

C 07 K 15

Ans.nr.: 1028/86

Int. ans.nr.: PCT/EP85/00326

Int. indleveringsdag: 04 jul 1985

Videreførelsesdag: 06 mar 1986

Indleveret: 06 mar 1986

Løbedag: 04 jul 1985

Alm. tilgængelig: 06 mar 1986

Prioritet: 06 jul 1984 US 628342

19 sep 1984 US 652447

19 sep 1984 US 652742

***SANDOZ A.G.; Basel, CH.**

Opfinder: Steven C. *Clark; US, Randal J.

***Kaufman; US, Gordon G. *Wong; US, Elizabeth**

A. *Wang; US.

Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

Proteinfaktorer

SAMMENDRAG

1028-86

Ved en fremgangsmåde til fremstilling og isolering af en transformationsvektor, som indeholder CSF/cDNA.

- fremstilles RNA ud fra en celle, som danner CSF,
- polyadenyleret messenger RNA fremstilles ud fra dette RNA,
- enkeltstrengt cDNA fremstilles ud fra messenger RNA'et,
- det enkeltstrengede cDNA omdannes til dobbeltstrengt cDNA,
- det dobbeltstrengede cDNA indsættes i en transformationsvektor, og bakterier transformeres med denne vektor til dannelse af kolonier,
- puljer på hver 200-500 kolonier udtages, og plasmid DNA isoleres fra hver pulje,
- plasmid DNA'et transficeres til hensigtsmæssige værtsceller til ekspresion af CSF-protein,
- de transficerede celler dyrkes, og supernatanten analyseres for CSF-aktivitet, og

for CSF-aktivitet, og

CSF-positive puljer udvælges, og de kolonier, der anvendes til at udgøre puljen, screenes for at identificere en koloni med CSF-aktivitet.

CSF-Proteinerne kan anvendes til behandling af infektion eller granulocytopeni eller til at aktivere neutrofiler.

Fig. 1

2

SCT	SSAGE	AIS	TOS	CIO	CAG	AOC	CTS	CTC	YTO	GSC	ACT	GYB	SEC
	MET	Try	Lvs	Bln	Ser	Low	Low	Low	Oly	Thp	Val	Ala	Cys

APR CSF-G

NO

APR CSF-G

AGC	ATC	TCT	GCA	CCC	CCC	CGC	TGC	CCC	AGC	CCC	AGC	AGC	CCC	CCC	GAC	CCC	TGG	GAC	CAT
Ser	Ile	Ser	Ala	Pro	Ala	Arg	Ser	Pro	Ser	Pro	Ser	Thr	Thr	Pro	Tyr	Tyr	His		

140

STB AAY SCC ATC CAG GAG GCC CUB CBT CTC CTG AAC CTS ABY AGA BAC ACT SCT

PAL Asn Ala Ile Dln Slw Ala Arg Arg Les Les Asn Lev Ser Arg Asp Thr ALQ

天

G-55 011

[illegible]

249

[illegible]

320

CTC	ACC	AAG	CTC	AAG	GUC	CCC	TTC	ACC	ATG	ATG	GCC	AGC	CAC	TAC	AAG	CAG	CAC
Leu	Thr	Lys	Lys	Leu	Lys	Gly	Leu	Thr	Met	Met	Ala	Ser	His	Tyr	Lys	Gln	His

11a CSF-11e

TGC	CCT	CCA	ACC	CCG	GAA	ACT	TCC	TGT	GCA	ACC	CAB	ACT	ATC	ACC	TTT	GAA	AAT
Cys	Pro	Pro	Thr	Pro	Glu	Thr	Ser	Cys	Ala	Thr	Gln	Thr	Ile	Thr	Phe	Glu	Ser

9-353 -44

TTC	AAG	SAB	AAC	CTG	AAG	GAC	TTT	CTG	CYT	STC	ATC	CCC	TTT	GAC	TGC	TGG	GAG
Phe	Lys	Glu	Asn	Leu	Lys	Asp	Phe	Leu	Leu	Val	Ile	Pro	Phe	Arg	Cys	Tyr	Glu

CCA	QTC	CAB	TGA	GACCCGCCAG	ATGAGCTGTG	CCAGCCTGGG	GAGCTCTCT	CTCATGAAAC
TTT	WAT	ATA	.	.	.	.	.	.
		81A	81B	127				
		81A	CSF-G					
		0						
				450	460	470	480	490
								500

[illegible][illegible]