 또는 Gln;

위치 18의 Xaa는 Asn, His, 또는 Ile;

위치 23의 Xaa는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 25의 Xaa는 Thr, His, 또는 Gln;

위치 26의 Xaa는 His 또는 Ala;

위치 29의 Xaa는 Gln 또는 Asn;

위치 30의 Xaa는 Pro 또는 Gly;

위치 32의 Xaa는 Leu, Arg, Asn, 또는 Ala;

위치 34의 Xaa는 Leu, Val, Ser, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr, 또는 Met;

위치 35의 Xaa는 Leu, Ala, Asn, 또는 Pro;

위치 38의 Xaa는 Asn 또는 Ala;

위치 42의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr 또는 Arg;

위치 45의 Xaa는 Gln, Val, Met, Leu, Ala, Asn, Glu, 또는 Lys;

위치 46의 Xaa는 Asp, Phe, Ser, Gln, Glu, His, Val 또는 Thr;

위치 50의 Xaa는 Glu Asn, Ser 또는 Asp;

위치 51의 Xaa는 Asn, Arg, Pro, Thr, 또는 His;

위치 55의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Gly;
위치 56의 Xaa는 Pro, Gly, Ser, Ala, Asn, Val, Leu 또는 Gln;
위치 62의 Xaa는 Asn, Pro, 또는 Thr;
위치 64의 Xaa는 Ala 또는 Asn;
위치 65의 Xaa는 Val 또는 Thr;
위치 67의 Xaa는 Ser 또는 Phe;
위치 68의 Xaa는 Leu 또는 Phe;
위치 69의 Xaa는 Gln, Ala, Glu, 또는 Arg;
위치 76의 Xaa는 Ser, Val, Asn, Pro, 또는 Gly;
위치 77의 Xaa는 Ile 또는 Leu;
위치 79의 Xaa는 Lys, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Gly;
위치 80의 Xaa는 Asn, Gly, Glu, 또는 Arg;
위치 82의 Xaa는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;
위치 87의 Xaa는 Leu 또는 Ser;
위치 88의 Xaa는 Ala 또는 Trp;
위치 91의 Xaa는 Ala 또는 Pro;
위치 93의 Xaa는 Thr, Asp, 또는 Ala;
위치 95의 Xaa는 His, Pro, Arg, Val, Gly, Asn, Ser 또는 Thr;
위치 98의 Xaa는 His, Ile, Asn, Ala, Thr, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Leu;
위치 99의 Xaa는 Ile 또는 Leu;
위치 100의 Xaa는 Lys 또는 Arg;
위치 101의 Xaa는 Asp, Pro, Met, Lys, Thr, His, Pro, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;
위치 105의 Xaa는 Asn, Pro, Ser, Ile 또는 Asp;
위치 108의 Xaa는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 109의 Xaa는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는 Ser;
위치 112의 Xaa는 Thr 또는 Gln;
위치 116의 Xaa는 Lys, Val, Trp, Ala, His, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 117의 Xaa는 Thr 또는 Ser;
위치 120의 Xaa는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 121의 Xaa는 Ala, Ser, Ile, Pro, 또는 Asp;
위치 122의 Xaa는 Gln, Met, Trp, Phe, Pro, His, Ile, 또는 Tyr;
위치 123의 Xaa는 Ala, Met, Glu, Ser, 또는 Leu;

청구항 5.

제 1항에 있어서, C-말단으로부터 1-15 아미노산이 결실되고 및/또는 N- 말단으로부터 1-14 아미노산이 결실되는 것을 특징으로 하는 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드.

청구항 6.

제 1항에 있어서,

위치 42의 Xaa는 Gly, Asp, Ser, Ile, Leu, Met, Tyr, 또는 Ala;
위치 45의 Xaa는 Gln, Val, Met 또는 Asn;
위치 46의 Xaa는 Asp, Ser, Gln, His 또는 Val;
위치 50의 Xaa는 Glu 또는 Asp;
위치 51의 Xaa는 Asn, Pro 또는 Thr;
위치 62의 Xaa는 Asn 또는 Pro;
위치 76의 Xaa는 Ser, 또는 Pro;
위치 82의 Xaa는 Leu, Trp, Asp, Asn Glu, His, Phe, Ser 또는 Tyr;
위치 95의 Xaa는 His, Arg, Thr, Asn 또는 Ser;
위치 98의 Xaa는 His, Ile, Leu, Ala, Gln, Lys, Met, Ser, Tyr 또는 Val;
위치 100의 Xaa는 Lys 또는 Arg;
위치 101의 Xaa는 Asp, Pro, His, Asn, Ile 또는 Leu;
위치 105의 Xaa는 Asn, 또는 Pro;
위치 108의 Xaa는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 116의 Xaa는 Lys, Val, Trp, Ala, His, Phe, 또는 Tyr;
위치 121의 Xaa는 Ala, 또는 Ile;
위치 122의 Xaa는 Gln, 또는 Ile; and
위치 123의 Xaa는 Ala, Met 또는 Glu.

인 것을 특징으로 하는 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드.

청구항 7.

하기 식 V 의 (15-125) 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드에서, 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala- 을 가질 수 있고, Xaa 에 의해 표시된 아미노산의 4 내지 44 가 (1-133)사람 인터류킨-3의 대응하는 천연 아미노산과 다른 폴리펩티드, 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드 :

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1               5   10                  15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            20  25                  30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            35  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            50  55                  60

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            65  70                  75

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            80  85                  90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
            95 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:19]
           110
```

어기서

위치 3의 Xaa는 Ser, Lys, Gly, Asp, Met, Gln, 또는Arg;
위치 4의 Xaa는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는Gln;
위치 5의 Xaa는 Met, Phe, Ile, Arg, Gly, Ala, 또는Cys;
위치 6의 Xaa는 Ile, Cys, Gln, Glu, Arg, Pro, 또는Ala;
위치 7의 Xaa는 Asp, Phe, Lys, Arg, Ala, Gly, Glu, Gln, Asn, Thr, Ser또는Val;
위치 8의 Xaa는 Glu, Trp, Pro, Ser, Ala, His, Asp, Asn, Gln, Leu, Val, 또는Gly;
위치 9의 Xaa는 Ile, Val, Ala, Leu, Gly, Trp, Lys, Phe, Leu, Ser, 또는Arg;
위치 10의 Xaa는 Ile, Gly, Val, Arg, Ser, Phe, 또는Leu;
위치 11의 Xaa는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는Ala;
위치 12의 Xaa는 His, Thr, Phe, Gly, Arg, Ala, 또는Trp;

위치 13의 Xaa 는 Leu, Gly, Arg, Thr, Ser, 또는 Ala;
위치 14의 Xaa 는 Lys, Arg, Leu, Gln, Gly, Pro, Val 또는 Trp;
위치 15의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Pro, Arg, 또는 Val;
위치 16의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, Asp, Gln, Ser, Leu, 또는 Lys;
위치 17의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa 는 Leu, Val, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 19의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala, Thr, 또는 Glu;
위치 20의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Glu, Gln, Thr, Arg, Ala, Phe, Ile 또는 Met;
위치 21의 Xaa 는 Leu, Ala, Gly, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 22의 Xaa 는 Asp, Leu, 또는 Val;
위치 23의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;
위치 24의 Xaa 는 Asn, 또는 Ala;
위치 26의 Xaa 는 Leu, Trp, 또는 Arg;
위치 27의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, Leu, His, Met, Pro;
위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Lys, Asn, Thr, Leu, Val, Glu, Phe, Tyr, Ile 또는 Met;
위치 29의 Xaa 는 Glu, Asn, Tyr, Leu, Phe, Asp, Ala, Cys, Gln, Arg, Thr, Gly 또는 Ser;
위치 30의 Xaa 는 Asp, Ser, Leu, Arg, Lys, Thr, Met, Trp, Glu, Asn, Gln, Ala 또는 Pro;
위치 31의 Xaa 는 Gln, Pro, Phe, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Asp, Asn, Arg, Ser, Ala, Ile, Glu, His 또는 Trp;
위치 32의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Glu, Asn, Gln, Lys, His, Ala, Tyr, Ile, Val 또는 Gly;
위치 33의 Xaa 는 Ile, Gly, Val, Ser, Arg, Pro, 또는 His;
위치 34의 Xaa 는 Leu, Ser, Cys, Arg, Ile, His, Phe, Glu, Lys, Thr, Ala, Met, Val 또는 Asn;
위치 35의 Xaa 는 Met, Arg, Ala, Gly, Pro, Asn, His, 또는 Asp;
위치 36의 Xaa 는 Glu, Leu, Thr, Asp, Tyr, Lys, Asn, Ser, Ala, Ile, Val, His, Phe, Met 또는 Gln;
위치 37의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;
위치 38의 Xaa 는 Asn, His, Arg, Leu, Gly, Ser, 또는 Thr;
위치 39의 Xaa 는 Leu, Thr, Ala, Gly, Glu, Pro, Lys, Ser, Met, 또는
위치 40의 Xaa 는 Arg, Asp, Ile, Ser, Val, Thr, Gln, Asn,

Lys, His, Ala or Leu;

위치 41의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Ser, Leu, 또는 Gly;

위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Glu, Arg, His, Thr, Ala, Tyr, Phe, Leu, Val 또는 Lys;

위치 43의 Xaa 는 Asn 또는 Gly;

위치 44의 Xaa 는 Leu, Ser, Asp, Arg, Gln, Val, 또는 Cys;

위치 45의 Xaa 는 Glu Tyr, His, Leu, Pro, 또는 Arg;

위치 46의 Xaa 는 Ala, Ser, Pro, Tyr, Asn, 또는 Thr;

위치 47의 Xaa 는 Phe, Asn, Glu, Pro, Lys, Arg, 또는 Ser;

위치 48의 Xaa 는 Asn, His, Val, Arg, Pro, Thr, Asp, 또는 Ile;

위치 49의 Xaa 는 Arg, Tyr, Trp, Lys, Ser, His, Pro, 또는 Val;

위치 50의 Xaa 는 Ala, Asn, Pro, Ser, 또는 Lys;

위치 51의 Xaa 는 Val, Thr, Pro, His, Leu, Phe, 또는 Ser;

위치 52의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu, 또는 Ser;

위치 53의 Xaa 는 Ser, Ala, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, Pro, 또는 His;

위치 54의 Xaa 는 Leu, Val, Trp, Ser, Ile, Phe, Thr, 또는 His;

위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, Trp, Gly, 또는 Leu;

위치 56의 Xaa 는 Asn, Leu, Val, Trp, Pro, 또는 Ala;

위치 57의 Xaa 는 Ala, Met, Leu, Pro, Arg, Glu, Thr, Gln, Trp, 또는 Asn;

위치 58의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;

위치 59의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, 또는 Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ile, Met, Thr, Pro, Arg, Gly, Ala;

위치 61의 Xaa 는 Glu, Lys, Gly, Asp, Pro, Trp, Arg, Ser, Gln, 또는 Leu;

위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Trp, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;

위치 63의 Xaa 는 Ile, Ser, Arg, Thr, 또는 Leu;

위치 64의 Xaa 는 Leu, Ala, Ser, Glu, Phe, Gly, 또는 Arg;

위치 65의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Asp;

위치 66의 Xaa 는 Asn, Trp, Val, Gly, Thr, Leu, Glu, 또는 Arg;

위치 67의 Xaa 는 Leu, Gln, Gly, Ala, Trp, Arg, Val, 또는 Lys;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Lys, Trp, Arg, Asp, Glu, Asn, His, Thr, Ser, Ala, Tyr, Phe, Ile, Met 또는 Val;

위치 69의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp, Arg, 또는 Met;
위치 70의 Xaa 는 Cys, Glu, Gly, Arg, Met, 또는 Val;
위치 71의 Xaa 는 Leu, Asn, Val, 또는 Gln;
위치 72의 Xaa 는 Pro, Cys, Arg, Ala, 또는 Lys;
위치 73의 Xaa 는 Leu, Ser, Trp, 또는 Gly;
위치 74의 Xaa 는 Ala, Lys, Arg, Val, 또는 Trp;
위치 75의 Xaa 는 Thr, Asp, Cys, Leu, Val, Glu, His, Asn, 또는 Ser;
위치 76의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Gly, Asp, Ile, 또는 Met;
위치 77의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu, Asp, 또는 His;
위치 78의 Xaa 는 Pro, Phe, Arg, Ser, Lys, His, Ala, Gly, Ile 또는 Leu;
위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Asn, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;
위치 80의 Xaa 는 Arg, Ile, Ser, Glu, Leu, Val, Gln, Lys, His, Ala 또는 Pro;
위치 81의 Xaa 는 His, Gln, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Thr, Asn, Lys, Ser, Ala, Trp, Phe, Ile 또는 Tyr;
위치 82의 Xaa 는 Pro, Lys, Tyr, Gly, Ile, 또는 Thr;
위치 83의 Xaa 는 Ile, Val, Lys, Ala, 또는 Asn;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Glu, Gln, Ser, Phe, Met, Val, Lys, Arg, Tyr 또는 Pro;
위치 85의 Xaa 는 Ile, Leu, Arg, Asp, Val, Pro, Gln, Gly, Ser, Phe, 또는 His;
위치 86의 Xaa 는 Lys, Tyr, Leu, His, Arg, Ile, Ser, Gln, Pro;
위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Tyr, Glu, Asn, Ser, Ala, Gly, Ile, Leu 또는 Gln;
위치 88의 Xaa 는 Gly, Leu, Glu, Lys, Ser, Tyr, 또는 Pro;
위치 89의 Xaa 는 Asp, 또는 Ser;
위치 90의 Xaa 는 Trp, Val, Cys, Tyr, Thr, Met, Pro, Leu, Gln, Lys, Ala, Phe, 또는 Gly;
위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는 His;
위치 92의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala, Lys, Thr, Ile, Gly, 또는 Pro;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Lys, Asp, Leu, Thr, Ile, Gln, His, Ser, Ala, 또는 Pro;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Pro, Glu, Tyr, Leu, Ser, 또는 Gly;

위치 96의 Xaa 는 Lys, Asn, Thr, Leu, Gln, Arg, His, Glu, Ser, Ala 또는 Trp;
위치 97의 Xaa 는 Leu, Ile, Arg, Asp, 또는 Met;
위치 98의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Tyr, Glu, His, Ser, 또는 Phe;
위치 99의 Xaa 는 Phe, Ser, Cys, His, Gly, Trp, Tyr, Asp, Lys, Leu, Ile, Val 또는 Asn;
위치 100의 Xaa 는 Tyr, Cys, His, Ser, Trp, Arg, 또는 Leu;
위치 101의 Xaa 는 Leu, Asn, Val, Pro, Arg, Ala, His, Thr, Trp, 또는 Met;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Leu, Pro, Thr, Met, Asp, Val, Glu, Arg, Trp, Ser, Asn, His, Ala, Tyr, Phe, Gln, 또는 Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr, Ser, Asn, Ile, Trp, Lys, 또는 Pro;
위치 104의 Xaa 는 Leu, Ser, Pro, Ala, Glu, Cys, Asp, 또는 Tyr;
위치 105의 Xaa 는 Glu, Ser, Lys, Pro, Leu, Thr, Tyr, 또는 Arg;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Ala, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

청구항 8.

하기 식VI의 (15-125) 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드에서, 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala- 을 가질 수 있고, Xaa 에 의해 표시된 아미노산의 4 내지 44 가 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 폴리펩티드, 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드:

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa
 1               5   10                  15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Glu Xaa
                20  25                  30

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Leu Xaa
                35  40                  45

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
                50  55                  60

Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Xaa
                65  70                  75

Xaa Xaa Xaa Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa
                80  85                  90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa
                95 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:20]
               110
```

여기서

위치 3 의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;
위치 4 의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;
위치 5 의 Xaa 는 Met, Phe, Ile, Arg, 또는 Ala;
위치 6 의 Xaa 는 Ile 또는 Pro;
위치 7 의 Xaa 는 Asp, 또는 Glu;
위치 9 의 Xaa 는 Ile, Val, Ala, Leu, 또는 Gly;
위치 10의 Xaa 는 Ile, Val, Phe, 또는 Leu;
위치 11의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;
위치 12의 Xaa 는 His, Phe, Gly, Arg, 또는 Ala;
위치 14의 Xaa 는 Lys, Leu, Gln, Gly, Pro, 또는 Val;
위치 15의 Xaa 는 Gln, Asn, Leu, Arg, 또는 Val;
위치 16의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, 또는 Gln;
위치 17의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Ala, Arg, Leu, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 19의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Ala, 또는 Glu;
위치 20의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;

위치 21의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 22의 Xaa 는 Asp 또는 Leu;
위치 23의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, Trp, 또는 Ile;
위치 24의 Xaa 는 Asn 또는 Ala;
위치 27의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, His, Met, 또는 Pro;
위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr, 또는 Arg;
위치 30의 Xaa 는 Asp, 또는 Glu;
위치 31의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Lys, Ala, Asn Glu, Ser 또는 Trp;
위치 32의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, Ala, Asn, Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val 또는 Gly;
위치 33의 Xaa 는 Ile, Val, 또는 His;
위치 35의 Xaa 는 Met, Asn, 또는 Asp;
위치 36의 Xaa 는 Glu, Thr, Ala, Asn, Ser 또는 Asp;
위치 37의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;
위치 38의 Xaa 는 Asn 또는 Gly;
위치 39의 Xaa 는 Leu, Met, 또는 Phe;
위치 40의 Xaa 는 Arg, Ala 또는 Ser;
위치 41의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu, 또는 Gly;
위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, His, Leu, Thr, Val 또는 Lys;
위치 45의 Xaa 는 Glu, Tyr, His, Leu, 또는 Arg;
위치 46의 Xaa 는 Ala, Ser, Asn, 또는 Thr;
위치 47의 Xaa 는 Phe 또는 Ser;
위치 48의 Xaa 는 Asn, Val, Pro, Thr, 또는 Ile;
위치 49의 Xaa 는 Arg, Tyr, Lys, Ser, His, 또는 Val;
위치 50의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;
위치 51의 Xaa 는 Val, Thr, Leu, 또는 Ser;
위치 52의 Xaa 는 Lys, Ile, Arg, Val, Asn, Glu, 또는 Ser;
위치 53의 Xaa 는 Ser, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, 또는 His;
위치 54의 Xaa 는 Leu, Val, Ile, Phe, 또는 His;
위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg, 또는 Gly;
위치 56의 Xaa 는 Asn 또는 Pro;
위치 57의 Xaa 는 Ala, Met, Pro, Arg, Glu, Thr, 또는 Gln;
위치 58의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;
위치 59의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, Arg, 또는

Pro;

위치 60의 Xaa 는 Ile또는Met;

위치 61의 Xaa 는 Glu, Gly, Asp, Ser,또는 Gln;

위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, Gly,또는 Asp;

위치 63의 Xaa 는 Ile, Ser,또는Leu;

위치 65의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Asp;

위치 66의 Xaa 는 Asn, Val, Gly, Thr, Leu, Glu,또는Arg;

위치 67의 Xaa 는 Leu,또는Val;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr또는Val;

위치 69의 Xaa 는 Pro, Ala, Thr, Trp,또는Met;

위치 71의 Xaa 는 Leu또는Val;

위치 73의 Xaa 는 Leu또는Ser;

위치 74의 Xaa 는 Ala, Arg,또는Trp;

위치 75의 Xaa 는 Thr, Asp, Glu, His, Asn,또는Ser;

위치 76의 Xaa 는 Ala, Asp,또는Met;

위치 77의 Xaa 는 Ala, Pro, Ser, Thr, Phe, Leu,또는Asp;

위치 78의 Xaa 는 Pro또는Ser;

위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu,또는Arg;

위치 81의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Ile, Phe, Ser또는Thr;

위치 82의 Xaa 는 Pro또는Tyr;

위치 83의 Xaa 는 Ile, Val,또는Ala;

위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, Arg, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Pro;

위치 85의 Xaa 는 Ile, Leu, Val,또는Phe;

위치 86의 Xaa 는 Lys, Leu, His, Arg, Ile, Gln, Pro 또는 Ser;

위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Asn, Ile, Leu또는Tyr;

위치 88의 Xaa 는 Gly, Glu, Lys,또는Ser;

위치 90의 Xaa 는 Trp, Val, Tyr, Met,또는Leu;

위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp,또는His;

위치 92의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala,또는Gly;

위치 94의 Xaa 는 Arg, Ala, Gln, Ser 또는 Lys;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, Ser, 또는 Gly;
위치 98의 Xaa 는 Thr, Val, Gln, Glu, His, 또는 Ser;
위치 100의 Xaa 는 Tyr 또는 Trp;
위치 101의 Xaa 는 Leu 또는 Ala;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Thr, Met, Val, Trp, Ser, Leu, Ala, Asn, Gln, His, Met, Phe, Tyr 또는 Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr, Ser, 또는 Asn;
위치 105의 Xaa 는 Glu, Ser, Pro, Leu, Thr, 또는 Tyr;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Lys, Asp, 또는 Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는 Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는 Leu;

청구항 9.

제 7항에 있어서, 하기 식VII을 갖고 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있고, Xaa에 의해 표시된 아미노산중 4내지 35 가 천연사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 것을 특징으로 하는 (15-125) 사람 인터류킨-3 돌연변이체 폴리펩티드:

```
Asn Cys Xaa Xaa Xaa Ile Xaa Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Lys Xaa
 1               5  10                  15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Xaa Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Xaa
            20  25                  30

Xaa Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Xaa Asn Leu Glu
            35  40                  45

Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Xaa Ile
            50  55                  60
```

Glu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr
65 70 75

Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Xaa
80 85 90

Xaa Xaa Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Glu
95 100 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:21]
110

여기서

위치 3의 Xaa는 Ser, Gly, Asp, Met, 또는 Gln;
위치 4의 Xaa는 Asn, His, 또는 Ile;
위치 5의 Xaa는 Met 또는 Ile;
위치 7의 Xaa는 Asp 또는 Glu;
위치 9의 Xaa는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;
위치 10의 Xaa는 Ile, Val, 또는 Leu;
위치 11의 Xaa는 Thr, His, Gln, 또는 Ala;
위치 12의 Xaa는 His 또는 Ala;
위치 15의 Xaa는 Gln, Asn, 또는 Val;
위치 16의 Xaa는 Pro, Gly, 또는 Gln;
위치 17의 Xaa는 Pro, Asp, Gly, 또는 Gln;
위치 18의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 19의 Xaa 는 Pro 또는 Glu;
위치 20의 Xaa 는 Leu, Val, Gly, Ser, Lys, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;
위치 21의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, Pro, Gln, 또는 Val;
위치 23의 Xaa 는 Phe, Ser, Pro, 또는 Trp;
위치 24의 Xaa 는 Asn 또는 Ala;
위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, Ala, Asn, Ile, Leu, Met Tyr 또는 Arg;
위치 30의 Xaa 는 Asp 또는 Glu;
위치 31의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Thr, Ala, Asn,

Glu, Ser or Lys;

위치 32의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Ala, Asn, Gln, Glu, His, Ile, Lys, Tyr, Val또는 Cys;

위치 36의 Xaa 는 Glu, Ala, Asn, Ser또는 Asp;

위치 37의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr,또는 His;

위치 40의 Xaa 는 Arg 또는Ala;

위치 41의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Leu,또는 Gly;

위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Ser, Gln, Ala, Arg, Asn, Glu, Leu, Thr, Val 또는 Lys;

위치 46의 Xaa 는 Ala 또는Ser;

위치 48의 Xaa 는 Asn, Pro, Thr,또는 Ile;

위치 49의 Xaa 는 Arg 또는Lys;

위치 50의 Xaa 는 Ala또는 Asn;

위치 51의 Xaa 는 Val 또는 Thr;

위치 52의 Xaa 는 Lys또는 Arg;

위치 53의 Xaa 는 Ser, Phe, 또는 His;

위치 54의 Xaa 는 Leu, Ile, Phe,또는 His;

위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Glu, Arg,또는 Gly;

위치 57의 Xaa 는 Ala, Pro,또는 Arg;

위치 58의 Xaa 는 Ser, Glu, Arg,또는 Asp;

위치 59의 Xaa 는 Ala또는 Leu;

위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Glu, Pro, 또는Gly;

위치 63의 Xaa 는 Ile또는 Leu;

위치 65의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Arg, Ile, Gly, 또는 Asp;

위치 66의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu,또는 Arg;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Ala, Asn, Glu, His, Ile, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는Val;

위치 69의 Xaa 는 Pro또는 Thr;

위치 71의 Xaa 는 Leu또는 Val;

위치 73의 Xaa 는 Leu 또는Ser;

위치 74의 Xaa 는 Ala또는 Trp;

위치 77의 Xaa 는 Ala또는 Pro;

위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Pro, Ala, Leu,또는 Arg;

위치 81의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Leu, Gly, Asn, Phe, Ser 또는 Thr;

위치 82의 Xaa 는 Pro또는 Tyr;

위치 83의 Xaa 는 Ile또는Val;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Ala, Thr, Leu, Arg, Gln, Leu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val또는Pro;
위치 85의 Xaa 는 Ile, Leu, 또는Val;
위치 86의 Xaa 는 Lys, Arg, Ile, Gln, Pro, 또는 Ser;
위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Asn, Ile, Leu또는Tyr;
위치 90의 Xaa 는 Trp또는Leu;
위치 91의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, Asp, 또는His;
위치 92의 Xaa 는 Glu, 또는Gly;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 95의 Xaa 는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는Ser;
위치 98의 Xaa 는 Thr, Val, 또는Gln;
위치 100의 Xaa 는 Tyr또는Trp;
위치 101의 Xaa 는 Leu또는Ala;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Thr, Val, Trp, Ser, Ala, His, Met, Phe, Tyr또는Ile;
위치 103의 Xaa 는 Thr또는Ser;
위치 106의 Xaa 는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa 는 Ala, Ser, Ile, Asn, Pro, Asp, 또는Gly;
위치 108의 Xaa 는 Gln, Ser, Met, Trp, Arg, Phe, Pro, His, Ile, Tyr, 또는Cys;
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met, Glu, His, Ser, Pro, Tyr, 또는Leu;

청구항 10.

제 7항에 있어서, 하기 식Ⅷ을 갖고 부가적으로 위치 1의 아미노산 앞에 Met- 또는 Met-Ala-을 가질 수 있고 Xaa에 의해 표시된 아미노산의 4내지26이 천연(1-133) 사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 폴리펩티드, 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드:

```
Asn Cys Xaa Xaa Met Ile Asp Glu Xaa Ile Xaa Xaa Leu Lys Xaa
 1               5                  10                  15

Xaa Pro Xaa Pro Xaa Xaa Asp Phe Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp
            20                  25                  30

Xaa Xaa Ile Leu Met Xaa Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Glu
            35                  40                  45

Ala Phe Xaa Arg Xaa Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Asn Ala Ser Ala Ile
            50                  55                  60

Glu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Pro Cys Leu Pro Xaa Xaa Thr
            65                  70                  75

Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Trp
            80                  85                  90

Xaa Glu Phe Xaa Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu Xaa Xaa Leu Glu
            95                 100                 105

Xaa Xaa Xaa Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:22]
           110
```

여기서

위치 3 의 Xaa 는 Ser, Gly, Asp, 또는 Gln;

위치 4 의 Xaa 는 Asn, His, 또는 Ile;

위치 9 의 Xaa 는 Ile, Ala, Leu, 또는 Gly;

위치 11의 Xaa 는 Thr, His, 또는 Gln;

위치 12의 Xaa 는 His 또는 Ala;

위치 15의 Xaa 는 Gln 또는 Asn;

위치 16의 Xaa 는 Pro 또는 Gly;

위치 18의 Xaa 는 Leu, Arg, Asn, 또는 Ala;

위치 20의 Xaa 는 Leu, Val, Ser, Ala, Arg, Gln, Glu, Ile, Phe, Thr 또는 Met;

위치 21의 Xaa 는 Leu, Ala, Asn, 또는 Pro;

위치 24의 Xaa 는 Asn 또는 Ala;

위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Ala, Asn, Ile, Leu, Met, Tyr 또는 Arg;

위치 31의 Xaa 는 Gln, Val, Met, Leu, Ala, Asn, Glu 또는 Lys;

위치 32의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Ala, Gln, Glu, His, Val 또는 Thr;

위치 36의 Xaa 는 Glu, Asn, Ser 또는 Asp;
위치 37의 Xaa 는 Asn, Arg, Pro, Thr, 또는 His;
위치 41의 Xaa 는 Arg, Leu, 또는 Gly;
위치 42의 Xaa 는 Pro, Gly, Ser, Ala, Asn, Val, Leu 또는 Gln;
위치 48의 Xaa 는 Asn, Pro, 또는 Thr;
위치 50의 Xaa 는 Ala 또는 Asn;
위치 51의 Xaa 는 Val 또는 Thr;
위치 53의 Xaa 는 Ser 또는 Phe;
위치 54의 Xaa 는 Leu 또는 Phe;
위치 55의 Xaa 는 Gln, Ala, Glu, 또는 Arg;
위치 62의 Xaa 는 Ser, Val, Asn, Pro, 또는 Gly;
위치 63의 Xaa 는 Ile 또는 Leu;
위치 65의 Xaa 는 Lys, Asn, Met, Arg, Ile, 또는 Gly;
위치 66의 Xaa 는 Asn, Gly, Glu, 또는 Arg;
위치 68의 Xaa 는 Leu, Gln, Trp, Arg, Asp, Asn, Glu, His, Met, Phe, Ser, Thr, Tyr 또는 Val;
위치 73의 Xaa 는 Leu 또는 Ser;
위치 74의 Xaa 는 Ala 또는 Trp;
위치 77의 Xaa 는 Ala 또는 Pro;
위치 79의 Xaa 는 Thr, Asp, 또는 Ala;
위치 81의 Xaa 는 His, Pro, Arg, Val, Gly, Asn, Ser 또는 Thr;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Ala, Thr, Arg, Gln, Glu, Lys, Met, Ser, Tyr, Val 또는 Leu;
위치 85의 Xaa는 Ile 또는 Leu;
위치 86의 Xaa는 Lys 또는 Arg;
위치 87의 Xaa는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Pro, Asn, Ile, Leu 또는 Tyr;
위치 91의 Xaa는 Asn, Pro, Ser, Ile 또는 Asp;
위치 94의 Xaa는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 95의 Xaa는 Arg, Thr, Glu, Leu, 또는 Ser;
위치 98의 Xaa는 Thr 또는 Gln;
위치 102의 Xaa는 Lys, Val, Trp, 또는 Ile;
위치 103의 Xaa는 Thr, Ala, His, Phe, Tyr 또는 Ser;
위치 106의 Xaa는 Asn, Pro, Leu, His, Val, 또는 Gln;
위치 107의 Xaa는 Ala, Ser, Ile, Pro, 또는 Asp;
위치 108의 Xaa는 Gln, Met, Trp, Phe, Pro, His, Ile, 또는 Tyr;
위치 109의 Xaa는 Ala, Met, Glu, Ser, 또는 Leu;

청구항 11.

제 7항에 있어서,

위치 17의 Xaa 는 Ser, Lys, Asp, Met, Gln, 또는 Arg;
위치 18의 Xaa 는 Asn, His, Leu, Ile, Phe, Arg, 또는 Gln;
위치 19의 Xaa 는 Met, Arg, Gly, Ala, 또는 Cys;
위치 20의 Xaa 는 Ile, Cys, Gln, Glu, Arg, Pro, 또는 Ala;
위치 21의 Xaa 는 Asp, Phe, Lys, Arg, Ala, Gly, 또는 Val;
위치 22의 Xaa 는 Glu, Trp, Pro, Ser, Ala, His, 또는 Gly;
위치 23의 Xaa 는 Ile, Ala, Gly, Trp, Lys, Leu, Ser, 또는 Arg;
위치 24의 Xaa 는 Ile, Gly, Arg, 또는 Ser;
위치 25의 Xaa 는 Thr, His, Gly, Gln, Arg, Pro, 또는 Ala;
위치 26의 Xaa 는 His, Thr, Phe, Gly, Ala, 또는 Trp;
위치 27의 Xaa 는 Leu, Gly, Arg, Thr, Ser, 또는 Ala;
위치 28의 Xaa 는 Lys, Leu, Gln, Gly, Pro, Val 또는 Trp;
위치 29의 Xaa 는 Gln, Asn, Loh, Pro, Arg, 또는 Val;
위치 30의 Xaa 는 Pro, His, Thr, Gly, Asp, Gln, Ser, Leu, 또는 Lys;
위치 31의 Xaa 는 Pro, Asp, Gly, Arg, Leu, 또는 Gln;
위치 32의 Xaa 는 Leu, Arg, Gln, Asn, Gly, Ala, 또는 Glu;
위치 33의 Xaa 는 Pro, Leu, Gln, Thr, 또는 Glu;
위치 34의 Xaa 는 Leu, Gly, Ser, 또는 Lys;
위치 35의 Xaa 는 Leu, Ala, Gly, Asn, Pro, 또는 Gln;
위치 36의 Xaa 는 Asp, Leu, 또는 Val;
위치 37의 Xaa 는 Phe, Ser, 또는 Pro;
위치 38의 Xaa 는 Asn, 또는 Ala;
위치 40의 Xaa 는 Leu, Trp, 또는 Arg;
위치 41의 Xaa 는 Asn, Cys, Arg, Leu, His, Met, Pro;
위치 42의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Cys, 또는 Ala;

위치 42의 Xaa 는 Glu, Asn, Tyr, Leu, Phe, Asp, Ala, Cys, 또는 Ser;

위치 44의 Xaa 는 Asp, Ser, Leu, Arg, Lys, Thr, Met, Trp, 또는 Pro;

위치 45의 Xaa 는 Gln, Pro, Phe, Val, Met, Leu, Thr, Lys, 또는 Trp;

위치 46의 Xaa 는 Asp, Phe, Ser, Thr, Cys, 또는 Gly;

위치 47의 Xaa 는 Ile, Gly, Ser, Arg, Pro, 또는 His;

위치 48의 Xaa 는 Leu, Ser, Cys, Arg, His, Phe, 또는 Asn;

위치 49의 Xaa 는 Met, Arg, Ala, Gly, Pro, Asn, His, 또는 Asp;

위치 50의 Xaa 는 Glu, Leu, Thr, Asp, 또는 Tyr;

위치 51의 Xaa 는 Asn, Arg, Met, Pro, Ser, Thr, 또는 His;

위치 52의 Xaa 는 Asn, His, Arg, Leu, Gly, Ser, 또는 Thr;

위치 53의 Xaa 는 Leu, Thr, Ala, Gly, Glu, Pro, Lys, Ser, 또는;

위치 54의 Xaa 는 Arg, Asp, Ile, Ser, Val, Thr, Gln, 또는 Leu;

위치 55의 Xaa 는 Arg, Thr, Val, Ser, Leu, 또는 Gly;

위치 56의 Xaa 는 Pro, Gly, Cys, Ser, Gln, 또는 Lys;

위치 57의 Xaa 는 Asn 또는 Gly;

위치 58의 Xaa 는 Leu, Ser, Asp, Arg, Gln, Val, 또는 Cys;

위치 59의 Xaa 는 Glu Tyr, His, Leu, Pro, 또는 Arg;

위치 60의 Xaa 는 Ala, Ser, Tyr, Asn, 또는 Thr;

위치 61의 Xaa 는 Phe, Asn, Glu, Pro, Lys, Arg, 또는 Ser;

위치 62의 Xaa 는 Asn His, Val, Arg, Pro, Thr, 또는 Ile;

위치 63의 Xaa 는 Arg, Tyr, Trp, Ser, Pro, 또는 Val;

위치 64의 Xaa 는 Ala, Asn, Ser, 또는 Lys;

위치 65의 Xaa 는 Val, Thr, Pro, His, Leu, Phe, 또는 Ser;

위치 66의 Xaa 는 Lys, Ile, Val, Asn, Glu, 또는 Ser;

위치 67의 Xaa 는 Ser, Ala, Phe, Val, Gly, Asn, Ile, Pro, 또는 His;

위치 68의 Xaa 는 Leu, Val, Trp, Ser, Thr, 또는 His;

위치 69의 Xaa 는 Gln, Ala, Pro, Thr, Arg, Trp, Gly, 또는 Leu;

위치 70의 Xaa 는 Asn, Leu, Val, Trp, Pro, 또는 Ala;

위치 71의 Xaa 는 Ala, Met, Leu, Arg, Glu, Thr, Gln, Trp, 또는 Asn;

위치 72의 Xaa 는 Ser, Glu, Met, Ala, His, Asn, Arg, 또는 Asp;

위치 73의 Xaa 는 Ala, Glu, Asp, Leu, Ser, Gly, Thr, 또는 Arg;

위치 74의 Xaa 는 Ile, Thr, Pro, Arg, Gly, Ala;

위치 75의 Xaa 는 Glu, Lys, Gly, Asp, Pro, Trp, Arg, Ser, 또는 Leu;

위치 76의 Xaa 는 Ser, Val, Ala, Asn, Trp, Glu, Pro, Gly, 또는 Asp;

위치 77의 Xaa 는 Ile, Ser, Arg, 또는 Thr;

위치 78의 Xaa 는 Leu, Ala, Ser, Glu, Gly, 또는 Arg;

위치 79의 Xaa 는 Lys, Thr, Gly, Asn, Met, Ile, 또는 Asp;

위치 80의 Xaa 는 Asn, Trp, Val, Gly, Thr, Leu, 또는 Arg;

위치 81의 Xaa 는 Leu, Gln, Gly, Ala, Trp, Arg, 또는 Lys;

위치 82의 Xaa 는 Leu, Gln, Lys, Trp, Arg, 또는 Asp;

위치 83의 Xaa 는 Pro, Thr, Trp, Arg, 또는 Met;

위치 84의 Xaa 는 Cys, Glu, Gly, Arg, Met, 또는 Val;

위치 85의 Xaa 는 Leu, Asn, 또는 Gln;

위치 86의 Xaa 는 Pro, Cys, Arg, Ala, 또는 Lys;

위치 87의 Xaa 는 Leu, Ser, Trp, 또는 Gly;

위치 88의 Xaa 는 Ala, Lys, Arg, Val, 또는 Trp;

위치 89의 Xaa 는 Thr, Asp, Cys, Leu, Val, Glu, His, 또는 Asn;

위치 90의 Xaa 는 Ala, Ser, Asp, Ile, 또는 Met;

위치 91의 Xaa 는 Ala, Ser, Thr, Phe, Leu, Asp, 또는 His;

위치 92의 Xaa 는 Pro, Phe, Arg, Ser, Lys, His, 또는 Leu;

위치 93의 Xaa 는 Thr, Asp, Ser, Asn, Pro, Ala, Leu, 또는 Arg;

위치 94의 Xaa 는 Arg, Ile, Ser, Glu, Leu, Val, 또는 Pro;

위치 95의 Xaa 는 His, Gln, Pro, Val, Leu, Thr 또는 Tyr;

위치 96의 Xaa 는 Pro, Lys, Tyr, Gly, Ile, 또는 Thr;

위치 97의 Xaa 는 Ile, Lys, Ala, 또는 Asn;

위치 98의 Xaa 는 His, Ile, Asn, Leu, Asp, Ala, Thr, 또는 Pro;

위치 99의 Xaa 는 Ile, Arg, Asp, Pro, Gln, Gly, Phe, 또는 His;

위치 100의 Xaa 는 Lys, Tyr, Leu, His, Ile, Ser, Gln, 또는 Pro;

위치 101의 Xaa 는 Asp, Pro, Met, Lys, His, Thr, Val, Tyr, 또는 Gln;

위치 102의 Xaa 는 Gly, Leu, Glu, Lys, Ser, Tyr, 또는 Pro;

위치 103의 Xaa 는 Asp, 또는 Ser;

위치 104의 Xaa 는 Trp, Val, Cys, Tyr, Thr, Met, Pro, Leu, Gln, Lys, Ala, Phe, 또는 Gly;

위치 105의 Xaa 는 Asn, Pro, Ala, Phe, Ser, Trp, Gln, Tyr, Leu, Lys, Ile, 또는 His;

위치 106의 Xaa 는 Glu, Ser, Ala, Lys, Thr, Ile, Gly, 또는 Pro;

위치 108의 Xaa 는 Arg, Asp, Leu, Thr, Ile, 또는 Pro;

위치 109의 Xaa 는 Arg, Thr, Pro, Glu, Tyr, Leu, Ser, 또는 Gly.

인 것을 특징으로 하는 (15-125) 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드.

청구항 12.

제 7항에 있어서,

위치 28의 Xaa 는 Gly, Asp, Ser, Ile, Leu, Met, Tyr, 또는 Ala;
위치 31의 Xaa 는 Gln, Val, Met 또는 Asn;
위치 32의 Xaa 는 Asp, Ser, Ala, Gln, His 또는 Val;
위치 36의 Xaa 는 Glu 또는 Asp;
위치 37의 Xaa 는 Asn, Pro 또는 Thr;
위치 48의 Xaa 는 Asn 또는 Pro;
위치 62의 Xaa 는 Ser, 또는 Pro;
위치 68의 Xaa 는 Leu, Trp, Asp, Asn Glu, His, Phe, Ser 또는 Tyr;
위치 81의 Xaa 는 His, Arg, Thr, Asn 또는 Ser;
위치 84의 Xaa 는 His, Ile, Leu, Ala, Arg, Gln, Lys, Met, Ser, Tyr 또는 Val;
위치 86의 Xaa 는 Lys 또는 Arg;
위치 87의 Xaa 는 Asp, Pro, His, Asn, Ile 또는 Leu;
위치 91의 Xaa 는 Asn, 또는 Pro;
위치 94의 Xaa 는 Arg, Ala, 또는 Ser;
위치 102의 Xaa 는 Lys, Val, Trp, Ala, His, Phe, 또는 Tyr;
위치 107의 Xaa 는 Ala, 또는 Ile;
위치 108의 Xaa 는 Gln, 또는 Ile; and
위치 109의 Xaa 는 Ala, Met 또는 Glu.

인 것을 특징으로 하는 사람 인터류킨-3돌연변이체 폴리펩티드.

청구항 13.

하기 식의 폴리펩티드

```
        1               5                  10
(Met)m-Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr
            15                  20
Ser Trp Val Asn Cys Ser Xaa Xaa Xaa Asp Glu Ile Ile
25                  30                  35
Xaa His Leu Lys Xaa Pro Pro Xaa Pro Xaa Leu Asp Xaa
        40                  45              50
Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa Asp Ile Leu Xaa Glu
                55                  60
Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Phe Xaa Xaa
    65                  70              75
Ala Xaa Lys Xaa Leu Xaa Asn Ala Ser Xaa Ile Glu Xaa
            80                  85
Ile Leu Xaa Asn Leu Xaa Pro Cys Xaa Pro Xaa Xaa Thr
90                  95                  100
Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Ile Xaa Xaa Gly
        105                 110                 115
Asp Trp Xaa Glu Phe Arg Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu
                120                 125
Xaa Xaa Leu Glu Xaa Ala Gln Xaa Gln Gln Thr Thr Leu
    130
Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:129]
```

에서, m 은 0또는 1이고, 위치 18 의 Xaa는 Asn 또는 Ile; 위치 19 의 Xaa는 Met, Ala 또는 Ile; 위치 20 의 Xaa는 Ile, Pro 또는 Ile; 위치 23 의 Xaa는 Ile, Ala 또는 Leu; 위치 25 의 Xaa 는 Thr 또는 His; 위치 29 의 Xaa는 Gln, Arg, Val 또는 Ile; 위치 32 의 Xaa는 Leu, Ala, Asn 또는 Arg; 위치 34 의 Xaa는 Leu 또는 Ser; 위치 37 의 Xaa는 Phe, Pro, 또는 Ser; 위치 38의 Xaa는 Asn 또는 Ala; 위치 42 의 Xaa는 Gly, Ala, Ser, Asp 또는 Asn; 위치 45 의 Xaa는 Gln, Val, 또는 Met; 위치 46 의 Xaa는 Asp 또는 Ser; 위치 49 의 Xaa는 Met, Ile, Leu 또는 Asp; 위치 50 의 Xaa는 Glu 또는 Asp; 위치 51 의 Xaa는 Asn, Arg 또는 Ser; 위치 55 의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Thr; 위치 56 의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 59 의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 60의 Xaa 는 Ala 또는 Ser; 위치 62 의 Xaa는 Asn, Val 또는 Pro; 위치 63 의 Xaa는 Arg 또는 His; 위치 65 의 Xaa는 Val 또는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Ser, Asn, His 또는 Gln; 위치 69 의 Xaa 는 Gln 또는 Glu; 위치 73 의 Xaa는 Ala 또는 Gly; 위치 76 의 Xaa는 Ser, Ala 또는 Pro; 위치 79의 Xaa는 Lys, Arg 또는 Ser; 위치 82 의 Xaa는 Leu, Glu, Val 또는 Trp; 위치 85 의 Xaa 는 Leu 또는 Val; 위치 87 의 Xaa는 Leu, Ser, Tyr; 위치 88 의 Xaa 는 Ala 또는 Trp; 위치 91 의 Xaa 는 Ala 또는 Pro; 위치 93 의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 95 의 Xaa는 His 또는 Thr; 위치 98 의 Xaa는 His, Ile, 또는 Thr; 위치 100의 Xaa는 Lys 또는 Arg; 위치 101의 Xaa 는 Asp, Ala 또는 Met; 위치 105의 Xaa는 Asn 또는 Glu; 위치 109의 Xaa는 Arg, Glu 또는 Leu; 위치 112의 Xaa는 Thr 또는 Gln; 위치 116의 Xaa는 Lys, Val, Trp 또는 Ser; 위치 117의 Xaa는 Thr 또는 Ser; 위치 120의 Xaa는 Asn, Gln, 또는 His; 위치 123의 Xaa는 Ala 또는 Glu이고, Xaa 에 의해 표시된 아미노산중 4 내지 44 는 천연사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 폴리펩티드, 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드.

청구항 14.

제13항에 있어서, 위치 18 의 Xaa는 Ile; 위치 19 의 Xaa는 Ala, 또는 Ile; 위치 20의 Xaa는 Pro 또는 Leu; 위치 23 의 Xaa는 Ala 또는 Leu; 위치 25 의 Xaa 는 His; 위치 29 의 Xaa는 Arg, Val 또는 Ile; 위치 32 의 Xaa는 Ala, Asn 또는 Arg; 위치 34 의 Xaa는 Ser; 위치 37 의 Xaa는 Pro, 또는 Ser; 위치 38 의 Xaa는 Ala; 위치 42 의 Xaa는 Ala, Ser, Asp 또는 Asn; 위치 45 의 Xaa 는 Val 또는 Met; 위치 46 의 Xaa는 Ser인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 15.

제13항에 있어서, 위치 49 의 Xaa는 Ile 또는 Leu, 또는 Asp; 위치 50 의 Xaa는 Asp; 위치 51의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 55 의 Xaa는 Leu, 또는 Thr; 위치 56 의 Xaa는 Ser; 위치 59 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 60 의 Xaa 는 Ala 또는 Ser; 위치 62 의 Xaa는 Val 또는 Pro; 위치 63 의 Xaa 는 His; 위치 65 의 Xaa는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Asn 또는 His, 또는 Gln; 위치 69 의 Xaa 는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 16.

제13항에 있어서, 위치 73 의 Xaa는 Gly; 위치 76 의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 79의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 82 의 Xaa는 Gln, 또는 Val, 또는 Trp; 위치 85 의 Xaa는 Val; 위치 87 의 Xaa 는 Ser 또는 Tyr; 위치 88 의 Xaa 는 Trp; 위치 91 의 Xaa 는 Pro; 위치 93 의 Xaa는 Ser; 위치 95 의 Xaa는 Thr; 위치 98 의 Xaa는 Ile, 또는 Thr; 위치 100의 Xaa는 Arg; 위치 101 의 Xaa는 Ala 또는 Met; 위치 105의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 17.

제13항에 있어서, 위치 109의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 112의 Xaa는 Gln; 위치 116의 Xaa는 Val, 또는 Trp, 또는 Ser; 위치 117의 Xaa는 Ser; 위치 120의 Xaa는 Glu, 또는 His; 위치 123의 Xaa 는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 18.

제13항에 있어서, 위치 18 의 Xaa는 Ile; 위치 19 의 Xaa는 Ala 또는 Ile; 위치 20 의 Xaa 는 Pro 또는 Leu; 위치 23 의 Xaa는 Ala 또는 Leu; 위치 25 의 Xaa 는 His; 위치 29의 Xaa 는 Arg 또는 Val, 또는 Ile; 위치 32 의 Xaa는 Ala 또는 Asn, 또는 Arg; 위치 34 의 Xaa는 Ser: 위치 37 의 Xaa는 Pro, 또는 Ser; 위치 38 의 Xaa는 Ala: 위치 42 의 Xaa는 Ala 또는 Ser, Asp 또는 Asn; 위치 45 의 Xaa는 Val 또는 Met; 위치 46 의 Xaa는 Ser; 위치 49 의 Xaa는 Ile, 또는 Leu, 또는 Asp; 위치 50 의 Xaa는 Asp; 위치 51 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 55 의 Xaa는 Leu 또는 Thr; 위치 56 의 Xaa는 Ser; 위치 59 의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 60 의 Xaa 는 Ala 또는 Ser; 위치 62 의 Xaa는 Val 또는 Pro; 위치 63 의 Xaa는 His; 위치 65 의 Xaa 는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Asn 또는 His, 또는 Gln; 위치 69 의 Xaa는 Glu 인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 19.

제13항에 있어서, 위치 73 의 Xaa는 Gly; 위치 76 의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 79 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 82 의 Xaa는 Gln, Val 또는 Trp; 위치 85 의 Xaa는 Val; 위치 87 의 Xaa는 Ser 또는 Tyr; 위치 88 의 Xaa 는 Trp; 위치 91 의 Xaa 는 Pro; 위치 93 의 Xaa는 Ser; 위치 95의 Xaa는 Thr; 위치 98 의 Xaa는 Ile, 또는 Thr; 위치 100의 Xaa는 Arg; 위치 101의 Xaa는 Ala 또는 Met; 위치 105의 Xaa는 Glu; 위치 109의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 112의 Xaa는 Gln; 위치 116의 Xaa는 Val, 또는 Trp 또는 Ser; 위치 117의 Xaa는 Ser; 위치 120의 Xaa는 Glu, 또는 His; 위치 123의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 20.

하기식의 폴리펩티드

```
                1               5                  10
(Met_m-Ala_n)_p-Asn Cys Ser Xaa Xaa Xaa Asp Glu Xaa Ile
                    15                  20
Xaa His Leu Lys Xaa Pro Pro Xaa Pro Xaa Leu Asp Xaa

     25                  30                  35
Xaa Asn Leu Asn Xaa Glu Asp Xaa Xaa Ile Leu Xaa Glu
            40                  45
Xaa Asn Leu Arg Xaa Xaa Asn Leu Xaa Xaa Phe Xaa Xaa
50                  55                  60
Ala Xaa Lys Xaa Leu Xaa Asn Ala Ser Xaa Ile Glu Xaa
        65                  70                  75
Ile Leu Xaa Asn Xaa Xaa Pro Cys Xaa Pro Xaa Ala Thr
                80                  85
Ala Xaa Pro Xaa Arg Xaa Pro Ile Xaa Ile Xaa Xaa Gly
    90                  95                  100
Asp Trp Xaa Glu Phe Arg Xaa Lys Leu Xaa Phe Tyr Leu
            105                 110
Xaa Xaa Leu Glu Xaa Ala Gln Xaa Gln Gln [SEQ ID NO:130]
```

에서, m 은 0또는 1이고, n 은 0또는 1이고, p 는 0또는 1이고; 위치 4의 Xaa는 Asn 또는 Ile; 위치 5의 Xaa는 Met, Ala 또는 Ile; 위치 6의 Xaa는 Ile, Pro 또는 Leu; 위치 9의 Xaa는 Ile, Ala 또는 Leu; 위치 11 의 Xaa는 Thr 또는 His; 위치 15 의 Xaa는 Gln, Arg, Val 또는 Ile; 위치 18 의 Xaa는 Leu, Ala, Asn 또는 Arg; 위치 20 의 Xaa는 Leu 또는 Ser; 위치 23 의 Xaa는 Phe, Pro, 또는 Ser; 위치 24 의 Xaa는 Asn 또는 Ala; 위치 28 의 Xaa는 Gly, Ala, Ser, Asp 또는 Asn; 위치 31 의 Xaa는 Gln, Val 또는 Met; 위치 32 의 Xaa는 AsP 또는 Ser; 위치 35 의 Xaa 는 Met, Ile 또는 Asp; 위치 36 의 Xaa는 Glu 또는 Asp; 위치 37 의 Xaa는 Asn, Arg 또는 Ser; 위치 41 의 Xaa는 Arg, Leu, 또는 Thr; 위치 42 의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 45 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 46 의 Xaa는 Ala 또는 Ser; 위치 48 의 Xaa는 Asn, Val 또는 Pro; 위치 49 의 Xaa는 Arg 또는 His; 위치 51 의 Xaa는 Val 또는 Ser; 위치 53 의 Xaa는 Ser, Asn, His 또는 Gln; 위치 55 의 Xaa는 Gln 또는 Glu; 위치 59 의 Xaa는 Ala 또는 Gly; 위치 62의 Xaa는 Ser, Ala 또는 Pro; 위치 65의 Xaa는 Lys, Arg 또는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Leu, Glu, 또는 Val; 위치 68 의 Xaa는 Leu, Glu, Val 또는 Trp; 위치 71 의 Xaa는 Leu 또는 Val; 위치 73 의 Xaa는 Leu, Ser 또는 Tyr; 위치 74 의 Xaa는 Ala 또는 Trp; 위치 77 의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 79 의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 81 의 Xaa는 His 또는 Thr; 위치 84 의 Xaa는 His, Ile, 또는 Thr; 위치 86 의 Xaa는 Lys 또는 Arg; 위치 87 의 Xaa는 Asp, Ala 또는 Met; 위치 91 의 Xaa는 Asn 또는 Glu; 위치 95 의 Xaa는 Arg, Glu, Leu; 위치 98 의 Xaa는 Thr 또는 Gln; 위치 102의 Xaa는 Lys, Val, Trp 또는 Ser; 위치 103의 Xaa는 Thr 또는 Ser; 위치 106의 Xaa 는 Asn, Gln, 또는 His; 위치 109의 Xaa는 Ala 또는 Glu이고, Xaa 로 표시되는 아미노산중 4내지 44 는 천연(15-125)사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다른 폴리 펩티드 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드.

청구항 21.

제20항에 있어서, 위치 4의 Xaa는 Ile; 위치 5의 Xaa는 Ala 또는 Ile; 위치 6의 Xaa는 Pro 또는 Leu; 위치 9의 Xaa는 Ala 또는 Leu; 위치 11 의 Xaa는 His; 위치 15 의 Xaa는 Arg 또는 Val 또는 Ile; 위치 18 의 Xaa는 Ala 또는 Asn, 또는 Arg; 위치 20 의 Xaa는 Ser; 위치 23 의 Xaa 는 Pro 또는 Ser; 위치 24 의 Xaa는 Ala; 위치 28 의 Xaa는 Ala 또는 Ser 또는 Asp, 또는 Asn; 위치 31 의 Xaa는 Val 또는 Met; 위치 32 의 Xaa는 Ser인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 22.

제20항에 있어서, 위치 35 의 Xaa 는 Ile 또는 Leu 또는 Asp; 위치 36 의 Xaa는 Asp; 위치 37 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 41 의 Xaa는 Leu 또는 Thr; 위치 42 의 Xaa는 Ser; 위치 45 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 46 의 Xaa는 Ala 또는 Ser; 위치 48 의 Xaa는 Val 또는 Pro; 위치 49 의 Xaa는 His; 위치 51 의 Xaa는 Ser; 위치 53 의 Xaa는 Asn 또는 His 또는 Gln; 위치 55 의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 23.

제20항에 있어서, 위치 59 의 Xaa는 Gly; 위치 62 의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 65 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Gln 또는 Val; 위치 68 의 Xaa는 Glu, 또는 Val 또는 Trp; 위치 71 의 Xaa는 Val; 위치 73 의 Xaa는 Ser 또는 Tyr; 위치 74 의 Xaa는 Trp; 위치 77 의 Xaa 는 Pro; 위치 79 의 Xaa는 Ser; 위치 81 의 Xaa는 Thr; 위치 84 의 Xaa는 Ile 또는 Thr; 위치 86 의 Xaa는 Arg; 위치 87 의 Xaa는 Ala 또는 Met; 위치 91 의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 24.

제20항에 있어서, 위치 95 의 Xaa는 Glu 또는 Leu; 위치 98 의 Xaa는 Gln; 위치 102의 Xaa 는 Val 또는 Trp 또는 Ser; 위치 103의 Xaa는 Ser; 위치 106의 Xaa 는 Glu 또는 His; 위치 109의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 25.

제20항에 있어서, 위치 4의 Xaa는 Ile; 위치 5의 Xaa는 Ala 또는 Ile; 위치 6의 Xaa는 Pro 또는 Leu; 위치 9의 Xaa는 Ala 또는 Leu; 위치 11 의 Xaa는 His; 위치 15 의 Xaa는 Arg 또는 Val 또는 Ile; 위치 18 의 Xaa는 Ala 또는 Asn, 또는 Arg; 위치 20 의 Xaa는 Ser; 위치 23 의 Xaa 는 Pro 또는 Ser; 위치 24 의 Xaa는 Ala; 위치 28 의 Xaa는 Ala 또는 Ser 또는 Asp, 또는 Asn; 위치 31 의 Xaa는 Val 또는 Met; 위치 32 의 Xaa는 Ser; 위치 35 의 Xaa 는 Ile, 또는 Leu, 또는 Asp; 위치 36 의 Xaa는 Asp; 위치 37 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 41 의 Xaa는 Leu 또는 Thr; 위치 42 의 Xaa는 Ser; 위치 45 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 46 의 Xaa는 Ala 또는 Ser; 위치 48 의 Xaa는 Val, 또는 Pro; 위치 49 의 Xaa는 His; 위치 51 의 Xaa는 Ser; 위치 53 의 Xaa는 Asn 또는 His 또는 Gln; 위치 55 의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 26.

제20항에 있어서, 위치 59 의 Xaa는 Gly; 위치 62 의 Xaa는 Ala 또는 Pro; 위치 65 의 Xaa는 Arg 또는 Ser; 위치 67 의 Xaa는 Gln 또는 Val; 위치 68 의 Xaa는 Glu, 또는 Val 또는 Trp; 위치 71 의 Xaa는 Val; 위치 73 의 Xaa는 Ser 또는 Tyr; 위치 74 의 Xaa는 Trp; 위치 77 의 Xaa 는 Pro; 위치 79 의 Xaa는 Ser; 위치 81 의 Xaa는 Thr; 위치 8

4 의 Xaa는 Ile 또는 Thr; 위치 86 의 Xaa는 Arg; 위치 87 의 Xaa는 Ala 또는 Met; 위치 91 의 Xaa는 Glu; 위치 95 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 98 의 Xaa는 Gln; 위치 102의 Xaa 는 Val 또는 Trp 또는 Ser; 위치 103의 Xaa는 Ser; 위치 106의 Xaa 는 Glu 또는 His; 위치 109의 Xaa는 Glu인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 27.

제 1항에 있어서,

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ala
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro
Asn
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala
Ser
Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro
Leu
Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp
Gly
Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr
Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:66];

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys
Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
Glu
Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:67];

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys
Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
Glu
Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:68];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
Leu

Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:69];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
Leu
Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:70];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
Leu
Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly

Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:71];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly
Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
Ala
Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
Asp
Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:72];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly
Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
Ala
Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
Asp
Trp Gln Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:73];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu
Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:74];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
Leu
Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:75];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn

Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly
Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
Ala
Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
Asp
Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu
Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:76];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly
Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
Ala
Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
Asp
Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu
Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:77];

Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His Leu
Lys
Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn Gly
Glu
Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro Asn
Leu
Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser
Gly
Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro Ser
Ala

Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala Gly
Asp
Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Ser
Leu
Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:78];

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys
Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
Glu
Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
Leu
Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:79];

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys
Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
Glu
Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
Leu
Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:80];

Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys
Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn Ser
Glu
Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
Leu
Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
Ala
Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu
Ala
Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly
Asp
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys Thr
Leu
Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:81];

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His
Leu
Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn
Gly
Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro
Asn
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:82];

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His
Leu
Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn
Gly

Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro
Asn
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:83];

Met Ala Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr His
Leu
Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn Asn Leu Asn
Gly
Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn Asn Leu Arg Arg Pro
Asn
Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Ser
Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:84];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ala
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro

Leu
Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp
Gly
Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr
Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:85];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala
Ser
Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro
Leu
Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp
Gly
Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr
Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:86];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Ala Ile Glu Ser Ile Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro
Leu
Ala Thr Ala Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp
Gly
Asp Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys
Thr

Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln [SEQ ID NO:87];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn
Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:88];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:89];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu
Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn

Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:90];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ala
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:91];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:92];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Ser
Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:93];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Val Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Ser Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val

Ser
Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:94];

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr
Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:95]; and

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ala
Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro
Asn
Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala
Ser
Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Val Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Thr Ile Lys Ala
Gly
Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Ser
Leu Glu His Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:96].

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn

Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Ser Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 296]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ala Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Ser Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 300]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 301]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala

Glu Asp Val Asp Ile Leu Met Asp Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 308]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val

Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 309]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu

Lys Arg Pro Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Asp

Glu Asp Met Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn

Leu Glu Ser Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 310]

Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Asn

Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu Lys Arg Pro

Pro Ala Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ala Glu Asp Val

Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Leu Pro Asn Leu Glu Ser

Phe Val Arg Ala Val Lys Asn Leu Glu Asn Ala Ser Gly Ile Glu

Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser Ala Thr Ala

Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly Asp Trp Gln

Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr Leu Glu Gln

Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 315]

Met Ala Tyr Pro Glu Thr Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
Asn

Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His Leu Lys Arg
Pro

Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn Ser Glu Asp
Met

Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro Asn Leu Leu
Ala

Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala Ser Gly Ile
Glu

Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro Ser Ala Thr
Ala

Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala Gly Asp Trp
Gln

Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val Thr Leu Glu
Gln

Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 316]

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Leu Ile His His
Leu

Lys Ile Pro Pro Asn Pro Ser Leu Asp Ser Ala Asn Leu Asn
Ser

Glu Asp Val Ser Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro
Asn

Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala
Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro
Ser

Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala
Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO.: 318]

로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 28.

제 1항의 폴리펩티드, 제 2항의 폴리펩티드, 제 3항의 폴리펩티드, 제 4항의 폴리펩티드, 제 5항의 폴리펩티드, 제 6항의 폴리펩티드, 제 7항의 플리펩티드, 제 8항의 폴리펩티드, 제 9항의 폴리펩티드, 제10항의 폴리펩티드, 제11항의 폴리펩티드, 제12항의 폴리펩티드, 제13항의 폴리펩티드, 제14항의 폴리펩티드, 제15항의 폴리펩티드, 제16항의 폴리펩티드, 제17항의 폴리펩티드, 제18항의 폴리펩티드, 제19항의 폴리펩티드, 제20항의 폴리펩티드, 제21항의 폴리펩티드,

제22항의 폴리펩티드, 제23항의 폴리펩티드, 제24항의 폴리펩티드, 제25항의 폴리펩티드, 제26항의 폴리펩티드, 제27항의 폴리펩티드로 구성되는 군으로부터 선택되는 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 치료적으로 유효한 양과 제약학적으로 허용가능한 담체로 이루어지는 조혈세포 결핍 치료를 위한 제약조성물.

청구항 29.

제28항에 있어서, SEQ ID NO: 88 에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 치료적으로 유효한 양과 제약학적으로 허용가능한 담체로 이루어지는 것을 특징으로 하는 제약조성물.

청구항 30.

제28항에 있어서, SEQ ID NO: 89 에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 치료적으로 유효한 양과 제약학적으로 허용가능한 담체로 이루어지는 것을 특징으로 하는 제약조성물.

청구항 31.

제28항에 있어서, SEQ ID NO: 90 에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드의 치료적으로 유효한 양과 제약학적으로 허용가능한 담체로 이루어지는 것을 특징으로 하는 제약조성물.

청구항 32.

제28항에 있어서,

SEQ ID NO: 66에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 67에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 68에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 69에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 70에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 71에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 72에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 73에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 74에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 75에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 76에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 77에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 78에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 79에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 80에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 81에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 82에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 83에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 84에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 85에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 86에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 87에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 91에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 92에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 93에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 94에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 95에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 96에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 258에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 259에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 260에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 261에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 262에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 263에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 278에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 279에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 314에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 315에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 316에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 264에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 265에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 266에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 267에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 268에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 269에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 270에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 271에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 272에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 273에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 274에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 275에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 276에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 277에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 280에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 281에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 282에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 283에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 284에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 285에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 286에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 287에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 288에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 289에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 299에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 300에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 301에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 302에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 303에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 304에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 305에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 306에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 307에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 308에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 309에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 310에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 311에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 312에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 313에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 314에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 317에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 318에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 319에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 320에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 321에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 322에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 323에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 324에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 325에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

SEQ ID NO: 326에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드,

로 구성되는 군으로부터 선택된 폴리펩티드의 치료적으로 유효한 양과 제약학적으로 허용가능한 담체로 이루어지는 것을 특징으로 하는 제약조성물.

청구항 33.

치료가 필요한 환자에게 조혈세포 생산의 생산을 자극하기 위한 의약의 제조방법으로서, 제 1항 내지 제 27항중 어느 한 항의 폴리펩티드를 사용하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 34.

치료가 필요한 환자에게 조혈세포 생산의 생산을 자극하기 위한 의약의 제조방법으로서, 제 1항의 폴리펩티드, 여기서 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO:88의 폴리펩티드를 사용하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 35.

치료가 필요한 환자에게 조혈세포 생산의 생산을 자극하기 위한 의약의 제조방법으로서, 제 1항의 폴리펩티드, 여기서 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO:89의 폴리펩티드를 사용하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 36.

치료가 필요한 환자에게 조혈세포 생산의 생산을 자극하기 위한 의약의 제조방법으로서, 제 1항의 폴리펩티드, 여기서 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO:90의 폴리펩티드를 사용하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 37.

치료가 필요한 환자에게 조혈세포 생산의 생산을 자극하기 위한 의약의 제조방법으로서, 제 1항의 폴리펩티드, 여기서 상기 폴리펩티드는 SEQ ID NO:66 내지 96, SEQ ID NO:296, SEQ ID NO:300, SEQ ID NO:301, SEQ ID NO:308-310, SEQ ID NO:315, SEQ ID NO:316, SEQ ID NO:318로 이루어진 군으로부터 선택되는 폴리펩티드, 를 사용하는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.

청구항 38.

제 1항의 폴리펩티드, 제 2항의 폴리펩티드, 제 3항의 폴리펩티드, 제 4항의 폴리펩티드, 제 5항의 폴리펩티드, 제 6항의 폴리펩티드, 제 7항의 폴리펩티드, 제 8항의 폴리펩티드, 제 9항의 폴리펩티드, 제10항의 폴리펩티드, 제11항의 폴리펩티드, 제12항의 폴리펩티드, 제13항의 폴리펩티드, 제14항의 폴리펩티드, 제15항의 폴리펩티드, 제16항의 폴리펩티드, 제17항의 폴리펩티드, 제18항의 폴리펩티드, 제19항의 폴리펩티드, 제20항의 폴리펩티드, 제21항의 폴리펩티드, 제22항의 폴리펩티드, 제23항의 폴리펩티드, 제24항의 폴리펩티드, 제25항의 폴리펩티드, 제26항의 폴리펩티드 또는 제27항의 폴리펩티드로 구성되는 군으로 부터 선택되는 폴리펩티드를 코드화하는 DNA와 벡터 DNA로 이루어지는 재조합 DNA서열.

청구항 39.

제38항에 있어서, SEQ ID NO: 97 에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA 로 이루어지는 것을 특징으로 하는 재조합 DNA서열.

청구항 40.

제38항에 있어서, SEQ ID NO: 100또는 103에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA로 이루어지는 것을 특징으로 하는 재조합 DNA서열.

청구항 41.

제38항에 있어서, SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA 로 이루어지는 것을 특징으로 하는 재조합 DNA서열.

청구항 42.

제38항에 있어서,

SEQ ID NO: 98에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 99에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 101에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 102에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 104에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 105에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 106에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 107에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 108에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 109에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 110에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 111에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 112에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 113에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 114에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 115에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 116에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 117에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 118에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 119에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 120에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 121에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 122에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 123에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 124에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 125에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 126에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 127에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 160에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 398에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 399에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 346에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 347에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 303에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 404에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 405에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 332에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 333에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 334에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 335에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 336에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 337에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 338에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 339에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 340에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 341에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 342에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 343에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 344에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 345에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 348에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 349에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 350에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 352에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 353에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 354에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 355에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 356에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 357에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 358에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 359에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 360에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 361에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 362에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 363에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 364에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 365에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 366에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 367에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 368에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 369에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 370에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 371에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 372에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 373에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 374에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 375에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 376에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 377에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 378에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 379에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 380에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 381에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 382에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 384에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 385에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 386에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA

SEQ ID NO: 387에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 388에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 389에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 390에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 391에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 392에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

로부터 선택된 DNA와 벡터 DNA로 이루어진 것을 특징으로하는 재조합 DNA서열.

청구항 43.

제38항의 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 원핵생물 숙주세포.

청구항 44.

제43항에 있어서, SEQ ID NO: 97 에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA 로 이루어진 재조합 DNA벡터를 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 것을 특징으로 하는 원핵생물 숙주세포.

청구항 45.

제43항에 있어서, SEQ ID NO: 100 또는 103에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA 로 이루어진 재조합 DNA벡터를 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 것을 특징으로 하는 원핵생물 숙주세포.

청구항 46.

제43항에 있어서, SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA와 벡터 DNA 로 이루어진 재조합 DNA벡터를 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 것을 특징으로 하는 원핵생물 숙주세포.

청구항 47.

하기의 단계들로 이루어지는 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 제조방법:

(a)제38항의 DNA서열과 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA의 발현을 허용하는 조건하에서 배양 하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩티드를 수거하는 단계.

청구항 48.

제47항에 있어서,

(a)SEQ ID NO: 97 에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA 의 발현을 허용하는 조건하에서 배양하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩티드를 수거하는 단계,

로 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 49.

제47항에 있어서,

(a)SEQ ID NO: 100 또는 103에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA 의 발현을 허용하는 조건하에서 배양하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩티드를 수거하는 단계,

로 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 50.

제47항에 있어서,

(a)SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA 의 발현을 허용하는 조건하에서 배양하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩티드를 수거하는 단계,

로 이루어지는 것을 특징으로 하는 방법.

청구항 51.

SEQ ID NO: 97에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 100에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 103에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 160에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 404에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 405에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 364에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 368에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 369에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 376에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 377에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 378에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

SEQ ID NO: 385에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA,

로 구성되는 군으로부터 선택된 DNA서열을 갖는 유전자를 포함하는 벡터.

청구항 52.

프로모터, 리보솜 결합부위, 및 SEQ ID NO: 88에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드, SEQ ID NO: 89 에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드, SEQ ID NO: 90에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로 구성되는

군으로 부터 선택된 폴리펩터드를 코드화 하는 DNA서열에 직접 연결된 시그날 펩티드로 이루어지는 재조합 DNA 벡터에서, 상기 벡터는 상기의 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 발현을 일으킬 수 있는 것을 특징으로 하는 재조합 DNA벡터.

청구항 53.

제51항에 있어서, 프로모터가 AraBAD 인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA벡터.

청구항 54.

제51항에 있어서, 리보솜 결합부위가 g10-L인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA벡터.

청구항 55.

제51항에 있어서, 시그날 펩티드가 lamB 시그날 펩티드인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA 벡터.

청구항 56.

제51항에 있어서, 시그날 펩티드는 제 8도에서 기술된 lamB 시그날 펩티드인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA 벡터.

청구항 57.

제51항에 있어서, 프로모터는 AraBAD 이고 리보솜 결합부위는 g10-L인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA 벡터.

청구항 58.

제51항에 있어서, 프로모터는 AraBAD 이고, 리보솜 결합부위는 g10-L이고, 시그날 펩티드는 lamB시그날 펩티드인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA 벡터.

청구항 59.

제51항에 있어서, 프로모터는 AraBAD 이고, 리보솜 결합부위는 g10-L이고, 시그날 펩티드는 제 8도에서 기술된 lamB시그날 펩티드인 것을 특징으로 하는 재조합 DNA 벡터.

청구항 60.

제51항의 벡터를 함유하는 재조합체 세균숙주에서, 상기 숙주는 SEQ ID NO: 88에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드, SEQ ID NO: 89 에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드, SEQ ID NO: 90에 해당하는 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드로 구성되는 군으로 부터 선택된 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드를 분비하는 것을 특징으로 하는 숙주.

청구항 61.

제 1항에 있어서, 하기 식의 폴리펩티드

```
        1               5                   10
(Met)m-Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr

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

Asp Trp Xaa Glu Phe Arg Xaa Lys Leu Thr Phe Tyr Leu
               120                 125
Xaa Thr Leu Glu Xaa Ala Gln Xaa Gln Gln Thr Thr Leu
    130
Ser Leu Ala Ile Phe [SEQ ID NO:129]
```

에서, m 은 0또는 1이고, 위치 18 의 Xaa는 Asn 또는 Ile; 위치 25 의 Xaa 는 Thr 또는 His; 위치 29 의 Xaa 는 Gl n, Arg,또는 Val; 위치 32 의 Xaa는 Leu, Ala,또는 Asn; 위치 37 의 Xaa는 Phe, Pro, 또는 Ser; 위치 42 의 Xaa는 Glu, Ala,또는 Ser; 위치 45 의 Xaa 는 Gln, Val, 또는 Met; 위치 51의 Xaa는 Asn 또는 Arg; 위치 55 의 Xaa는 Ar g, Leu, 또는 Thr; 위치 59 의 Xaa 는 Glu 또는 Leu; 위치 60 의 Xaa 는 Ala 또는 Ser; 위치 62 의 Xaa는 Asn, 또는 Val; 위치 67 의 Xaa는 Ser, Asn,또는 His; 위치 69 의 Xaa는 Gln 또는 Glu; 위치 73 의 Xaa는 Ala 또는 Gly; 위치 76 의 Xaa는 Ser, 또는 Ala; 위치 79 의 Xaa는 Lys 또는 Arg; 위치 82 의 Xaa 는 Leu, Glu, 또는 Val; 위치 87의 X aa는 Leu, 또는 Ser; 위치 93 의 Xaa는 Pro 또는 Ser; 위치 98 의 Xaa 는 His, Ile, 또는 Thr; 위치 101 의 Xaa는 A sp, 또는 Ala; 위치 105의 Xaa 는 Asn 또는 Glu; 위치 109의 Xaa는 Arg 또는 Glu; 위치 116의 Xaa는 Lys 또는 Va l; 위치 120의 Xaa 는 Asn, Gln, 또는 His; 위치 123 의 Xaa는 Ala 또는 Glu이고, Xaa 로 표시되는 아미노산중 4 내지 27 는 천연사람 인터류킨-3의 대응하는 아미노산과 다르고, 폴리펩티드의 N- 말단으로부터 아미노산 1내지 14의 1내지 14 가 결실되고 및/또는 폴리 펩티드의 C- 말단으로부터 아미노산 119내지 133의 1 내지 15 가 결실된 폴리펩티드, 또는 실질적으로 동일한 구조와 실질적으로 동일한 생물학적 활성을 갖는 폴리펩티드인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

청구항 62.

제47항에 있어서,

(a)SEQ ID NO: 160에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA 의 발현을 허용하는 조건하에서 배양하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩티드를 수거하는 단계,

로 이루어지는 것을 특징으로 하는 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 제조 방법.

청구항 63.

제47항에 있어서,

(a)SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 벡터 DNA로 이루어진 재조합 DNA서열을 포함하고 코드화된 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주세포를 재조합 DNA 의 발현을 허용하는 조건하에서 배양하는 단계,

(b)배양물로부터 폴리펩리드를 수거하는 단계,

로 이루어지는 것을 특징으로 하는 돌연변이체 사람 인터류킨-3 폴리펩티드의 제조 방법.

청구항 64.

SEQ ID NO: 160에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 와 SEQ ID NO: 161에 해당하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 DNA 로 구성되는 군으로부터 선택된 DNA서열과 벡터 DNA 로 이루어진 재조합 DNA벡터를 함유하고 코드화된 폴리펩터드를 발현할 수 있는 원핵생물 숙주세포.

청구항 65.

제 1항에 있어서,

Met Ala Asn Cys Ser Ile Met Ile Asp Glu Ile Ile His His
Leu
Lys Arg Pro Pro Asn Pro Leu Leu Asp Pro Asn Asn Leu Asn
Ser
Glu Asp Met Asp Ile Leu Met Glu Arg Asn Leu Arg Thr Pro
Asn
Leu Leu Ala Phe Val Arg Ala Val Lys His Leu Glu Asn Ala
Ser

Gly Ile Glu Ala Ile Leu Arg Asn Leu Gln Pro Cys Leu Pro
Ser
Ala Thr Ala Ala Pro Ser Arg His Pro Ile Ile Ile Lys Ala
Gly

Asp Trp Gln Glu Phe Arg Glu Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Val
Thr

Leu Glu Gln Ala Gln Glu Gln Gln [SEQ ID NO:89].

인 것을 특징으로 하는 폴리펩티드.

도면

도면 1

```
    1                   5                  10
ATG GCT CCA ATG ACT CAG ACT ACT TCT CTT AAG ACT TCT
Met Ala Pro Met Thr Gln Thr Thr Ser Leu Lys Thr Ser

        15                  20                  25
TGG GTT AAC TGC TCT AAC ATG ATC GAT GAA ATT ATA ACA
Trp Val Asn Cys Ser Asn Met Ile Asp Glu Ile Ile Thr

                30                  35
CAC TTA AAG CAG CCA CCT TTG CCT TTG CTG GAC TTC AAC
His Leu Lys Gln Pro Pro Leu Pro Leu Leu Asp Phe Asn

    40                  45                  50
AAC CTC AAT GGG GAA GAC CAA GAC ATT CTG ATG GAA AAT
Asn Leu Asn Gly Glu Asp Gln Asp Ile Leu Met Glu Asn

            55                  60
AAC CTT CGA AGG CCA AAC CTG GAG GCA TTC AAC AGG GCT
Asn Leu Arg Arg Pro Asn Leu Glu Ala Phe Asn Arg Ala

65                  70                  75
GTC AAG AGT TTA CAG AAT GCA TCA GCA ATT GAG AGC ATT
Val Lys Ser Leu Gln Asn Ala Ser Ala Ile Glu Ser Ile

        80                  85                  90
CTT AAA AAT CTC CTG CCA TGT CTG CCC CTG GCC ACG GCC
Leu Lys Asn Leu Leu Pro Cys Leu Pro Leu Ala Thr Ala

                95                  100
GCA CCC ACG CGA CAT CCA ATC CAT ATC AAG GAC GGT GAC
Ala Pro Thr Arg His Pro Ile His Ile Lys Asp Gly Asp

    105                 110                 115
TGG AAT GAA TTC CGT CGT AAA CTG ACC TTC TAT CTG AAA
Trp Asn Glu Phe Arg Arg Lys Leu Thr Phe Tyr Leu Lys

            120                 125
ACC TTG GAG AAC GCG CAG GCT CAA CAG ACC ACT CTG TCG
Thr Leu Glu Asn Ala Gln Ala Gln Gln Thr Thr Leu Ser

130
CTA GCG ATC TTT TAA TAA  [SEQ ID NO:144]
Leu Ala Ile Phe END END  [SEQ ID NO:128]
```

도면 2

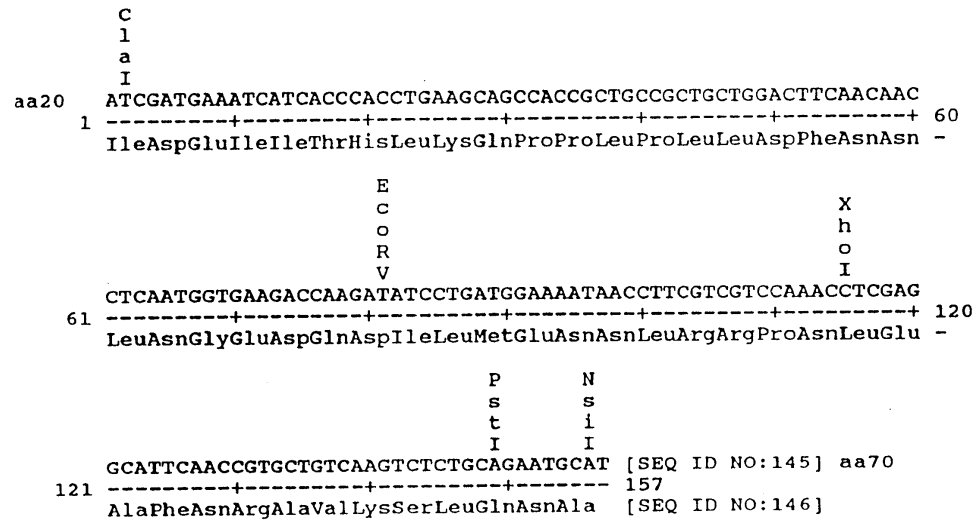
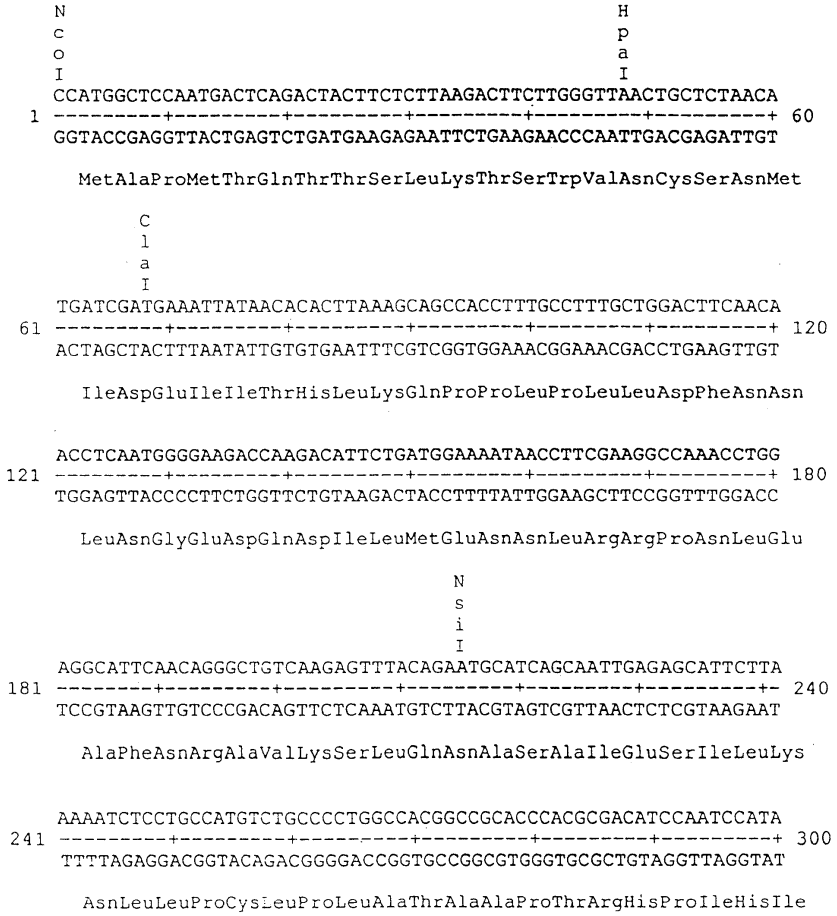
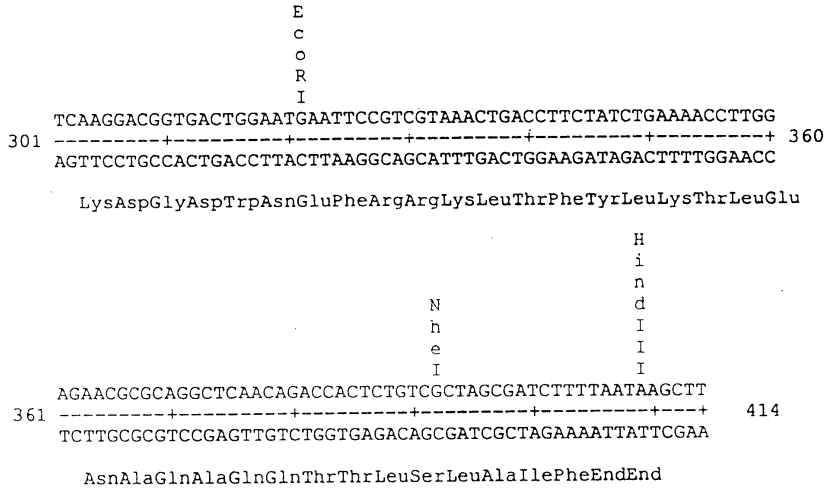


FIG. 2: ClaI 내지 NsiI 제한 단편

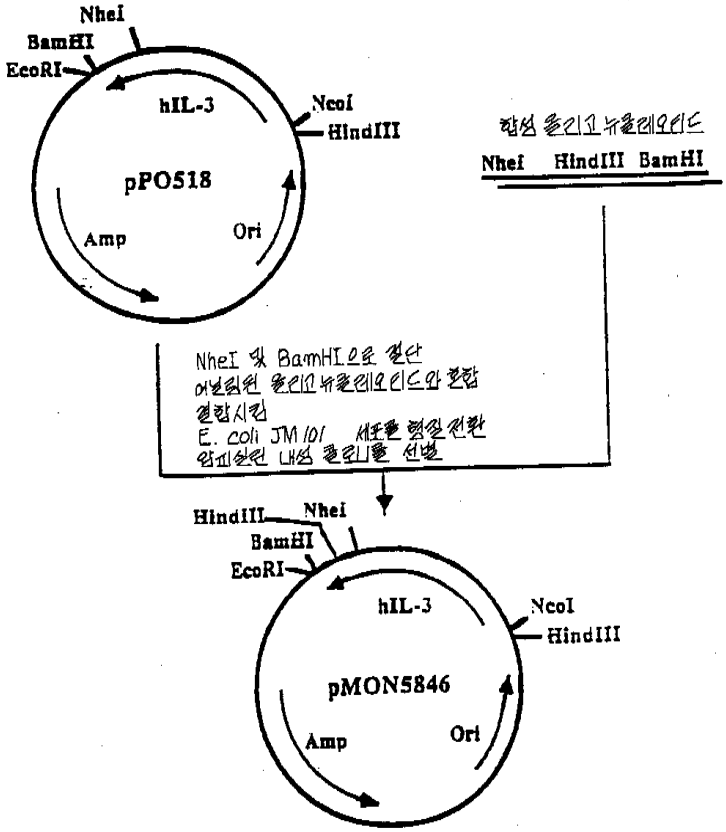
도면 3A


N
c
o
I
H
p
a
I
CCATGGCTCCAATGACTCAGACTACTTCTCTTAAGACTTCTTGGGTTAACTGCTCTAACA
1 ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 60
GGTACCGAGGTTACTGAGTCTGATGAAGAGAATTCTGAAGAACCCAATTGACGAGATTGT
MetAlaProMetThrGlnThrThrSerLeuLysThrSerTrpValAsnCysSerAsnMet
C
l
a
I
TGATCGATGAAATTATAACACACTTAAAGCAGCCACCTTTGCCTTTGCTGGACTTCAACA
61 ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 120
ACTAGCTACTTTAATATTGTGTGAATTTCGTCGGTGGAAACGGAAACGACCTGAAGTTGT
IleAspGluIleIleThrHisLeuLysGlnProProLeuProLeuLeuAspPheAsnAsn
ACCTCAATGGGGAAGACCAAGACATTCTGATGGAAAATAACCTTCGAAGGCCAAACCTGG
121 ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 180
TGGAGTTACCCCTTCTGGTTCTGTAAGACTACCTTTTATTGGAAGCTTCCGGTTTGGACC
LeuAsnGlyGluAspGlnAspIleLeuMetGluAsnAsnLeuArgArgProAsnLeuGlu
N
s
i
I
AGGCATTCAACAGGGCTGTCAAGAGTTTACAGAATGCATCAGCAATTGAGAGCATTCTTA
181 --------+---------+---------+---------+---------+---------+- 240
TCCGTAAGTTGTCCCGACAGTTCTCAAATGTCTTACGTAGTCGTTAACTCTCGTAAGAAT
AlaPheAsnArgAlaValLysSerLeuGlnAsnAlaSerAlaIleGluSerIleLeuLys
AAAATCTCCTGCCATGTCTGCCCCTGGCCACGGCCGCACCCACGCGACATCCAATCCATA
241 ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 300
TTTTAGAGGACGGTACAGACGGGGACCGGTGCCGGCGTGGGTGCGCTGTAGGTTAGGTAT
AsnLeuLeuProCysLeuProLeuAlaThrAlaAlaProThrArgHisProIleHisIle

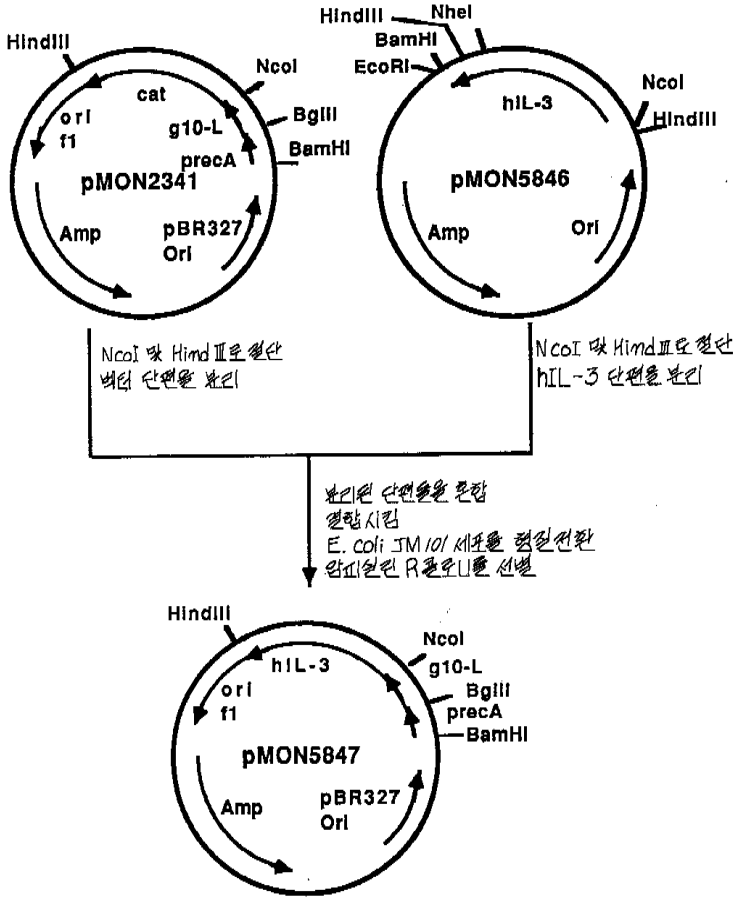
도면 3B


E
c
o
R
I
TCAAGGACGGTGACTGGAATGAATTCCGTCGTAAACTGACCTTCTATCTGAAAACCTTGG
301 ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 360
AGTTCCTGCCACTGACCTTACTTAAGGCAGCATTTGACTGGAAGATAGACTTTTGGAACC
LysAspGlyAspTrpAsnGluPheArgArgLysLeuThrPheTyrLeuLysThrLeuGlu
H
i
n
d
N
h
e
I
I
I
AGAACGCGCAGGCTCAACAGACCACTCTGTCGCTAGCGATCTTTTAATAAGCTT
361 ---------+---------+---------+---------+---------+---+ 414
TCTTGCGCGTCCGAGTTGTCTGGTGAGACAGCGATCGCTAGAAAATTATTCGAA
AsnAlaGlnAlaGlnGlnThrThrLeuSerLeuAlaIlePheEndEnd

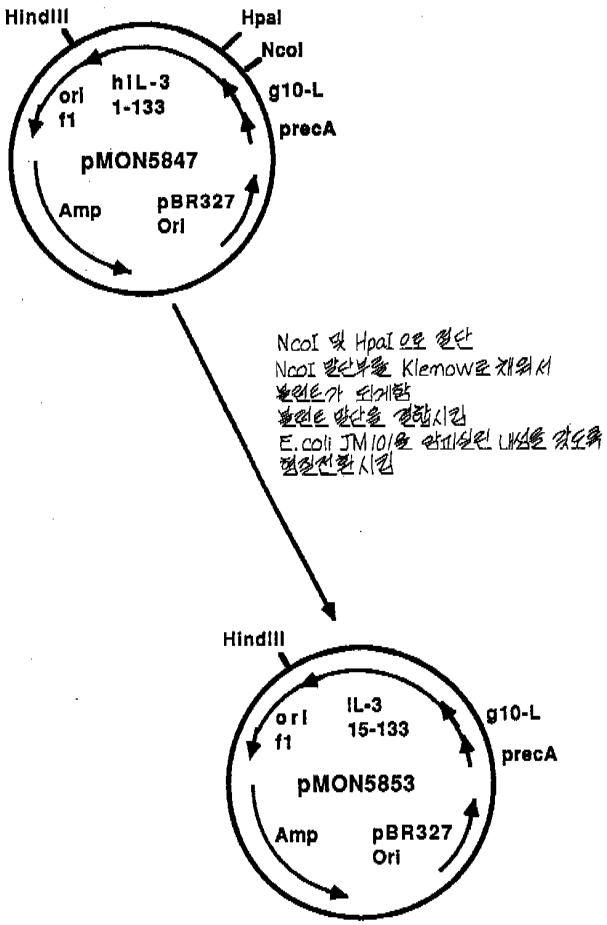
도면 4


NheI
BamHI
EcoRI
hIL-3
NcoI
HindIII
pPO518
Amp
Ori
합성 올리고뉴클레오티드
NheI HindIII BamHI
NheI 및 BamHI으로 절단
어닐링된 올리고뉴클레오티드와 혼합
결합시킴
E. coli JM101 세포를 형질전환
암피실린 내성 콜로니를 선별
HindIII
NheI
BamHI
EcoRI
hIL-3
NcoI
HindIII
pMON5846
Amp
Ori

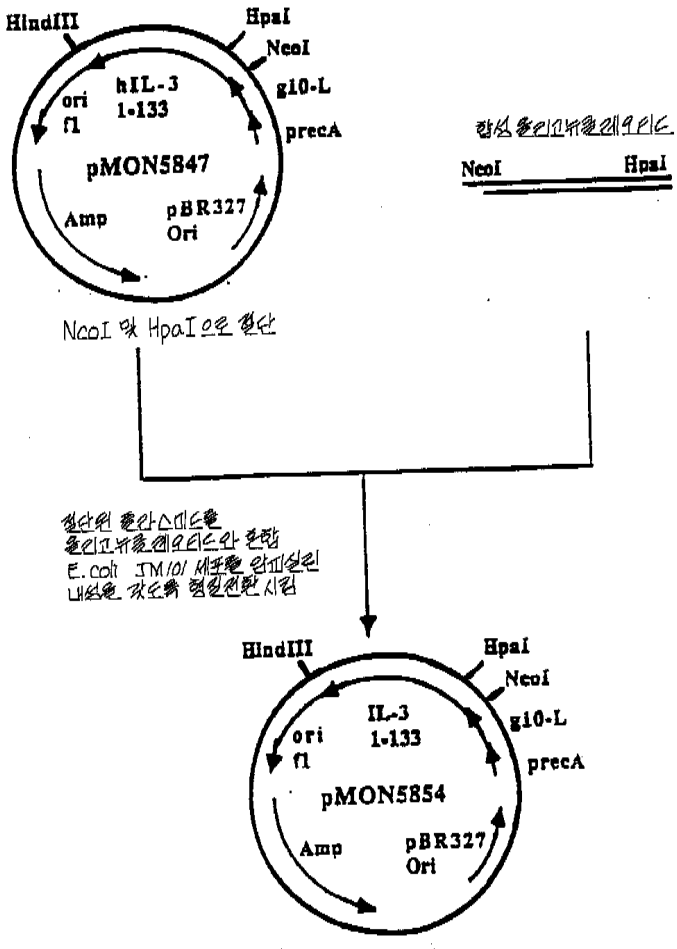
도면 5


HindIII
NcoI
cat
ori
f1
g10-L
BglII
precA
BamHI
pMON2341
Amp
pBR327
Ori
HindIII
NheI
BamHI
EcoRI
NcoI
hIL-3
HindIII
pMON5846
Amp
Ori
NcoI 와 HindIII로 절단
벡터 단편을 분리
NcoI 와 HindIII로 절단
hIL-3 단편을 분리
분리된 단편들을 혼합
결합시킴
E. coli JM101 세포를 형질전환
암피실린 R 콜로니를 선별
HindIII
hIL-3
ori
f1
NcoI
g10-L
BglII
precA
BamHI
pMON5847
Amp
pBR327
Ori

도면 6


HindIII
HpaI
NcoI
ori
f1
hIL-3
1-133
g10-L
precA
pMON5847
Amp
pBR327
Ori
NcoI 및 HpaI으로 절단
NcoI 절단부를 Klenow로 채워서
블런트가 되게함
블런트 말단을 결합시킴
E.coli JM101을 완피성된 내성을 갖도록
형질전환시킴
HindIII
ori
f1
IL-3
15-133
g10-L
precA
pMON5853
Amp
pBR327
Ori

도면 7

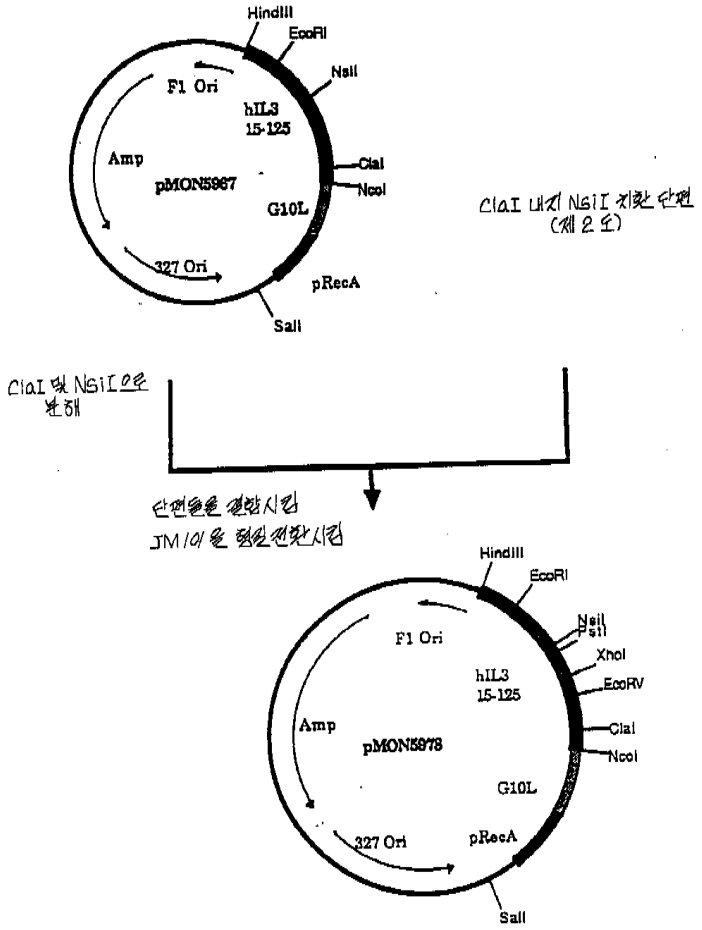

HindIII
HpaI
NcoI
ori
f1
hIL-3
1-133
g10-L
precA
pMON5847
Amp
pBR327
Ori
합성 올리고뉴클레오티드
NcoI
HpaI
NcoI 및 HpaI으로 절단
절단된 플라스미드를
올리고뉴클레오티드와 혼합
E. coli JM101 세포를 형질전환
내성을 갖도록 형질전환시킴
HindIII
HpaI
NcoI
ori
f1
IL-3
1-133
g10-L
precA
pMON5854
Amp
pBR327
Ori

도면 8

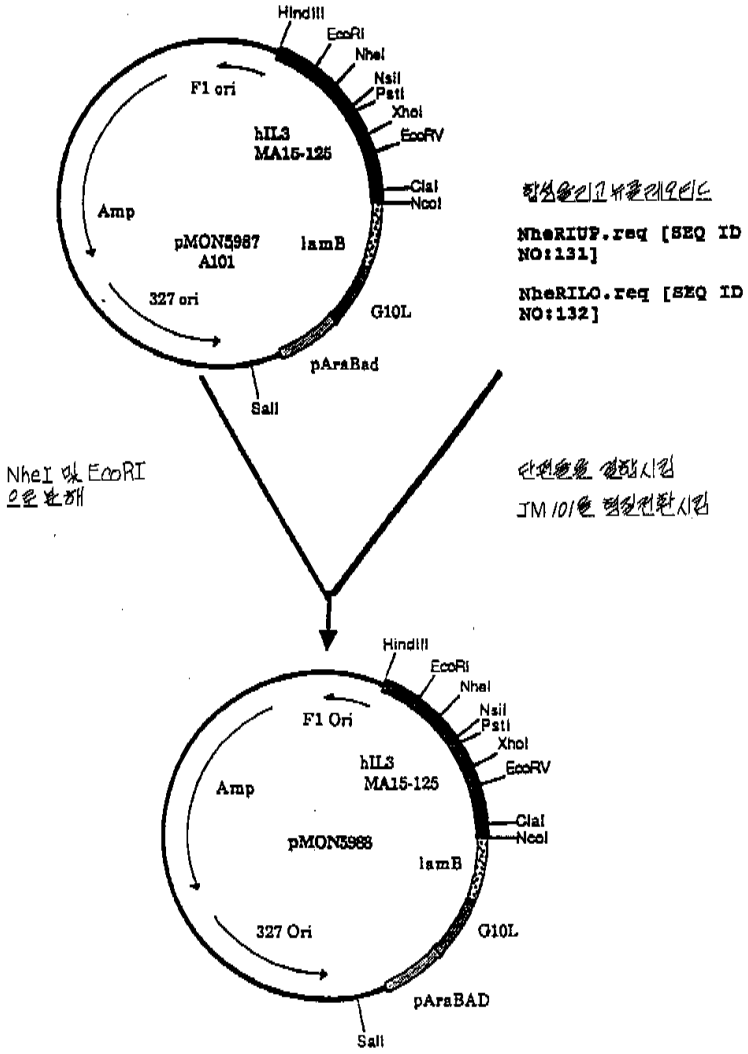
```
   ATGATGATTACTCTGCGCAAACTTCCTCTGGCGGTTGCCGTCGCAGCGGGCGTAATGTCT
1  ---------+---------+---------+---------+---------+---------+ 60
   TACTACTAATGAGACGCGTTTGAAGGAGACCGCCAACGGCAGCGTCGCCCGCATTACAGA

   MetMetIleThrLeuArgLysLeuProLeuAlaValAlaValAlaAlaGlyValMetSer

          N
          c
          o
          I
   GCTCAGGCCATGGCTAACTGC      [SEQ ID NO: 149]
61 ---------+---------+-- 81
   CGAGTCCGGTACCGATTGACG      [SEQ ID NO: 150]

   AlaGlnAlaMetAlaAsnCys      [SEQ ID NO: 14]
                  ↑
```

lamB 시그널 펩티드

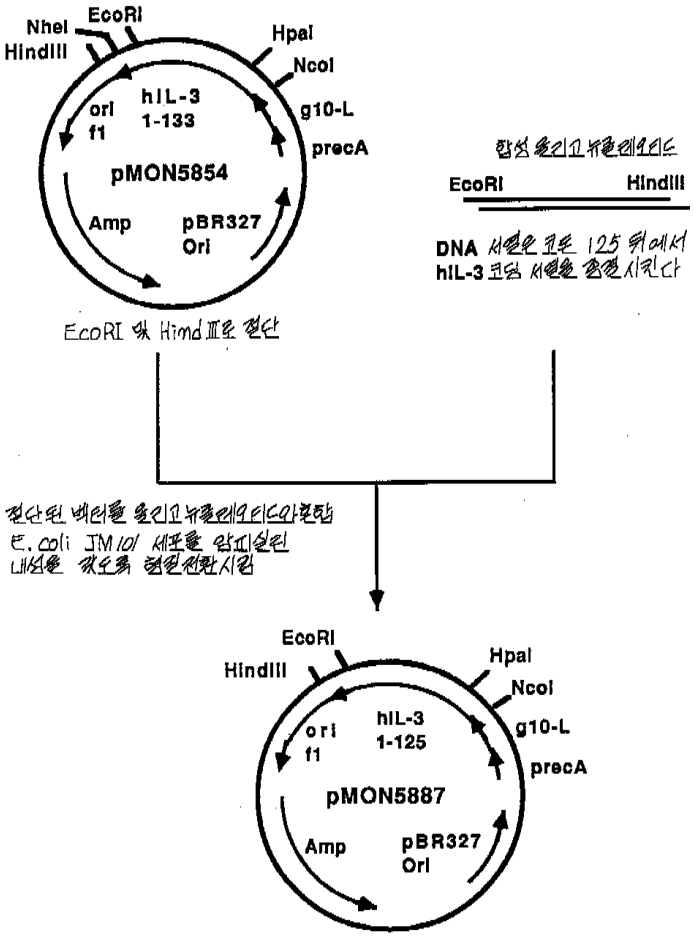
도면 9



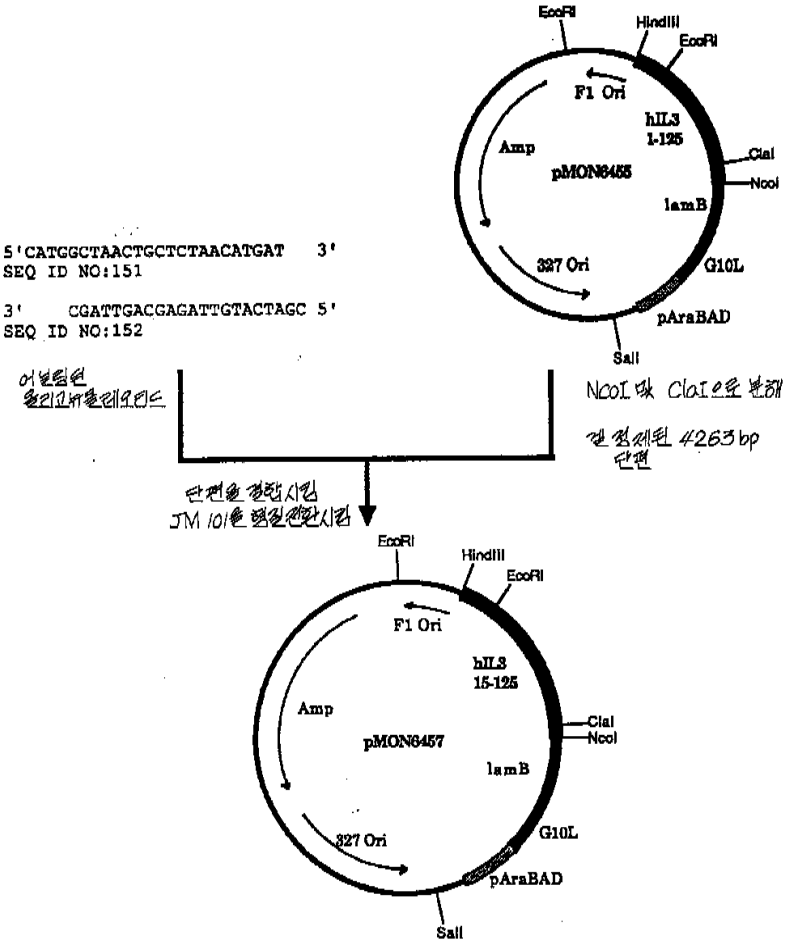
도면 10


HindIII
EcoRI
NheI
NsiI
PstI
XhoI
EcoRV
ClaI
NcoI
F1 ori
hIL3
MA15-125
Amp
pMON5987
A101
lamB
327 ori
G10L
pAraBad
SalI
합성올리고뉴클레오티드
NheRIUP.req [SEQ ID NO:131]
NheRILO.req [SEQ ID NO:132]
NheI 과 EcoRI 으로 분해
단편을 결찰시킴
JM 101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
NheI
NsiI
PstI
XhoI
EcoRV
ClaI
NcoI
F1 Ori
hIL3
MA15-125
Amp
pMON5988
lamB
327 Ori
G10L
pAraBAD
SalI

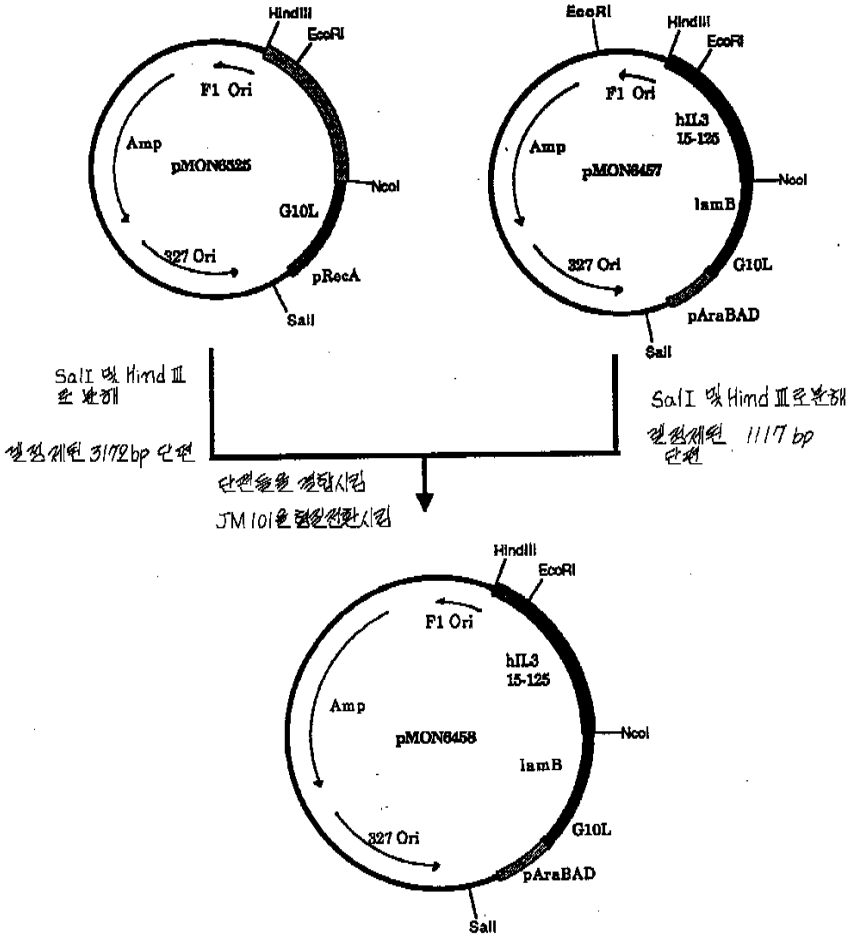
도면 11


NheI
EcoRI
HindIII
HpaI
NcoI
ori f1
hIL-3 1-133
g10-L
precA
pMON5854
Amp
pBR327 Ori
합성 올리고뉴클레오티드
EcoRI
HindIII
DNA 서열은 코돈 125 뒤에서 hIL-3 코딩 서열을 종결시킨다
EcoRI 와 HindIII로 절단
절단된 벡터를 올리고뉴클레오티드와혼합
E. coli JM101 세포를 감염시킨 배양을 광으로 형질전환시킴
EcoRI
HindIII
HpaI
NcoI
ori f1
hIL-3 1-125
g10-L
precA
pMON5887
Amp
pBR327 Ori

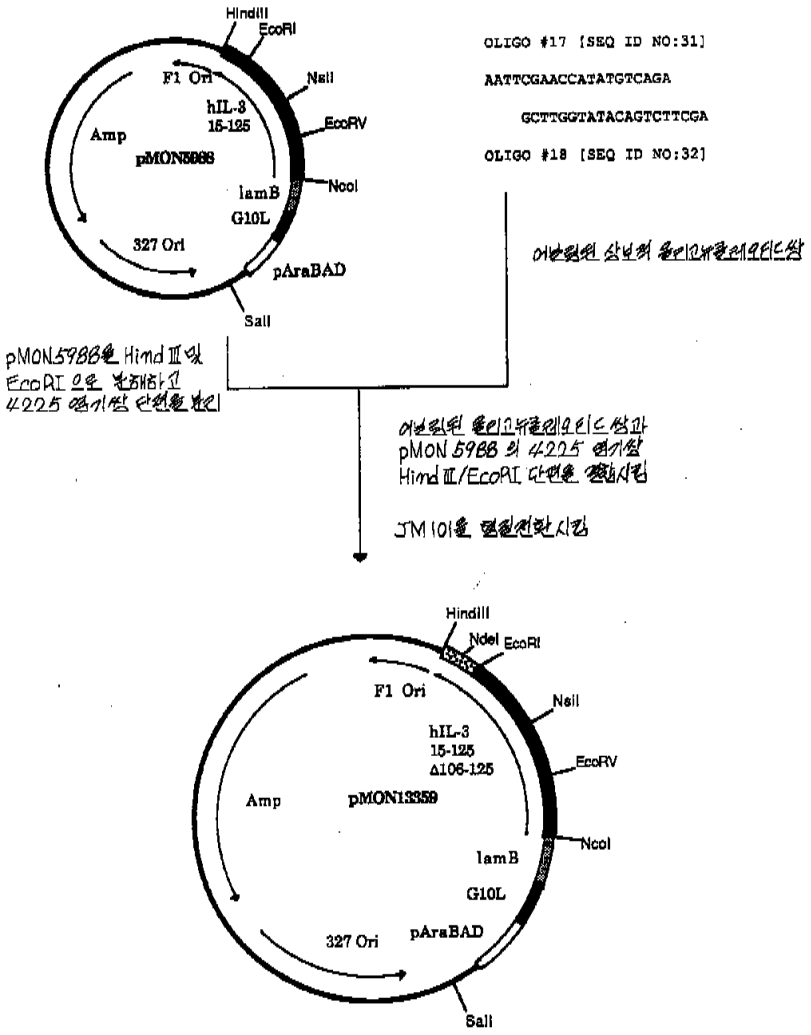
도면 12


5'CATGGCTAACTGCTCTAACATGAT 3'
SEQ ID NO:151
3' CGATTGACGAGATTGTACTAGC 5'
SEQ ID NO:152
어닐링된 올리고뉴클레오티드
NcoI 와 ClaI으로 분해
겔 정제된 4263bp 단편
단편을 결찰시킴
JM 101을 형질전환시킴
EcoRI
HindIII
EcoRI
F1 Ori
hIL3 1-125
ClaI
NcoI
lamB
G10L
pAraBAD
SalI
Amp
pMON6455
327 Ori
EcoRI
HindIII
EcoRI
F1 Ori
hIL3 15-125
ClaI
NcoI
lamB
G10L
pAraBAD
SalI
Amp
pMON6457
327 Ori

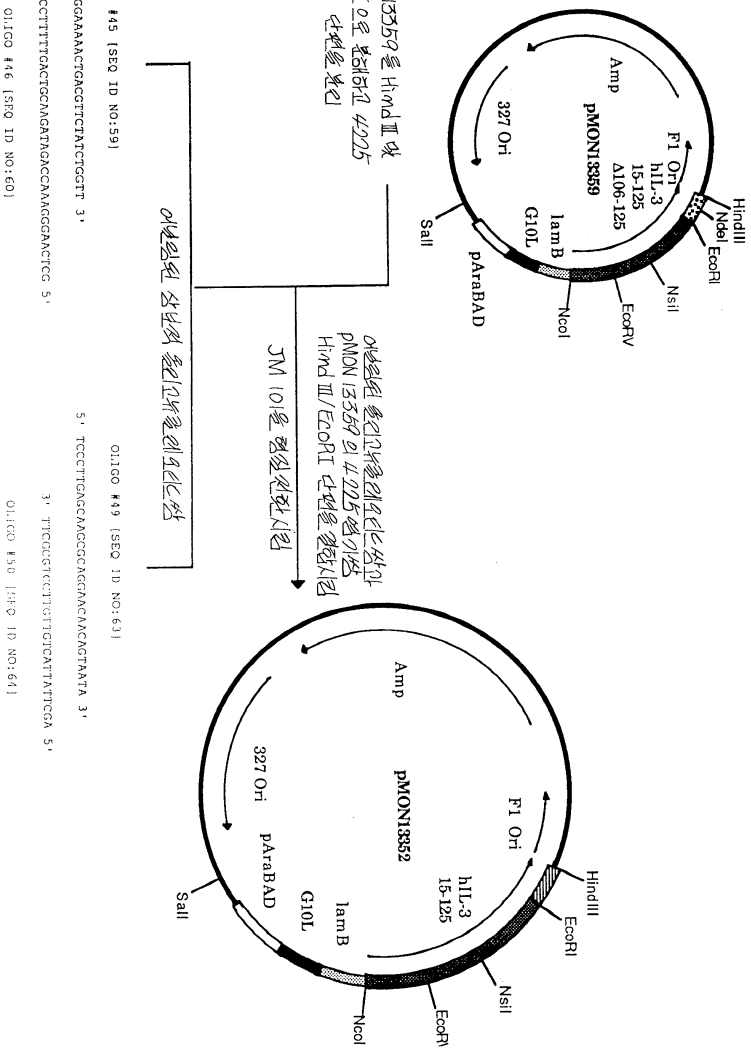
도면 13


HindIII
EcoRI
F1 Ori
Amp
pMON6525
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI
EcoRI
HindIII
EcoRI
F1 Ori
hIL3
15-125
Amp
pMON6457
NcoI
lamB
327 Ori
G10L
pAraBAD
SalI
SalI 및 HindIII 로 분해
절편제한 3172bp 단편
SalI 및 HindIII로분해
절편제한 1117 bp 단편
단편들을 결합시킴
JM101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
hIL3
15-125
Amp
pMON6458
NcoI
lamB
327 Ori
G10L
pAraBAD
SalI

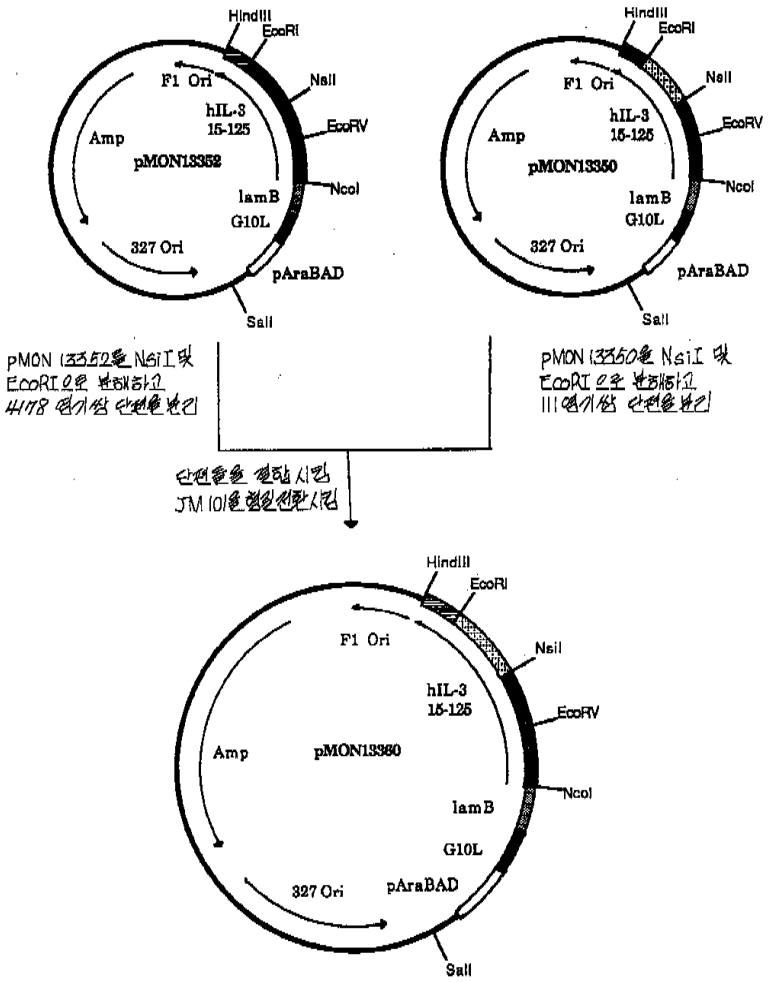
도면 14


HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON5988
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
OLIGO #17 [SEQ ID NO:31]
AATTCGAACCATATGTCAGA
GCTTGGTATACAGTCTTCGA
OLIGO #18 [SEQ ID NO:32]
어닐링된 삽보의 올리고뉴클레오티드쌍
pMON5988을 HindⅢ와
EcoRI으로 분해하고
4225 염기쌍 단편을 분리
어닐링된 올리고뉴클레오티드쌍과
pMON5988의 4225 염기쌍
HindⅢ/EcoRI 단편을 결합시킴
JM101을 형질전환시킴
HindIII
NdeI
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
Δ106-125
EcoRV
Amp
pMON13359
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI

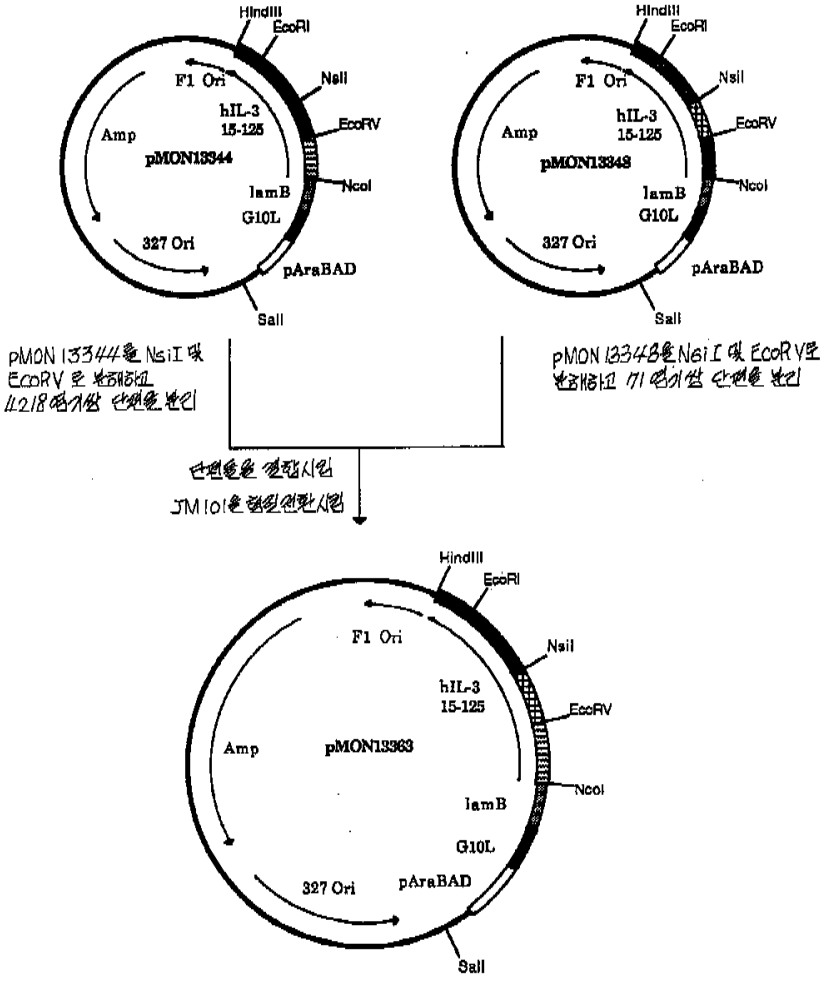
도면 15


pMON13359를 HindⅢ 와 EcoRI으로 분해하고 4225 염기쌍 단편을 분리
에셰리키아 콜리 삼분자 융합 레플리콘상
에셰리키아 콜리 삼분자 융합 레플리콘상과 pMON13359의 4225 염기쌍 HindⅢ/EcoRI 단편을 결합시킴
JM 101을 형질전환시킴
pMON13352
Amp
F1 Ori
hIL-3
15-125
lamB
G10L
pAraBAD
327 Ori
SalI
NcoI
EcoRV
NsiI
EcoRI
HindIII
pMON13359
Δ106-125
NdeI
OLIGO #45 [SEQ ID NO:59]
5' AATTCCGGAAAACTGAGGTTCTATCTGGTT 3'
OLIGO #46 [SEQ ID NO:60]
3' GGCCTTTTGACTGCAAGATAGACCAAGGAACTCG 5'
OLIGO #49 [SEQ ID NO:63]
5' TCCCTTGAGCAAGCGCAGGAACAACAGTAATA 3'
OLIGO #50 [SEQ ID NO:64]

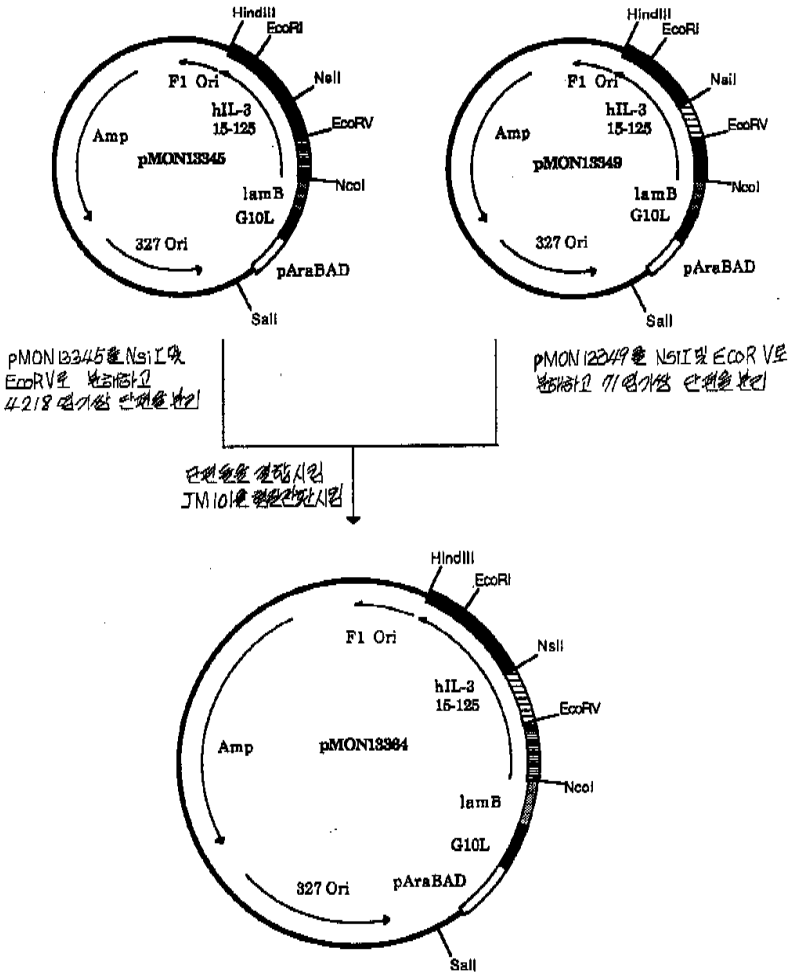
도면 16


HindIII
EcoRI
NsiI
EcoRV
NcoI
SalI
F1 Ori
hIL-3
15-125
Amp
pMON13352
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
pMON13350
pMON13352를 NsiI 및 EcoRI으로 분해하고 4178 염기쌍 단편을 분리
pMON13350을 NsiI 및 EcoRI으로 분해하고 111 염기쌍 단편을 분리
단편을 결합시킴
JM101을 형질전환시킴
pMON13360

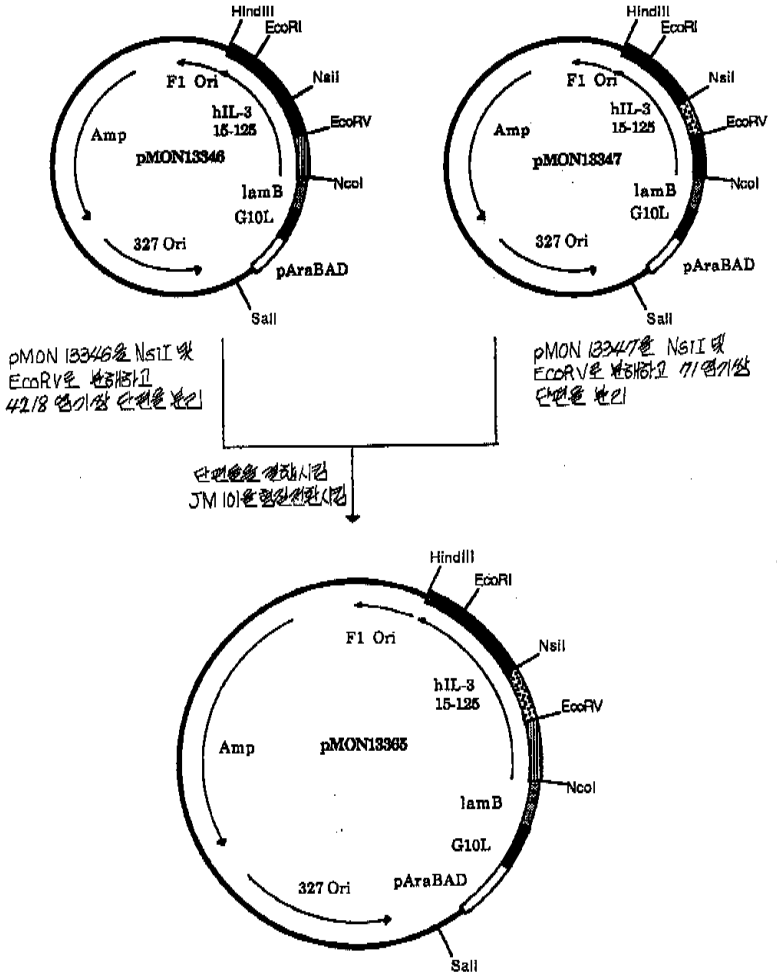
도면 17


HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13344
lamB
NcoI
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON13344를 NsiI 및
EcoRV로 분해하고
IL218암기성 단편을 분리
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13348
lamB
NcoI
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON13348을 NsiI 및 EcoRV로
분해하고 IL1암기성 단편을 분리
단편을 결합시킴
JM101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13363
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI

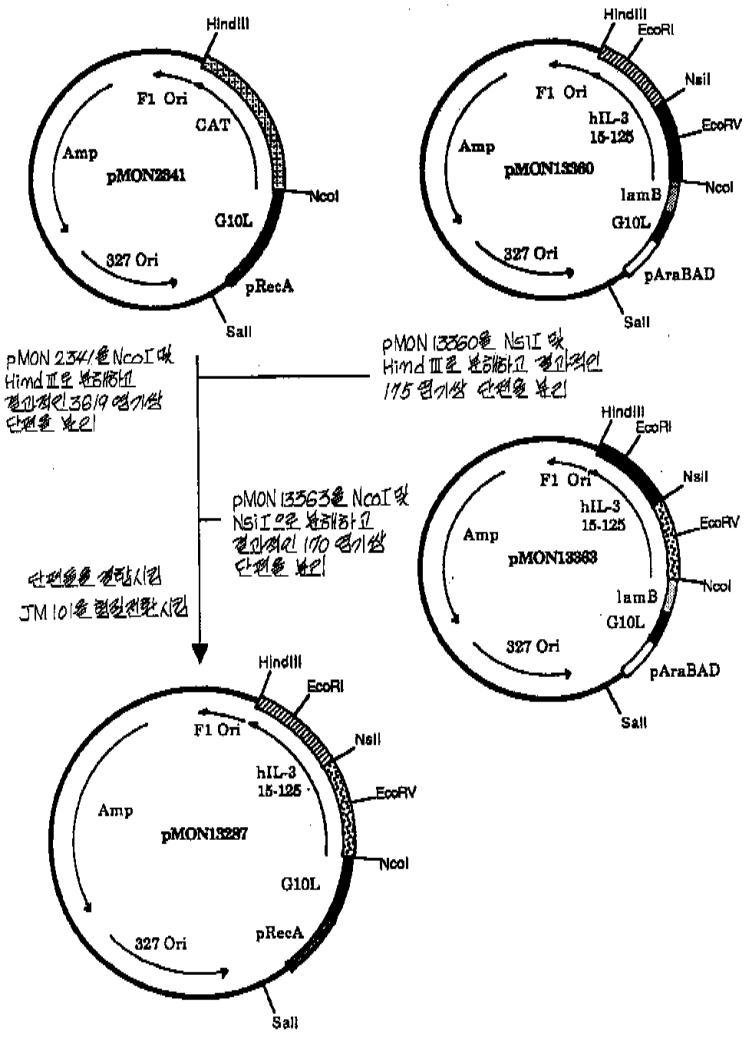
도면 18


HindIII
EcoRI
NsiI
EcoRV
NcoI
SalI
F1 Ori
hIL-3
15-125
Amp
pMON13345
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
pMON13349
pMON13364

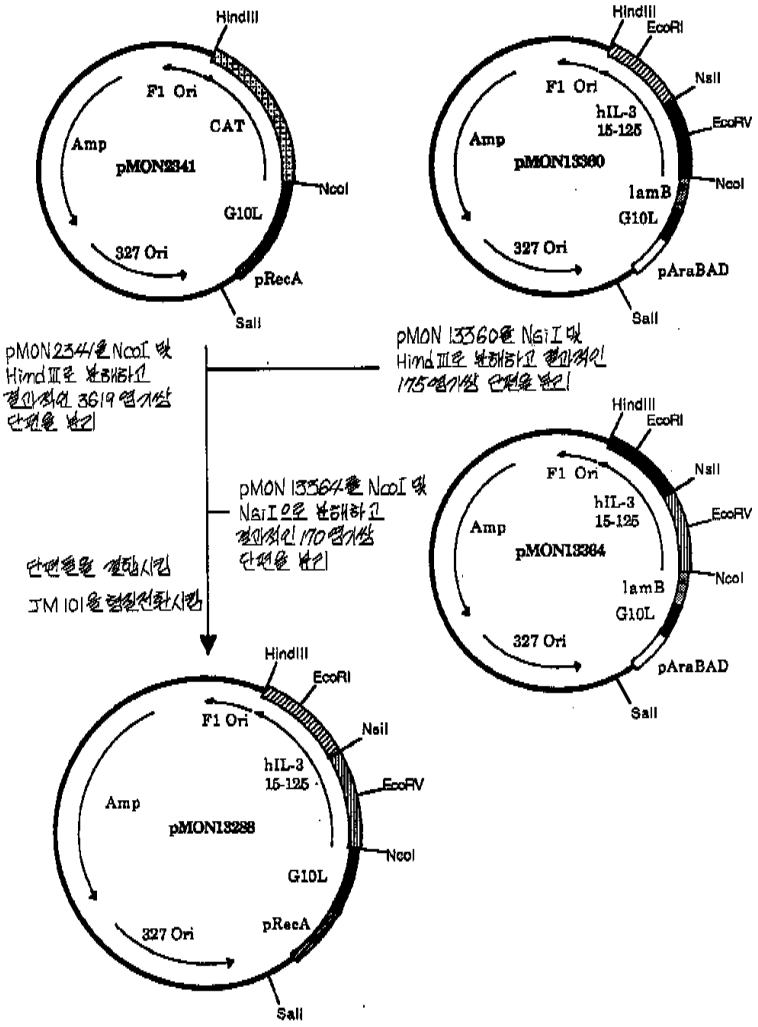
도면 19


HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13346
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON 13346을 NsiI 및
EcoRV로 절단하고
4218 염기쌍 단편을 분리
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13347
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON 13347을 NsiI 및
EcoRV로 절단하고 기1 염기쌍
단편을 분리
단편들을 결찰시킴
JM 101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13365
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI

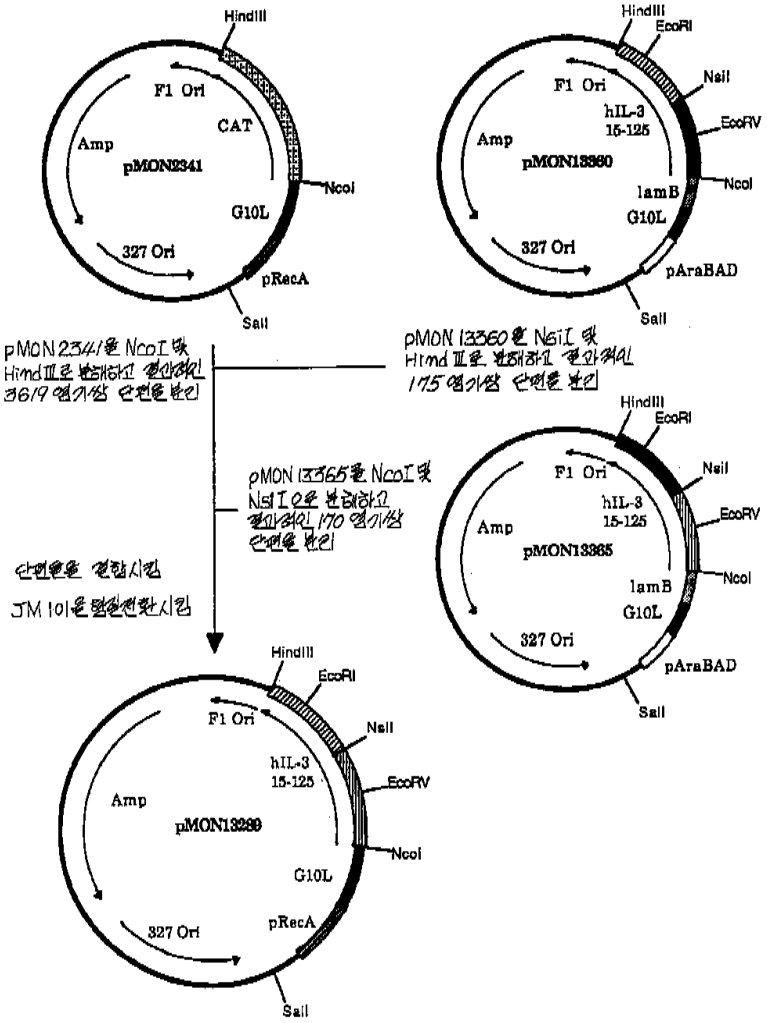
도면 20


HindIII
F1 Ori
CAT
Amp
pMON2341
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI
HindIII
EcoRI
NsiI
F1 Ori
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13360
lamB
NcoI
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON 2341을 NcoI 및 HindIII으로 분해하고 겔전기영동하여 3619 염기쌍 단편을 분리
pMON 13360을 NsiI 및 HindIII으로 분해하고 겔전기영동하여 175 염기쌍 단편을 분리
pMON 13363을 NcoI 및 NsiI으로 분해하고 겔전기영동하여 170 염기쌍 단편을 분리
단편을 결합시킴
JM 101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13287
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI

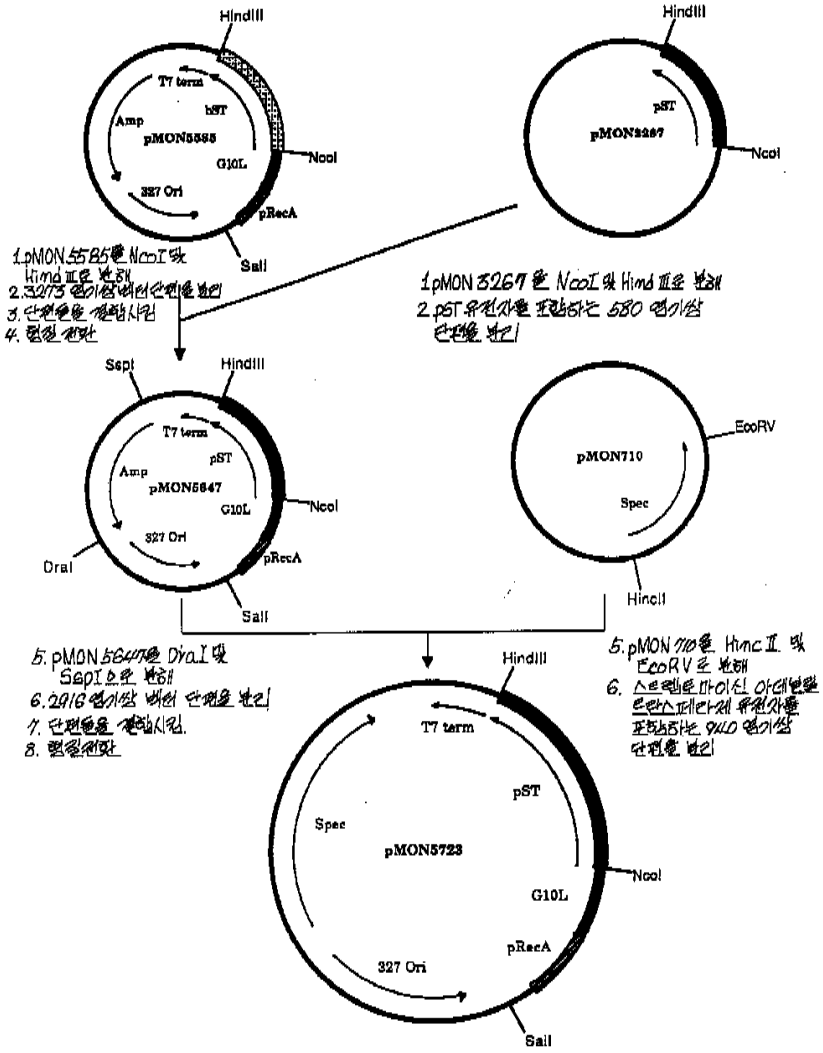
도면 21


HindIII
F1 Ori
CAT
Amp
pMON2341
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI
HindIII
EcoRI
NsiI
F1 Ori
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13360
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON 2341을 NcoI 및 HindIII로 분해하고 전기영동 3619 염기쌍 단편을 분리
pMON 13360을 NsiI 및 HindIII로 분해하고 전기영동 175 염기쌍 단편을 분리
pMON 13364을 NcoI 및 NsiI로 분해하고 전기영동 170 염기쌍 단편을 분리
단편들을 결합시킴
JM 101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13288
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI

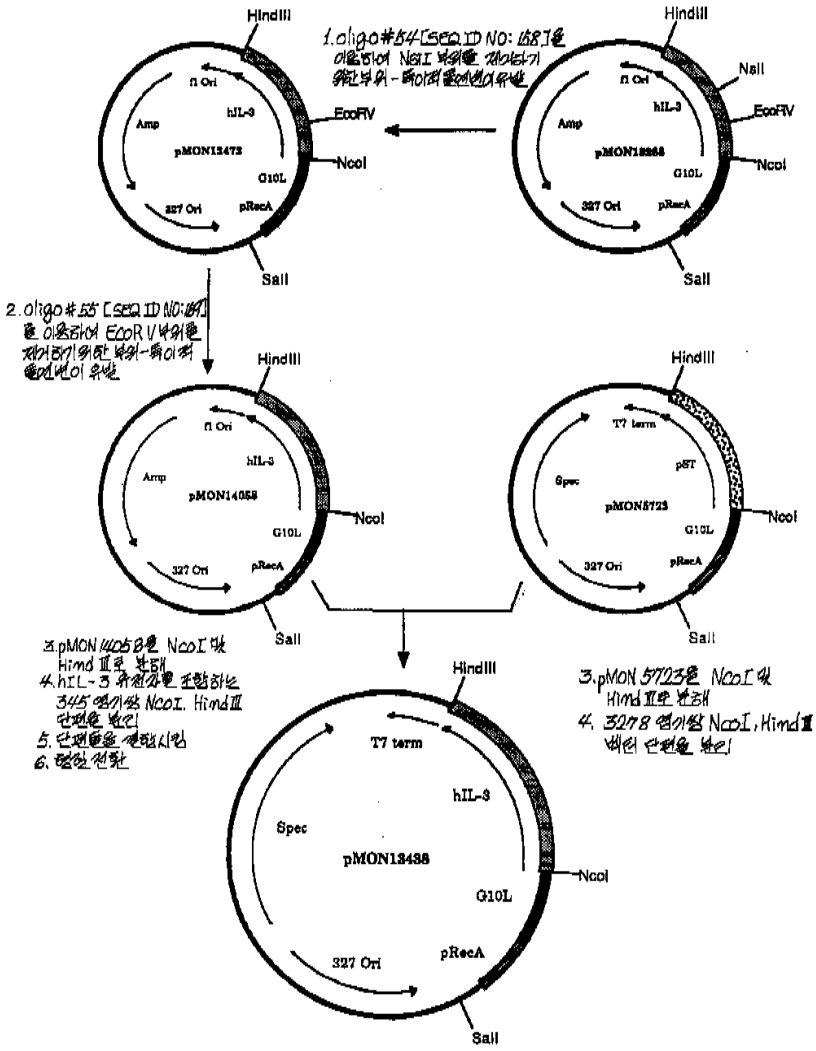
도면 22


HindIII
F1 Ori
CAT
Amp
pMON2341
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI
HindIII
EcoRI
NsiI
F1 Ori
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13360
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
pMON 2341을 NcoI 및
HindIII로 분해하고 전기영동하여
3619 염기쌍 단편을 분리
pMON 13360을 NsiI 및
HindIII로 분해하고 전기영동하여
175 염기쌍 단편을 분리
pMON 13365을 NcoI 및
NsiI으로 분해하고
전기영동하여 170 염기쌍
단편을 분리
단편들을 결합시킴
JM 101을 형질전환시킴
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13365
NcoI
lamB
G10L
327 Ori
pAraBAD
SalI
HindIII
EcoRI
F1 Ori
NsiI
hIL-3
15-125
EcoRV
Amp
pMON13239
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI

도면 23


HindIII
T7 term
bST
Amp
pMON5585
NcoI
G10L
327 Ori
pRecA
SalI
1.pMON5585를 NcoI 및 HindIII로 분해
2.327S 엔지니어 버전 단편을 분리
3.단편들을 결합시킴
4.형질전환
HindIII
pST
pMON3267
NcoI
1.pMON3267 를 NcoI 및 HindIII로 분해
2.pST 유전자를 포함하는 580 엔지니어 단편을 분리
SapI
HindIII
T7 term
pST
Amp
pMON5847
G10L
NcoI
327 Ori
DraI
pRecA
SalI
5.pMON5847를 DraI 및 SapI으로 분해
6.2916 엔지니어 버전 단편을 분리
7.단편들을 결합시킴.
8.형질전환
pMON710
EcoRV
Spec
HincII
5.pMON710를 HincII 및 EcoRV로 분해
6. 스트렙토마이신 아데닐릴 트랜스퍼레이제 유전자를 포함하는 940 엔지니어 단편을 분리
HindIII
T7 term
pST
Spec
pMON5723
NcoI
G10L
pRecA
327 Ori
SalI

도면 24


HindIII
EcoRV
NcoI
SalI
NsiI
pMON13473
pMON13266
pMON14058
pMON5723
pMON13438
Amp
hIL-3
G10L
327 Ori
pRecA
T7 term
pST
Spec
1. oligo #54 [SEQ ID NO: 68] 를 이용하여 NsiI 부위를 제거하기 위한 부위-특이적 돌연변이 유발
2. oligo #55 [SEQ ID NO: 69] 를 이용하여 EcoR V 부위를 제거하기 위한 부위-특이적 돌연변이 유발
3. pMON 14058을 NcoI 및 HindIII로 분해
4. hIL-3 유전자를 포함하는 345 염기쌍 NcoI, HindIII 단편을 분리
5. 단편들을 연결시킴
6. 염기서열 확인
3. pMON 5723을 NcoI 및 HindIII로 분해
4. 327 염기쌍 NcoI, HindIII 벡터 단편을 분리