

명세서

발명의 명칭: 신규한 면역 활성화 인터루킨 2 아날로그

기술분야

[1] 본 발명은 신규한 인터루킨 2 아날로그에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 인터루킨 2(Interleukin 2)는 총 133개의 아미노산 잔기로 구성된 분자량 약 15 kDa의 중요한 면역 자극제로서, T 세포와 B 세포를 포함하는 면역 체계의 다양한 세포를 활성화시킨다. 인터루킨 2의 면역 자극제로서의 높은 효능은 암과 에이즈를 포함한 다양한 면역관련 병증을 치료하기 위해 사용할 수 있다(대한민국 공개특허 제10-2017-0070091호). 현재 인터루킨 2(상표 명 Proleukin)는 전이성 신세포암 및 전이성 흑색종의 치료용으로 FDA 승인을 받은 의약이다. 그러나 높은 복용량의 인터루킨 2 요법과 연관된 심각한 독성 때문에 적용 가능한 환자가 제한되며, 실제로 적합한 환자의 소수에 대해서만 이 치료 요법을 수행하고 있다. 인터루킨 2에 연관된 독성은 심한 열, 메스꺼움, 구토, 혈관 누출(vascular leak), 심한 저혈압, 폐 부종, 및 간 손상을 일으키는 혈관 누출 증후군(Vascular leak syndrome)을 포함한다.

[4]

[5] 인터루킨 2 수용체에는 3가지 서브유닛 수용체가 있다. 그 서브유닛은 알파 체인(IL-2R α , CD25), 베타 체인(IL-2R β 또는 CD122) 및 감마 체인(IL-2R γ 또는 CD132)으로 이루어져 있고, 인터루킨 2가 수용체 서브유닛들의 다양한 조합에 결합함으로써 여러가지 기능을 발휘 할 수 있다. 단일의 인터루킨 2 알파 수용체는 낮은 친화성 인터루킨 2 수용체로 불리며, 신호전달에는 관여하지 않는다. 인터루킨 2 베타 및 감마 수용체의 복합체는 중간 친화성으로 인터루킨 2에 결합한다. 인터루킨 2 알파, 베타 및 감마 수용체의 복합체는 높은 친화성으로 인터루킨 2에 결합한다. 인터루킨 2 베타 및 감마 수용체의 복합체는 다중 신호전달 경로의 키나아제 활성화를 통한 효과적인 신호 변환에 필요하다. 특히 인터루킨 2 베타 및 감마 결합 수용체는 CD8 $^{+}$ 세포 및 자연 살해(NK) 세포에서 두드러진다. 또한 높은 친화성의 인터루킨 2 알파, 베타 및 감마 수용체의 복합체는 보통 CD4 $^{+}$ T 조절 세포(Treg)뿐 만 아니라 최근 활성화된 T 세포에서 발견된다. 인터루킨 2 베타 수용체는 CD8 $^{+}$ T 세포 혹은 자연 살해 세포(NK cell)에 분포하여 체내 면역 반응에 관여하므로, 면역 활성화를 위해 베타 수용체에 대한 활성을 높임으로써 치료제를 개발하려는 연구가 이루어지고 있다.

[6]

[7] 한편, 인터루킨 2의 다양한 면역 관련 병증의 치료제로서의 가능성에도

불구하고, 독성 및 부작용을 감소시키면서도 복용량의 감소를 시킬 수 있는 약제의 존재가 미비한 상태로, 새롭고 향상된 약제에 관한 연구가 더욱 필요하다.

[8]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[9] 본 발명의 하나의 목적은 인터루킨 2 아날로그를 제공하는 것이다.

[10] 본 발명의 또 다른 하나의 목적은 상기 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 분리된 핵산; 상기 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터; 및 상기 벡터를 포함하는 형질전환체를 제공하는 것이다.

[11] 본 발명의 또 하나의 목적은 상기 인터루킨 2 아날로그를 제조하는 방법을 제공하는 것이다.

[12] 본 발명의 또 하나의 목적은 천연형 인터루킨 2에서 하나 이상의 아미노산을 변이시키는 단계를 포함하는, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 증대시키는 법을 제공하는 것이다.

[13]

과제 해결 수단

[14] 본 발명의 하나의 양태는 신규한 인터루킨 2 아날로그(interleukin 2 analog, 또는 IL-2 analog)이다. 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 인터루킨 2 아날로그인 알데스루킨(aldelesleukin)에 비해 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대된 인터루킨 2 아날로그로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 하나 이상의 아미노산이 변이된 서열을 포함하는 것일 수 있다.

[15] 다른 하나의 구체예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상이 변이된 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[16] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 알데스루킨에 비해 인터루킨 2 알파 수용체 결합력이 변화되고, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대된 것을 특징으로 한다.

[17] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 상기 133번 위치에 상응하는 아미노산에 하나 이상의 아미노산이 추가된 것을 특징으로 한다.

[18] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[19] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 1개 내지 10개의 아미노산 치환을 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [20] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 18번, 19번, 20번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 69번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환된 것을 특징으로 한다.
- [21] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 18번, 19번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환된 것을 특징으로 한다.
- [22] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 하기 아날로그 중 어느 하나인 것을 특징으로 한다:
- [23] (a) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 32번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (b) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 35번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (c) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 38번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (d) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (e) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 43번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (f) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 48번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (g) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 49번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (h) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 76번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (i) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 92번, 94번 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (j) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 87번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (k) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (l) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 80번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (m) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 84번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (n) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 19번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (o) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 12번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (p) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 61번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (q) 천연형 인터루킨 2 중 1번

[illegible]

[illegible]

19번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bd) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (be) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bf) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bg) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bh) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 45번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bi) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bk) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bl) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 43번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bm) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; 및 (bn) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 82번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그.

[24] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 하기 아미노산 치환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 것을 특징으로 한다:

[25] (a) 12번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환; (b) 18번 아미노산이 아르기닌으로 치환; (c) 19번 아미노산 티로신, 발린, 페닐알라닌, 아르기닌으로 치환; (d) 20번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환; (e) 22번 아미노산이 글루탐산으로 치환; (f) 32번 아미노산이 시스테인으로 치환; (g) 35번 아미노산이 시스테인 또는 글루탐산으로 치환; (h) 38번 아미노산이 알라닌 또는 아스파르트산으로 치환; (i) 42번 아미노산이 라이신, 알라닌, 또는 트립토판으로 치환; (j) 43번 아미노산이 시스테인, 글루탐산, 또는 글루타민으로 치환; (k) 45번 아미노산이 알라닌으로 치환; (l) 48번 아미노산이 시스테인으로 치환; (m) 49번

아미노산이 시스테인으로 치환; (n) 61번 아미노산이 글루타민, 아르기닌, 또는 아스파르트산으로 치환; (o) 68번 아미노산이 아스파르트산, 또는 글루타민으로 치환; (p) 69번 아미노산이 글리신으로 치환; (q) 74번 아미노산이 히스티딘 또는 알라닌으로 치환; (r) 76번 아미노산이 시스테인으로 치환; (s) 80번 아미노산이 페닐알라닌, 티로신, 발린, 아스파르트산, 또는 트립토판으로 치환; (t) 81번 아미노산이 아스파르트산, 글루탐산, 또는 아스파라긴으로 치환; (u) 82번 아미노산이 글리신, 또는 발린으로 치환; (v) 84번 아미노산이 글루탐산, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환; (w) 85번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 트립토판, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 글루탐산, 또는 페닐알라닌으로 치환; (x) 86번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 또는 류신으로 치환; (y) 87번 아미노산이 시스테인으로 치환; (z) 88번 아미노산이 글루타민, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환; (aa) 89번 아미노산이 페닐알라닌으로 치환; (ab) 91번 아미노산이 트레오닌, 페닐알라닌, 또는 글루탐산으로 치환; (ac) 92번 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 티로신, 또는 트립토판으로 치환; (ad) 95번 아미노산이 아스파르트산으로 치환; (ae) 96번 아미노산이 페닐알라닌, 발린, 또는 이소류신으로 치환; 및 (af) 126번 아미노산이 트레오닌으로 치환.

- [26] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 3 내지 106으로 이루어진 군에서 선택된 것을 특징으로 한다.
- [27] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는, 상기 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는, 분리된 핵산; 상기 핵산을 포함하는, 제조용 발현 벡터; 상기 벡터를 포함하는, 형질전환체이다.
- [28] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 상기 인터루킨 2 아날로그를 제조하는 방법이다.
- [29] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는, 천연형 인터루킨 2에서 하나 이상의 아미노산을 변이시키는 단계를 포함하는, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 증대시키는 방법으로, 상기 변이는 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산이 변이된 것일 수 있다.
- [30] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 서열번호 3 내지 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 인터루킨 2 아날로그이다.
- [31] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 하기 일반식 1로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그이다:
- [32] [일반식 1]
- [33] X1-P-T-S-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-X19-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-X43-F-X45-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61

-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-X74-S-K-N-F-H-X80-X81-P-R-X84-X85-X86-S-N-I-N-X91-X92-V-X94-E-X96-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N-R-W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T(일반식 1, 서열번호 212)

- [34] 상기 일반식 1에서,
- [35] X1은 결실이고,
- [36] X18은 루신(L), 또는 아르기닌(R)이고,
- [37] X19는 루신(L), 또는 티로신(Y)이고,
- [38] X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
- [39] X38은 알라닌(A), 아스파르트산(D), 또는 아르기닌(R)이고,
- [40] X42는 알라닌(A), 페닐알라닌(F), 리신(K), 또는 트립토판(W)이고,
- [41] X43은 글루탐산(E), 리신(K), 또는 글루타민(Q)이고,
- [42] X45는 알라닌(A), 또는 티로신(Y)이고,
- [43] X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 글루타민(Q), 또는 아르기닌(R)이고,
- [44] X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [45] X74는 히스티딘(H), 또는 글루타민(Q)이고,
- [46] X80은 페닐알라닌(F), 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
- [47] X81은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 아르기닌(R)이고,
- [48] X84는 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [49] X85는 알라닌(A), 글루탐산(E), 글리신(G), 루신(L), 발린(V), 트립토판(W), 또는 티로신(Y)이고,
- [50] X86은 알라닌(A), 글리신(G), 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,
- [51] X91은 트레오닌(T), 또는 발린(V)이고,
- [52] X92는 페닐알라닌(F), 이소루신(I), 또는 티로신(Y)이고,
- [53] X94는 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
- [54] X96은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)임.
- [55] 하나의 구체예로서, 상기 인터투킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 62, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 85, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [56] 다른 하나의 구체예로서, 상기 일반식 1에서,
- [57] X43은 리신(K)이고,
- [58] X45는 티로신(Y)이고,
- [59] X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
- [60] X68은 글루탐산(E)이고,
- [61] X74는 글루타민(Q)이고,
- [62] X80은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
- [63] X85는 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
- [64] X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,

- [65] X92는 페닐알라닌(F), 또는 이소루신(I)인 것을 특징으로 한다.
- [66] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 및 105의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [67] 앞선 구체예 중 어느 하나에 따른 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산을 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [68] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 하기 일반식 2로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그이다:
- [69] [일반식 2]
- [70] X1-P-T-S-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-L-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-K-F-Y-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-Q-S-K-N-F-H-F-X81-P-R-D-X85-X86-S-N-I-N-V-F-V-L-E-L-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N-R-W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T (일반식 2, 서열번호 213)
- [71] 상기 일반식 2에서,
- [72] X1은 결실이고,
- [73] X18은 루신(L), 또는 아르기닌(R)이고,
- [74] X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
- [75] X38은 알라닌(A), 또는 아르기닌(R)이고,
- [76] X42는 페닐알라닌(F), 또는 리신(K) 이고,
- [77] X61은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [78] X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [79] X81은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [80] X85는 루신(L), 또는 발린(V)이고,
- [81] X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)임.
- [82] 하나의 구체예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 22, 42, 53, 87, 105 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [83] 다른 하나의 구체예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산이 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.

[84]

발명의 효과

- [85] 본 발명에 따른 인터루킨 2 아날로그는 생체 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대된 아날로그로서, 다양한 용도로 사용될 수 있다.

[86]

도면의 간단한 설명

[87] 도 1은 인터루킨 2 아날로그의 인터루킨 2 알파 수용체의 결합력을 확인한 결과이다. (A)는 인터루킨 2 아날로그 #86, (B)는 인터루킨 2 아날로그 #104, (C)는 인터루킨 2 아날로그 #105이다.

[88] 도 2은 인터루킨 2 아날로그의 인터루킨 2 베타 수용체의 결합력을 확인한 결과이다. (A)는 인터루킨 2 아날로그 #86, (B)는 인터루킨 2 아날로그 #104, (C)는 인터루킨 2 아날로그 #105이다.

[89]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[90] 본 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용을 설명하면 다음과 같다. 한편, 본원에서 개시된 각각의 설명 및 실시형태는 각각의 다른 설명 및 실시 형태에도 적용될 수 있다. 즉, 본원에서 개시된 다양한 요소들의 모든 조합이 본 발명의 범주에 속한다. 또한, 하기 기술되는 구체적인 서술에 의하여 본 발명의 범주가 제한된다고 할 수 없다.

[91]

[92] 본 명세서 전반을 통하여, 아미노산에 대한 통상의 1문자 및 3문자 코드가 사용된다. 또한 본 명세서에서 약어로 언급된 아미노산은 IUPAC-IUB 명명법에 따라 기재하였다.

[93] 알라닌 A 아르기닌 R

[94] 아스파라긴 N 아스파르트산 D

[95] 시스테인 C 글루탐산 E

[96] 글루타민 Q 글리신 G

[97] 히스티딘 H 이소루신 I

[98] 루신 L 리신 K

[99] 메티오닌 M 페닐알라닌 F

[100] 프롤린 P 세린 S

[101] 트레오닌 T 트립토판 W

[102] 티로신 Y 발린 V

[103]

[104] 본 발명의 하나의 양태는 인터루킨 2 아날로그를 제공한다. 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 인터루킨 2 수용체에 대한 결합력이 변경된 것, 특히 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대된 것을 특징으로 한다. 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 공지된 알데스루킨에 비해 인터루킨 2 베타 수용체에 대한 결합력이 증대된 것일 수 있고, 보다 구체적으로, 인터루킨 2 알파 수용체에 대한 결합력도 변화(증가 또는 감소)된 것일 수 있다.

[105]

[106] 본 발명에서 용어, "인터루킨 2(interleukin 2, IL-2)"란 생체 내 면역 시스템에서 신호 전달을 하는 사이토카인의 일종으로 면역 조절제를 의미한다. 인터루킨

2는 일반적으로 약 15 kDa의 중요한 면역 자극제로 알려져 있다.

- [107] 본 발명에서 용어, "인터루킨 2 아날로그"란 천연형 서열에서 하나 이상의 아미노산이 변이된 것을 의미하며, 특히 본 발명에서는 천연형에 비해 인터루킨 2 수용체에 대한 결합력이 감소되거나 증가한, 천연형 인터루킨 2의 아미노산이 변이된 인터루킨 2 아날로그일 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 비자연적인(non-naturally occurring) 것일 수 있다.
- [108] 상기 천연형 인터루킨 2는 인간 인터루킨 2 일 수 있으며, 이의 서열은 공지된 데이터베이스 등에서 얻을 수 있다. 구체적으로는 서열번호 1의 아미노산 서열일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [109] 본 발명에서, 천연형 인터루킨 2가 서열번호 1의 아미노산 서열일 수 있다는 의미는 서열번호 1과 동일한 서열뿐만 아니라, 서열번호 1과 상동성 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열 역시 본 발명의 천연형 인터루킨 2의 범주에 속한다는 의미이며, 아미노산의 변이 위치는 서열번호 1을 기준으로 상동성 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 이상의 서열을 배열(aligned) 했을 때 서열번호 1의 아미노산 서열 상에서 상응되는 위치가 변이된 것을 의미한다.
- [110]
- [111] 본 발명에서, 천연형 서열에서 하나 이상의 아미노산이 변이된 것이란 천연형 인터루킨 2에서 적어도 하나 이상의 아미노산에 치환(substitution), 추가(addition), 제거(deletion), 수식(modification) 및 이들의 조합으로 이루어지는 군에서 선택된 변형이 일어난 것일 수 있다.
- [112]
- [113] 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상이 변이된 서열을 포함하는 것일 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되고, 추가적으로 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 10개 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것일 수 있다. 이에 제한되는 것은 아니나, 상기 125번 아미노산인 시스테인이 세린으로 치환될 수 있고, 추가 치환이 일어나는 아미노산은 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산이 될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [114]
- [115] 또한, 상기 변이 위치 외에 당업계에서 알려진, 펩타이드의 안정성 및 반감기 증가를 위해 수행될 수 있는 정도의 아미노산 잔기의 치환, 부가, 결실, 수식 등을

포함하는 인터루킨 2 아날로그 역시 본 발명의 범주에 포함된다.

[116]

[117] 본 발명에서 용어, “알데스루킨(aldesleukin)” 또는 “인터루킨 2 아날로그(aldesleukin)”는 상업적으로 구매 가능한 인터루킨 2 아날로그로서, aldesleukin(상표명: Proleukin®)일 수 있으며, 구체적으로는 서열번호 2의 아미노산 서열을 갖는 것일 수 있다. 본 발명에서는 “인터루킨 2 아날로그 1”과 혼용되어 사용된다. 본 발명에 따른 인터루킨 아날로그는 상기 인터루킨 2 아날로그 1에 비해 변화된 인터루킨 2 알파 수용체 결합력 및/또는 증대된 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 갖는 것일 수 있다.

[118] 인터루킨 2 알파 수용체는 인터루킨 2의 신호전달 체계에는 관여하지 않는 것으로 알려져 있지만, 다른 인터루킨 2 수용체(베타 혹은 감마)와 인터루킨 2의 결합력을 10배~100배 증가시키며, CD4⁺ 조절 T세포 등에 발현되어 있다.

[119] 인터루킨 2 베타 수용체는 CD8⁺ T 세포 혹은 자연 살해 세포 (NK cell)에 주로 분포되어 면역 반응과 대식세포 작용을 활성화 하는데 주요한 기능을 수행하므로, 인터루킨 2 베타 수용체의 활성화를 통해 종양 세포 사멸 및 신체 면역 반응 활성화를 기대할 수 있다.

[120] 따라서, 본 발명의 인터루킨 2 베타 수용체에 대한 결합력이 증가된 인터루킨 2 아날로그는 종양 억제 및 사멸과 같은 치료효과는 증대되고, 부작용은 감소한 치료효과를 가질 수 있다.

[121]

[122] 본 발명에서 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 서열을 포함하는 것일 수 있고, 1 내지 10개의 아미노산 변이를 추가로 포함하는 것일 수 있다. 예를 들어, 125번 아미노산이 세린으로 치환되고, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 및 126번 중 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환되고/되거나, 133번 아미노산에 하나 이상의 아미노산이 추가된 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않고, 천연형 인터루킨 2 및/또는 알데스루킨에 비해 인터루킨 2 알파 수용체 결합력이 변화되고, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증가된 인터루킨 2 아날로그는 제한 없이 포함된다.

[123]

[124] 하나의 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 상기 133번 위치에 상응하는 아미노산에 하나 이상의 아미노산이 추가된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 목적상, 상기 추가되는 아미노산은 천연형 인터루킨 2 또는 알데스루킨에 비해 인터루킨 2 알파 수용체 결합력이 변화되고, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대되는 이상, 그 종류나 길이에 제한이 없으며, 천연형 아미노산 외에도 비천연형 아미노산, 화학적 변형을 포함하는 아미노산 역시

추가될 수 있다.

[125]

[126] 다른 하나의 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되고, 18번, 19번, 20번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 69번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 또는 그 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[127]

[128] 또 다른 하나의 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되고, 18번, 19번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산 중 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 8개, 9개, 또는 그 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[129] 또 다른 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 하기 아날로그로 이루어진 군에서 선택된 어느 하나일 수 있다:

[130] (a) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 32번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (b) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 35번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (c) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 38번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (d) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (e) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 43번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (f) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 48번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (g) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 49번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (h) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 76번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (i) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 92번, 94번 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (j) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 87번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (k) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (l) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 80번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (m) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이

[illegible]

[illegible]

아미노산이 제거되고, 125번, 69번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (ba) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bb) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bc) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 19번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bd) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (be) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bf) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bg) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bh) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 45번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bi) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bk) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bl) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 43번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; (bm) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; 및 (bn) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 82번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그.

- [131] 여기에서, 상기 인터루킨 2 아날로그가 포함하는 아미노산 치환은 하기 아미노산 치환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것일 수 있다:
- [132] (a) 12번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환; (b) 18번 아미노산이 아르기닌으로 치환; (c) 19번 아미노산 티로신, 발린, 페닐알라닌, 아르기닌으로

치환; (d) 20번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환; (e) 22번 아미노산이 글루탐산으로 치환; (f) 32번 아미노산이 시스테인으로 치환; (g) 35번 아미노산이 시스테인 또는 글루탐산으로 치환; (h) 38번 아미노산이 알라닌 또는 아스파르트산으로 치환; (i) 42번 아미노산이 라이신, 알라닌, 또는 트립토판으로 치환; (j) 43번 아미노산이 시스테인, 글루탐산, 또는 글루타민으로 치환; (k) 45번 아미노산이 알라닌으로 치환; (l) 48번 아미노산이 시스테인으로 치환; (m) 49번 아미노산이 시스테인으로 치환; (n) 61번 아미노산이 글루타민, 아르기닌, 또는 아스파르트산으로 치환; (o) 68번 아미노산이 아스파르트산, 또는 글루타민으로 치환; (p) 69번 아미노산이 글리신으로 치환; (q) 74번 아미노산이 히스티딘 또는 알라닌으로 치환; (r) 76번 아미노산이 시스테인으로 치환; (s) 80번 아미노산이 페닐알라닌, 티로신, 발린, 아스파르트산, 또는 트립토판으로 치환; (t) 81번 아미노산이 아스파르트산, 글루탐산, 또는 아스파라긴으로 치환; (u) 82번 아미노산이 글리신, 또는 발린으로 치환; (v) 84번 아미노산이 글루탐산, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환; (w) 85번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 트립토판, 티로신, 트레오닌, 이소류신, 글루탐산, 또는 페닐알라닌으로 치환; (x) 86번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 또는 류신으로 치환; (y) 87번 아미노산이 시스테인으로 치환; (a) 88번 아미노산이 글루타민, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환; (aa) 89번 아미노산이 페닐알라닌으로 치환; (ab) 91번 아미노산이 트레오닌, 페닐알라닌, 또는 글루탐산으로 치환; (ac) 92번 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 티로신, 또는 트립토판으로 치환; (ad) 95번 아미노산이 아스파르트산으로 치환; (ae) 96번 아미노산이 페닐알라닌, 발린, 또는 이소류신으로 치환; 및 (af) 126번 아미노산이 트레오닌으로 치환.

[133]

[134] 본 명세서에서, 용어 "상응하는(corresponding to)"은, 펩타이드에서 열거되는 위치의 아미노산 잔기이거나, 또는 펩타이드에서 열거되는 잔기와 유사하거나 동일하거나 상동한 아미노산 잔기를 지칭한다. 상응하는 위치의 아미노산을 확인하는 것은 특정 서열을 참조하는 서열의 특정 아미노산을 결정하는 것일 수 있다.

[135] 예를 들어, 임의의 아미노산 서열을 서열번호 1과 정렬(align)하고, 이를 토대로 상기 아미노산 서열의 각 아미노산 잔기는 서열번호 1의 아미노산 잔기와 상응하는 아미노산 잔기의 숫자 위치를 참조하여 넘버링 할 수 있다.

[136] 이러한 정렬에는 예를 들어 Needleman-Wunsch 알고리즘 (Needleman 및 Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453), EMBOSS 패키지의 Needle 프로그램 (EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000), Trends Genet. 16: 276-277) 등을 이용할 수 있으나, 이에 제한되지 않고 당업계에 알려진 서열 정렬 프로그램, 쌍 서열(pairwise sequence) 비교 알고리즘 등을 적절히 사용할 수 있다.

[137] 본 발명에서 펩타이드 내 아미노산의 특정 위치로 표현되었더라 하더라도,

참조 서열에서 상응하는 위치를 의미하는 것일 수 있다.

[138]

[139] 또 하나의 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 3 내지 106으로 이루어진 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나, 필수적으로 구성되거나, 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[140] 또한, 본 명세서에서 '특정 서열번호로 구성되는 인터루킨 2 아날로그'라고 기재되어 있다 하더라도, 해당 서열번호의 아미노산 서열로 이루어진 인터루킨 2 아날로그와 동일 혹은 상응하는 활성을 가지는 경우라면 해당 서열번호의 아미노산 서열 앞뒤의 무의미한 서열 추가 또는 자연적으로 발생할 수 있는 돌연변이, 혹은 이의 잠재성 돌연변이 (silent mutation)를 제외하는 것이 아니며, 이러한 서열 추가 혹은 돌연변이를 가지는 경우에도 본원의 범위 내에 속하는 것이 자명하다.

[141] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 3 내지 106의 아미노산 서열과 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 이상의 상동성 또는 동일성을 가지는 아미노산 서열을 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[142]

[143] 본 발명에서 용어, '상동성(homology)' 또는 '동일성(identity)'은 두 개의 주어진 아미노산 서열 또는 염기 서열과 서로 관련된 정도를 의미하며 백분율로 표시될 수 있다.

[144] 보존된(conserved) 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드의 서열 상동성 또는 동일성은 표준 배열 알고리즘에 의해 결정되며, 사용되는 프로그램에 의해 확립된 디폴트 갭 페널티가 함께 이용될 수 있다. 실질적으로, 상동성을 갖거나(homologous) 또는 동일한(identical) 서열은 일반적으로 서열 전체 또는 일부분과 중간 또는 높은 엄격한 조건(stringent conditions)에서 하이브리드할 수 있다. 하이브리드화는 폴리뉴클레오티드에서 일반 코돈 또는 코돈 축퇴성을 고려한 코돈을 함유하는 폴리뉴클레오티드와의 하이브리드화 역시 포함됨이 자명하다.

[145] 용어 상동성 및 동일성은 종종 상호교환적으로 이용될 수 있다.

[146]

[147] 임의의 두 염기 서열 또는 펩타이드 서열이 상동성, 유사성 또는 동일성을 갖는지 여부는 예를 들어, Pearson et al (1988)[Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85]: 2444에서와 같은 디폴트 파라미터를 이용하여 "FASTA" 프로그램과 같은 공지의 컴퓨터 알고리즘을 이용하여 결정될 수 있다. 또는, EMBOSS 패키지의 니들만 프로그램(EMBOSS: The European Molecular Biology Open Software Suite, Rice et al., 2000, Trends Genet. 16: 276-277)(버전 5.0.0 또는 이후 버전)에서 수행되는 바와 같은, 니들만-운치(Needleman-Wunsch) 알고리즘(Needleman and

- Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453)이 사용되어 결정될 수 있다. (GCG 프로그램 패키지 (Devereux, J., et al, Nucleic Acids Research 12: 387 (1984)), BLASTP, BLASTN, FASTA (Atschul, [S.] [F.,] [ET AL, J MOLEC BIOL 215]: 403 (1990); Guide to Huge Computers, Martin J. Bishop, [ED.,] Academic Press, San Diego, 1994, 및 [CARILLO ET AL.](1988) SIAM J Applied Math 48: 1073을 포함한다). 예를 들어, 국립 생물공학 정보 데이터베이스 센터의 BLAST, 또는 ClustalW를 이용하여 상동성, 유사성 또는 동일성을 결정할 수 있다.
- [148] 염기 서열 또는 펩타이드의 상동성, 유사성 또는 동일성은 예를 들어, Smith and Waterman, Adv. Appl. Math (1981) 2:482에 공지된 대로, 예를 들면, Needleman et al. (1970), J Mol Biol.48: 443과 같은 GAP 컴퓨터 프로그램을 이용하여 서열 정보를 비교함으로써 결정될 수 있다. 요약하면, GAP 프로그램은 두 서열 중 더 짧은 것에서의 기호의 전체 수로, 유사한 배열된 기호(즉, 뉴클레오티드 또는 아미노산)의 수를 나눈 값으로 정의한다. GAP 프로그램을 위한 디폴트 파라미터는 (1) 일진법 비교 매트릭스(동일성을 위해 1 그리고 비-동일성을 위해 0의 값을 함유함) 및 Schwartz and Dayhoff, eds., Atlas Of Protein Sequence And Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358 (1979)에 의해 개시된 대로, Gribskov et al(1986) Nucl. Acids Res. 14: 6745의 가중된 비교 매트릭스 (또는 EDNAFULL(NCBI NUC4.4의 EMBOSS 버전) 치환 매트릭스); (2) 각 갭을 위한 3.0의 페널티 및 각 갭에서 각 기호를 위한 추가의 0.10 페널티 (또는 갭 개방 페널티 10, 갭 연장 페널티 0.5); 및 (3) 말단 갭을 위한 무 페널티를 포함할 수 있다. 따라서, 본 발명에서 사용된 것으로서, 용어 "상동성" 또는 "동일성"은 서열들간의 관련성(relevance)를 나타낸다.
- [149] 이상의 내용은 본 발명의 다른 구체에 혹은 다른 양태에도 적용될 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [150]
- [151] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 인터루킨 2의 알파 및/또는 베타 수용체와의 결합력을 약화 또는 증가시켜 *in vitro* 활성을 변화시키는 새로운 인터루킨 2의 대체제로 이용될 수 있다. 특히, 베타 수용체에 대한 결합력을 증가시킬 뿐만 아니라, 알파 수용체에 대한 결합력이 변화(증가 또는 감소)되어 두 수용체에 대한 활성으로 인해 효과적인 치료제로 이용될 수 있다.
- [152]
- [153] 본 발명에서, 인터루킨 2의 아날로그의 제조를 위한 이러한 변형은 L-형 혹은 D-형 아미노산, 및/또는 비-천연형 아미노산을 이용한 변형; 및/또는 천연형 서열을 개질, 예를 들어 측쇄 작용기의 변형, 분자 내 공유결합, 에컨대, 측쇄 간 고리 형성, 메틸화, 아실화, 유비퀴틴화, 인산화, 아미노핵산화, 바이오틴화 등과 같이 개질함으로써 변형하는 것을 모두 포함한다.
- [154] 또한, 천연형 인터루킨 2의 아미노 및/또는 카르복시 말단에 하나 또는 그 이상의 아미노산이 추가된 것을 모두 포함한다.

- [155] 상기 치환되거나 추가되는 아미노산은 인간 단백질에서 통상적으로 관찰되는 20개의 아미노산뿐만 아니라 비정형 또는 비-자연적 발생 아미노산을 사용할 수 있다. 비정형 아미노산의 상업적 출처에는 Sigma-Aldrich, ChemPep과 Genzyme pharmaceuticals가 포함된다. 이러한 아미노산이 포함된 펩타이드와 정형적인 펩타이드 서열은 상업화된 펩타이드 합성 회사, 예를 들어 미국의 American peptide company나 Bachem, 또는 한국의 Anygen을 통해 합성 및 구매 가능하다.
- [156] 아미노산 유도체도 마찬가지로 방식으로 입수할 수 있는데, 그 예를 일부만 들자면 4-이미다조아세트산 (4-imidazoacetic acid) 등을 사용할 수 있다.
- [157]
- [158] 또한, 본 발명에 따른 인터루킨 2 아날로그는 생체 내의 단백질 절단 효소들로부터 보호하고 안정성을 증가시키기 위하여 이의 N-말단 및/또는 C-말단 등이 화학적으로 수식되거나 유기단으로 보호되거나, 또는 펩타이드 말단 등에 아미노산이 추가되어 변형된 형태일 수 있다.
- [159] 특히, 화학적으로 합성한 펩타이드의 경우, N- 및 C-말단이 전하를 띠고 있기 때문에, 이러한 전하를 제거하기 위하여 N-말단을 아세틸화 (acetylation) 및/또는 C-말단을 아미드화 (amidation)할 수 있으나, 특별히 이에 제한되지는 않는다.
- [160]
- [161] 또한, 본 발명에 따른 인터루킨 2 아날로그는 펩타이드 형태인 바, 펩타이드 그 자체, 이의 염 (예컨대, 상기 펩타이드의 약학적으로 허용가능한 염), 또는 이의 용매화물의 형태를 모두 포함한다. 또한, 펩타이드는 약학적으로 허용되는 임의의 형태일 수 있다.
- [162] 상기 염의 종류는 특별히 제한되지는 않는다. 다만, 개체, 예컨대 포유류에게 안전하고 효과적인 형태인 것이 바람직하나, 특별히 이에 제한되는 것은 아니다.
- [163] 상기 용어, "약학적으로 허용되는"은 의약학적 판단의 범위 내에서, 과도한 독성, 자극, 또는 알레르기 반응 등을 유발하지 않고 원하는 용도에 효과적으로 사용 가능한 물질을 의미한다.
- [164] 본 발명에서 용어, "약학적으로 허용되는 염"이란 약학적으로 허용되는 무기산, 유기산, 또는 염기로부터 유도된 염을 포함한다. 적합한 산의 예로는 염산, 브롬산, 황산, 질산, 과염소산, 푸마르산, 말레산, 인산, 글리콜산, 락트산, 살리실산, 숙신산, 톨루엔-P-설폰산, 타르타르산, 아세트산, 시트르산, 메탄설폰산, 포름산, 벤조산, 말론산, 나프탈렌-2-설폰산, 벤젠설폰산 등을 들 수 있다. 적합한 염기로부터 유도된 염은 나트륨, 칼륨 등의 알칼리 금속, 마그네슘 등의 알칼리 토금속, 및 암모늄 등을 포함할 수 있다.
- [165] 또한, 본 발명에서 사용된 용어 "용매화물"은 본 발명에 따른 펩타이드 또는 이의 염이 용매 분자와 복합체를 형성한 것을 말한다.
- [166]
- [167] 본 발명에서 천연형 인터루킨 2 수용체에 대한 어떠한 인터루킨 2 아날로그의 결합력이란 수용체에 대한 친화력을 측정하는 방법으로 공지된 다양한 기술을

이용하여 측정할 수 있다. 그 예로, SPR(surface Plasmon resonance)를 이용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

- [168] 보다 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨에 비해 감소되거나 증가된 인터루킨 2 알파 수용체 결합력을 가질 수 있다.
- [169] 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨의 인터루킨 2 알파 수용체 결합력과 비교하여 약 0.001배 이상, 약 0.005배 이상, 약 0.01배 이상, 약 0.05배 이상, 약 0.1배 이상, 약 0.3배 이상, 약 0.5배 이상, 약 0.7배 이상, 약 0.9배 이상, 약 1.1배 이상, 약 1.3배 이상, 약 1.5배 이상, 약 1.7배 이상의 인터루킨 2 알파 수용체 결합력을 갖는 것일 수 있으나, 그 수치는 한정되지 않으며 결합력이 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨과 대비하여 변경되었으면 본 발명의 범주에 속한다.
- [170] 또는, 알테스루킨의 인터루킨 2 알파 수용체 결합력(100%)을 기준으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 아예 결합력을 상실하거나, 약 1% 이상, 약 5% 이상, 약 7% 이상, 약 10% 이상, 약 15% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 50% 이상, 약 70% 이상, 약 90% 이상, 약 100% 이상, 약 150% 이상, 약 200% 이상의 결합력을 갖는 것일 수 있으나, 그 수치는 한정되지 않으며 결합력이 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨과 대비하여 변경되었으면 본 발명의 범주에 속한다.
- [171]
- [172] 또한, 구체적으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨의 인터루킨 2 베타 수용체 결합력과 비교하여 약 0.1배 이상, 약 0.3배 이상, 약 0.5배 이상, 약 0.7배 이상, 약 1.0배 이상, 약 10배 이상, 약 20배 이상, 약 30배 이상, 약 40배 이상, 약 50배 이상, 약 60배 이상, 약 70배 이상, 약 80배 이상, 약 90배 이상, 약 100배 이상의 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 갖는 것일 수 있으나, 그 수치는 한정되지 않으며 결합력이 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨과 대비하여 변경, 또는 증가되었으면 본 발명의 범주에 속한다.
- [173] 또는, 알테스루킨의 인터루킨 2 베타 수용체 결합력(100%)을 기준으로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 약 5% 이상, 약 9% 이상, 약 10% 이상, 약 20% 이상, 약 30% 이상, 약 50% 이상, 약 100% 이상, 약 200% 이상, 약 500% 이상, 약 700% 이상, 약 1000% 이상, 약 1500% 이상, 약 3000% 이상, 약 5000% 이상, 약 7000% 이상, 약 10000% 이상, 약 12000% 이상, 약 15000% 이상, 약 20000% 이상, 약 25000% 이상의 결합력을 갖는 것일 수 있으나, 그 수치는 한정되지 않으며 결합력이 알테스루킨과 대비하여 증가되었으면 본 발명의 범주에 속한다.
- [174]
- [175] 본 발명에서 용어, "약"은 ± 0.5 , ± 0.4 , ± 0.3 , ± 0.2 , ± 0.1 등을 모두 포함하는 범위로, 약 이란 용어 뒤에 나오는 수치와 동등하거나 유사한 범위의 수치를 모두 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

- [176] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 또는 알테스루킨에 비해 인터루킨 2 알파 수용체에 대한 결합력이 변경되고, 인터루킨 2 베타 수용체에 대한 결합력이 증가된 것을 특징으로 한다.
- [177]
- [178] 본 발명의 구체적인 실시 형태에서는 본 발명의 인터루킨 2 아날로그를 제조하기 위하여, 천연형 인터루킨 2(서열번호 1)를 바탕으로 변이를 도입한 인터루킨 2 아날로그를 제조하였다. 본 발명에서 제조된 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 3 내지 106 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 것일 수 있고, 또는 서열번호 108 내지 211 중 어느 하나의 염기 서열로 코딩되는 것일 수 있다.
- [179]
- [180] 본 발명을 구현하기 위한 다른 하나의 양태는 상기 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 핵산(폴리뉴클레오티드), 상기 핵산을 포함하는 재조합 발현 벡터, 및 상기 핵산 또는 재조합 발현 벡터를 포함하는 형질전환체를 제공한다.
- [181] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 핵산은 서열번호 1의 천연형 인터루킨 2를 코딩하는 염기 서열에서 특정 위치의 아미노산에 변이(아미노산 결실, 치환, 및/또는 추가)를 도입할 수 있도록 변형된 것일 수 있고, 구체적으로는 서열번호 3 내지 106 중 어느 하나의 아미노산 서열을 코딩하는 염기 서열을 포함할 수 있다. 일 예로서, 본 발명의 핵산은 서열번호 108 내지 211 중 어느 하나의 염기 서열을 가지거나 포함할 수 있다.
- [182] 본 발명의 염기 서열은 코돈의 축퇴성(degeneracy) 또는 본 발명의 핵산을 발현시키고자 하는 생물에서 선호되는 코돈을 고려하여, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그의 아미노산 서열을 변화시키지 않는 범위 내에서 코딩 영역에 다양한 변형이 이루어질 수 있다. 구체적으로, 본 발명의 핵산은 서열번호 108 내지 211 중 어느 하나의 서열과 상동성 또는 동일성이 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 및 100% 미만인 염기서열을 가지거나 포함하거나, 또는 서열번호 108 내지 211의 서열 중 어느 하나의 서열과 상동성 또는 동일성이 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 및 100% 미만인 염기서열로 이루어지거나 필수적으로 이루어질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [183] 또한, 본 발명의 핵산은 공지의 유전자 서열로부터 제조될 수 있는 프로브, 예를 들면, 본 발명의 핵산 서열의 전체 또는 일부에 대한 상보 서열과 엄격한 조건 하에 하이브리드화할 수 있는 서열이라면 제한없이 포함될 수 있다. 상기 "엄격한 조건(stringent condition)"이란 폴리뉴클레오티드 간의 특이적 혼성화를 가능하게 하는 조건을 의미한다. 이러한 조건은 문헌(J. Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory press, Cold Spring Harbor, New York, 1989; F.M. Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., New York, 9.50-9.51, 11.7-11.8 참조)에

구체적으로 기재되어 있다.

- [184] 혼성화는 비록 혼성화의 엄격도에 따라 염기 간의 미스매치(mismatch)가 가능할지라도, 두 개의 핵산이 상보적 서열을 가질 것을 요구한다. 용어, "상보적"은 서로 혼성화가 가능한 뉴클레오티드 염기 간의 관계를 기술하는데 사용된다. 예를 들면, DNA에 관하여, 아데닌은 티민에 상보적이며 시토신은 구아닌에 상보적이다. 따라서, 본 발명의 핵산은 또한 실질적으로 유사한 핵산 서열뿐만 아니라 전체 서열에 상보적인 단리된 핵산 단편을 포함할 수 있다.
- [185] 상기 폴리뉴클레오티드를 혼성화하는 적절한 엄격도는 폴리뉴클레오티드의 길이 및 상보성 정도에 의존하고 변수는 해당기술분야에 잘 알려져 있다(예컨대, J. Sambrook et al., 상동).
- [186] 상동성 또는 동일성에 관해서는 상술한 바와 같다.
- [187]
- [188] 본 발명에 따른 재조합 벡터는 전형적으로 클로닝을 위한 벡터 또는 발현을 위한 벡터로서 구축될 수 있고, 원핵세포 또는 진핵세포를 숙주세포로 사용하기 위한 벡터로서 구축될 수 있다.
- [189] 본 발명에서 사용되는 "벡터"는 적당한 숙주세포에서 목적 단백질을 발현할 수 있는 재조합 벡터로서, 핵산 삽입물이 발현되도록 작동 가능하게 연결된 필수적인 조절요소를 포함하는 핵산 구조물(construct)을 의미한다. 본 발명은 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 핵산을 포함하는 재조합 벡터를 제조할 수 있는데, 상기 재조합 벡터를 숙주세포에 형질전환(transformation) 또는 형질감염(transfection) 시킴으로써, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그를 수득할 수 있다.
- [190] 본 발명에서 사용되는 "형질전환(transformation)"은 DNA를 숙주세포 내로 도입하여 DNA가 염색체의 인자로서 또는 염색체 통합 완성에 의해 복제 가능하게 되는 것으로, 외부의 DNA를 세포 내로 도입하여 인위적으로 유전적인 변화를 일으키는 현상을 의미한다.
- [191] 본 발명에 적합한 숙주는 본 발명의 핵산을 발현하도록 하는 한 특별히 제한되지 않는다. 본 발명에 사용될 수 있는 숙주의 특정한 예로는 대장균(*E. coli*)과 같은 에스케리키아(*Escherichia*) 속 세균; 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*)와 같은 바실러스(*Bacillus*) 속 세균; 슈도모나스 푸티다(*Pseudomonas putida*)와 같은 슈도모나스(*Pseudomonas*) 속 세균; 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*), 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*), 스킨조사카로마이세스 폼베(*Schizosaccharomyces pombe*)와 같은 효모; 스포도프테라 프루기페르다(*Sf9*)와 같은 곤충세포; 및 CHO, COS, BSC 등과 같은 동물세포가 있다.
- [192]
- [193] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는 하나 이상의 아미노산 변이를 포함하는 인터루킨 2 아날로그를 제조하는 방법을 제공한다.

- [194] 구체적으로, 상기 방법은 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산으로 이루어진 군에서 선택된 하나 또는 그 이상의 아미노산에 변이를 도입시키는 단계를 포함하는 것일 수 있다.
- [195] 보다 구체적으로는, (a) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 32번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (b) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 35번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (c) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 38번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (d) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (e) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 43번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (f) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 48번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (g) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 49번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (h) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 76번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (i) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 92번, 94번 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환시키거나; (j) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 87번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (k) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (l) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 80번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (m) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 84번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (n) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 19번, 38번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (o) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 12번, 38번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (p) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 61번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (q) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 84번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (r) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 88번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (s) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 89번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (t) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 91번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (u) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번,

42번, 및 94번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (v) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 및 126번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (w) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 및 84번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (x) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 94번, 및 96번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (y) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (z) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 61번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aa) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ab) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ac) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 81번, 84번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ad) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 20번, 38번, 42번, 81번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ae) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (af) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 74번, 81번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ag) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 81번, 84번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ah) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 81번, 88번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ai) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 85번, 86번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 85번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ak) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 86번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (al) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (am) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 74번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (an) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ao) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 84번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ap) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 45번, 80번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aq) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을

제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ar) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (as) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (at) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 69번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (au) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (av) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aw) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ax) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ay) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (az) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 69번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ba) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bb) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bc) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 19번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bd) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (be) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bf) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bg) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bh) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bi) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을

제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 및 95번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bk) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bl) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 43번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bm) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 92번, 및 95번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bn) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 82번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[196]

[197] 인터루킨 2 아날로그, 및 변이는 상기에서 설명한 바와 같다.

[198]

[199] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그의 제조 방법의 다른 예로서, 상기 인터루킨 2 아날로그를 제조하는 방법은 a) 상기 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 핵산을 포함하는 형질전환체를 배양하여 인터루킨 2 아날로그를 발현시키는 단계; 및 b) 발현된 인터루킨 2 아날로그를 분리 및 정제하는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 인터루킨 2 아날로그를 제조할 수 있는 한 특정 방법에 제한되지 않고 당업계에 공지된 방법일 수 있다.

[200]

[201] 본 발명에서, 상기 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는 핵산은 서열번호 108 내지 211 중 어느 하나의 염기 서열을 포함하거나, (필수적으로) 구성된 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[202]

[203] 본 발명에서 형질전환체의 배양에 사용되는 배지는 적절한 방식으로 숙주세포 배양의 요건을 충족해야 한다. 숙주세포의 성장을 위하여 배지 중에 포함될 수 있는 탄소원은 제조된 형질전환체의 종류에 따라 당업자의 판단에 의해 적절하게 선택될 수 있고, 배양 시기 및 양을 조절하기 위해 적당한 배양 조건을 채택할 수 있다.

[204]

사용될 수 있는 당원으로는 글루코스, 사카로스, 락토스, 프룩토스, 말토스, 전분, 셀룰로스 및 같은 당 및 탄수화물, 대두유, 해바라기유, 피마자유, 코코넛유 등과 같은 오일 및 지방, 팔미트산, 스테아린산, 리놀레산과 같은 지방산, 글리세롤, 에탄올과 같은 알코올, 아세트산과 같은 유기산이 포함된다. 이들 물질은 개별적으로 또는 혼합물로서 사용될 수 있다.

[205]

사용될 수 있는 질소원으로는 펩톤, 효모 추출물, 육즙, 맥아 추출물, 옥수수 침지액, 대두밀 및 요소 또는 무기 화합물, 예를 들면 황산암모늄, 염화암모늄, 인산암모늄, 탄산암모늄 및 질산암모늄이 포함된다. 질소원 또한 개별적으로

또는 혼합물로서 사용될 수 있다.

- [206] 사용될 수 있는 인원으로는 인산이수소칼륨 또는 인산수소이칼륨 또는 상응하는 나트륨-함유 염이 포함된다. 또한, 배양 배지는 성장에 필요한 황산마그네슘 또는 황산철과 같은 금속염을 함유할 수 있다.
- [207] 마지막으로, 상기 물질에 더하여 아미노산 및 비타민과 같은 필수 성장물질이 사용될 수 있다. 또한, 배양 배지에 적절한 전구체들이 사용될 수 있다. 상기된 원료들은 배양 도중에 배양물에 적절한 방식에 의해 회분식으로 또는 연속식으로 첨가될 수 있다. 수산화나트륨, 수산화칼륨, 암모니아와 같은 염기성 화합물 또는 인산 또는 황산과 같은 산 화합물을 적절한 방식으로 사용하여 배양물의 pH를 조절할 수 있다. 또한, 지방산 폴리글리콜 에스테르와 같은 소포체를 사용하여 기포 생성을 억제할 수 있다. 호기 상태를 유지하기 위해 배양물 내로 산소 또는 산소-함유 기체(예: 공기)를 주입한다.
- [208] 본 발명에 따른 형질전환체의 배양은 보통 20°C 내지 45°C, 구체적으로는 25°C 내지 40°C의 온도에서 수행된다. 또한 배양은 원하는 인터루킨 2 아날로그의 생성량이 최대로 얻어질 때까지 지속되는데, 이러한 목적으로 배양은 보통 10 내지 160시간 동안 지속될 수 있다.
- [209] 전술한 바와 같이 숙주세포에 따라 적절한 배양 조건을 조성해주면 본 발명에 따른 형질전환체는 인터루킨 2 아날로그를 생산하게 되며, 벡터의 구성 및 숙주세포의 특징에 따라 생산된 인터루킨 2 아날로그는 숙주세포의 세포질 내, 원형질막 공간(periplasmic space) 또는 세포 외로 분비될 수 있다.
- [210] 숙주세포 내 또는 외에서 발현된 단백질은 통상의 방식으로 정제될 수 있다. 정제 방법의 예로는 염석(예: 황산암모늄 침전, 인산나트륨 침전 등), 용매 침전(예: 아세톤, 에탄올 등을 이용한 단백질 분획 침전 등), 투석, 겔 여과, 이온 교환, 역상 칼럼 크로마토그래피와 같은 크로마토그래피 및 한외여과 등의 기법을 단독 또는 조합하여 적용할 수 있다.
- [211]
- [212] 본 발명의 구체예로서, 인터루킨 2 아날로그를 제조하는 방법은
- [213] (a) 상기 인터루킨 2 아날로그를 발현시키는 단계; 및
- [214] (b) 발현된 인터루킨 2 아날로그를 분리해 내는 단계를 포함할 수 있다.
- [215]
- [216] 본 발명의 구체예로서, 형질전환체로부터 봉입체 형태로 발현된 인터루킨 2 아날로그를 분리 및 정제하기 위하여 하기 단계를 추가적으로 포함할 수 있다:
- [217] b-1) 상기 a) 단계의 배양액으로부터 형질전환체를 수확하여 파쇄하는 단계;
- [218] b-2) 파쇄된 세포 용해물로부터 발현된 인터루킨 2 아날로그를 회수하여 리폴딩하는 단계; 및
- [219] b-3) 리폴딩된 인터루킨 2 아날로그를 크기 배제 크로마토그래피로 정제하는 단계.
- [220]

- [221] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는 상기 인터루킨 2 아날로그를 펩타이드 합성법에 의해 제조하는 방법을 제공한다. 이와 같은 펩타이드 합성은 본 발명의 인터루킨 2 아날로그 서열이 제공되어 있는 바, 공지된 펩타이드 합성법을 이용해 제한없이 제조할 수 있다.
- [222] 인터루킨 2 아날로그, 및 변이는 상기에서 설명한 바와 같다.
- [223]
- [224] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는, 천연형 인터루킨 2에서 하나 이상의 아미노산을 변이시키는 단계를 포함하는, 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 증대시키는 방법이다.
- [225] 본 발명에 따른 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 증대시키는 방법은, 천연형 인터루킨 2 또는 알데스루킨에 비해 인터루킨 2 베타 수용체에 대한 결합력을 증가시킬 뿐만 아니라, 인터루킨 2 알파 수용체에 대한 결합력을 변화시키는 것일 수 있다.
- [226] 구체적으로, 상기 방법은 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상의 아미노산에 변이를 도입시키는 단계를 포함하는 것일 수 있다.
- [227] 보다 구체적으로는, 상기 방법은 (a) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 32번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (b) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 35번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (c) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 38번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (d) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (e) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 43번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (f) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 48번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (g) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 49번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (h) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 76번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (i) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 92번, 94번 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환시키거나; (j) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 및 87번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (k) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 42번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (l) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 80번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (m) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 및 84번 아미노산을 다른 아미노산으로

[illegible]

다른 아미노산으로 치환시키거나; (ak) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 86번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (al) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (am) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 74번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (an) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ao) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 84번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ap) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 45번, 80번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aq) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ar) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (as) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (at) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 69번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (au) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (av) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (aw) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ax) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ay) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (az) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 69번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (ba) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bb) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bc) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 19번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bd) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을

제거하고, 125번, 18번, 22번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (be) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bf) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 18번, 22번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bg) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bh) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 45번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bi) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 및 95번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bk) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bl) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 43번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bm) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 92번, 및 95번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키거나; (bn) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산을 제거하고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 82번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산을 다른 아미노산으로 치환시키는 단계를 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[228] 인터루킨 2 아날로그, 및 변이는 상기에서 설명한 바와 같다.

[229]

[230] 본 발명을 구현하기 위한 다른 양태는 서열번호 3 내지 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 인터루킨 2 아날로그를 제공한다.

[231] 인터루킨 2 아날로그, 변이, 및 서열번호로 표현되는 아날로그의 정의는 상기에서 설명한 바와 같다.

[232] 구체적으로, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 3 내지 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하거나, 필수적으로 구성되거나, 구성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[233]

[234] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 하기 일반식 1로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그를 제공한다:

[235] [일반식 1]

[236] X1-P-T-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-X19-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-

K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-X43-F-X45-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61
-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-X74-S-K-N-F-H-X80-X81-P-R-X84-X85-X86-S-N-I-
N-X91-X92-V-X94-E-X96-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N-R-
W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T(일반식 1, 서열번호 212)

- [237] 상기 일반식 1에서,
- [238] X1은 결실이고,
- [239] X18은 루신(L), 또는 아르기닌(R)이고,
- [240] X19는 루신(L), 또는 티로신(Y)이고,
- [241] X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
- [242] X38은 알라닌(A), 아스파르트산(D), 또는 아르기닌(R)이고,
- [243] X42는 알라닌(A), 페닐알라닌(F), 리신(K), 또는 트립토판(W)이고,
- [244] X43은 글루탐산(E), 리신(K), 또는 글루타민(Q)이고,
- [245] X45는 알라닌(A), 또는 티로신(Y)이고,
- [246] X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 글루타민(Q), 또는 아르기닌(R)이고,
- [247] X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [248] X74는 히스티딘(H), 또는 글루타민(Q)이고,
- [249] X80은 페닐알라닌(F), 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
- [250] X81은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 아르기닌(R)이고,
- [251] X84는 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
- [252] X85는 알라닌(A), 글루탐산(E), 글리신(G), 루신(L), 발린(V), 트립토판(W), 또는 티로신(Y)이고,
- [253] X86은 알라닌(A), 글리신(G), 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,
- [254] X91은 트레오닌(T), 또는 발린(V)이고,
- [255] X92는 페닐알라닌(F), 이소루신(I), 또는 티로신(Y)이고,
- [256] X94는 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
- [257] X96은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)임.
- [258]
- [259] 또한, 상기 일반식 1에서 X133에 해당하는 트레오닌(T)에 하나 이상의 아미노산이 추가될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [260]
- [261] 구체적으로, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 62, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 85, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하거나, 필수적으로 구성되거나, 구성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [262] 이와 같은 인터루킨 2 아날로그는 알데스루킨 또는 천연형 인터루킨 2에 비해 증가된 베타 수용체 결합력을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [263]

- [264] 다른 예로, 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 상기 일반식 1에서,
 [265] X43은 리신(K)이고,
 [266] X45는 티로신(Y)이고,
 [267] X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
 [268] X68은 글루탐산(E)이고,
 [269] X74는 글루타민(Q)이고,
 [270] X80은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
 [271] X85는 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
 [272] X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,
 [273] X92는 페닐알라닌(F), 또는 이소루신(I)을 가질 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [274]
 [275] 구체적으로, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 및 105의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [276]
 [277] 본 발명의 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산이 추가로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [278]
 [279] 본 발명을 구현하기 위한 또 하나의 양태는 하기 일반식 2로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그를 제공한다:
- [280] [일반식 2]
 [281] X1-P-T-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-L-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-K-F-Y-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-Q-S-K-N-F-H-F-X81-P-R-D-X85-X86-S-N-I-N-V-F-V-L-E-L-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N-R-W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T (일반식 2, 서열번호 213)
- [282] 상기 일반식 2에서,
 [283] X1은 결실이고,
 [284] X18은 루신(L), 또는 아르기닌(R)이고,
 [285] X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
 [286] X38은 알라닌(A), 또는 아르기닌(R)이고,
 [287] X42는 페닐알라닌(F), 또는 리신(K) 이고,
 [288] X61은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
 [289] X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
 [290] X81은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
 [291] X85는 루신(L), 또는 발린(V)이고,

- [292] X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)임.
- [293] 구체적으로, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 22, 42, 53, 87, 105 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [294] 또한, 상기 일반식 2에서 X133에 해당하는 트레오닌(T)에 하나 이상의 아미노산이 추가될 수 있고, 또는 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산이 추가로 포함될 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.
- [295]
- [296] 한편, 본원 명세서에서 문맥상 달리 요구하지 않는 한, “포함한다”, “포함하는”, “함유하는”, 등의 표현은 명시된 정수(integer) 또는 정수 그룹의 포함을 의미하지만, 다른 정수 또는 정수의 집합을 배제하는 것이 아니라고 이해되어야 한다.
- [297]
- [298] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되는 것은 아니다.
- [299]
- [300] **실시예 1: 천연형 인터루킨 2 및 인터루킨 2 아날로그 발현 벡터의 제작**
- [301]
- [302] 133개의 아미노산을 코딩하는 천연형 인터루킨 2 발현 벡터를 제작하기 위해, 보고된 인터루킨 2 서열 (NM_000586.3; 서열번호 1)을 바탕으로 합성한 인터루킨 2를 pET-22b 벡터 (Novagen)에 클로닝하였다. 아울러, 상기 인터루킨 2를 주형으로 하여 인터루킨 2의 아미노산을 변형시킨 신규한 인터루킨 2 아날로그를 제작하였다. 인터루킨 2 아날로그 증폭을 위한 PCR 조건은 95°C 30초, 55°C에서 60초, 65°C에서 6.5분으로 이 과정을 16회 반복하였다. 원하는 부위의 아미노산이 정상적으로 바뀌어 있는지 상기 조건에서 얻어진 돌연변이(mutagenesis) 생성물에 대하여 서열 분석을 수행하였으며, 각각의 인터루킨 2 아날로그의 목적하는 변이 위치에 천연형 기준으로 아래 표 1에 표시한 변이가 있는 것을 확인하였다. 이렇게 얻어진 발현 벡터를 pET22b-인터루킨 2 아날로그 1 내지 105라 명명하였다.
- [303] 하기 표 1에 각각의 아미노산의 변화 서열 및 아날로그 이름을 나타냈다. 이들 인터루킨 2 아날로그를 제작하기 위해 순방향 (F) 및 역방향 (R) 프라이머를 합성한 후, PCR을 진행하여 각각의 아날로그 유전자를 증폭하였다.
- [304] 아래 표 1에서 아날로그 1은 알테스루킨이고, 프라이머 #1 내지 #204는 명세서의 서열번호 214 내지 417에 각각 해당한다.
- [305]

[306] [표1]

인터루킨 2 아날로그 종류와 변이 위치 및 그 변화 서열

아날로그	변이 위치 및 변화 서열	프라이머# (프라이머 번호)
1	desA1, C125S	197, 198, 201, 202
2	desA1, C125S, S87C	197, 198, 201, 202, 149, 150
3	desA1, C125S, K32C	197, 198, 201, 202, 19, 20
4	desA1, C125S, K35C	197, 198, 201, 202, 21, 22
5	desA1, C125S, K43C	197, 198, 201, 202, 47, 48
6	desA1, C125S, K48C	197, 198, 201, 202, 53, 54
7	desA1, C125S, K49C	197, 198, 201, 202, 55, 56
8	desA1, C125S, K76C	197, 198, 201, 202, 73, 74
9	desA1, C125S, R38A	197, 198, 201, 202, 25, 26
10	desA1, C125S, F42K	197, 198, 201, 202, 35, 36
11	desA1, C125S, F42A	197, 198, 201, 202, 33, 34
12	desA1, C125S, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36
13	desA1, C125S, R38A, F42A	197, 198, 201, 202, 25, 26, 33, 34
14	desA1, C125S, L19Y, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 13, 14, 25, 26, 35, 36
15	desA1, C125S, R38A, F42K, D84E	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 109, 110
16	desA1, C125S, R38A, F42K, N88Q	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 153, 154

[307]

17	desA1, C125S, R38A, F42K, V91T	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 165, 166
18	desA1, C125S, R38A, F42K, E61Q	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 59, 60
19	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 97, 98, 167, 168
20	desA1, C125S, R38A, F42K, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 139, 140, 167, 168
21	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 167, 168
22	desA1, C125S, L12V, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 3, 4, 25, 26, 35, 36
23	desA1, C125S, L12F, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 1, 2, 25, 26, 35, 36
24	desA1, C125S, L19V, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 11, 12, 25, 26, 35, 36
25	desA1, C125S, L19F, R38A, F42K	197, 198, 201, 202, 9, 10, 25, 26, 35, 36
26	DesA1, C125S, R38A, F42K, I89F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 157, 158
27	desA1, C125S, R38A, F42K, V91F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 163, 164
28	desA1, C125S, R38A, F42K, L94V	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36
29	desA1, C125S, R38A, F42K, Q126T	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 199, 200
30	desA1, C125S, R38A, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 97, 98, 169, 170

[308]

31	desA1, C125S, R38A, D84E	197, 198, 201, 202, 27, 28, 109, 110
32	desA1, C125S, R38A, R81D, D84E, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 95, 96, 169, 170
33	desA1, C125S, R38A, L80F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 77, 78
34	desA1, C125S, R38A, L80F, D84E	197, 198, 201, 202, 27, 28, 77, 78, 109, 110
35	desA1, C125S, R38A, L94F, L96F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 189, 190
36	desA1, C125S, R38A, L94F, L96V	197, 198, 201, 202, 27, 28, 193, 194
37	desA1, C125S, R38A, L94F, L96I	197, 198, 201, 202, 27, 28, 191, 192
38	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, I92F, L94F, L96F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 97, 98, 175, 176
39	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, I92F, L94F, L96V	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 97, 98, 179, 180
40	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, I92F, L94F, L96I	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 97, 98, 177, 178
41	desA1, C125S, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 79, 80, 167, 168
42	desA1, C125S, R38A, F42K, R81E, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 103, 104, 169, 170
43	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, I92L	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 183, 184

[309]

44	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, D84V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 113, 114, 169, 170
45	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, D84F, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 111, 112, 169, 170
46	desA1, C125S, D20V, R38A, F42K, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 17, 18, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 169, 170
47	desA1, C125S, D20F, R38A, F42K, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 15, 16, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 169, 170
48	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, N88V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 155, 156, 169, 170
49	desA1, C125S, R38A, F42K, R81D, N88F, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 99, 100, 151, 152, 169, 170
50	desA1, C125S, F42K, L80F, R81D, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 79, 80, 139, 140, 169, 170
51	desA1, C125S, B61Q, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 59, 60, 99, 100, 169, 170
52	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 169, 170
53	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, D84E, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 95, 96, 169, 170
54	desA1, C125S, R38A, F42K, Q74H, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 71, 72, 99, 100, 169, 170

[310]

55	desA1, C125S, R38A, F42K, Q74H, L80F, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 71, 72, 79, 80, 169, 170
56	desA1, C125S, R38A, F42K, Y45A, Q74H, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 49, 50, 71, 72, 99, 100, 169, 170
57	desA1, C125S, R38A, F42K, Y45A, Q74H, L80F, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 49, 50, 71, 72, 79, 80, 169, 170
58	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, L85A, I86A, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 115, 116, 167, 168
59	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, L85A, I86A, I92Y	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 115, 116, 187, 188
60	desA1, C125S, R38A, Y45A, L80Y, L85A, I86A, I92Y	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 51, 52, 93, 94, 115, 116, 187, 188
61	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81D, L85G, I86V, I92Y	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 87, 88, 125, 126, 187, 188
62	desA1, C125S, R38A, L80W, R81E, L85G, I86A, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 85, 86, 123, 124, 171, 172
63	desA1, C125S, R38A, F42K, L80D, R81E, L85T, I86G, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 75, 76, 133, 134, 167, 168

[311]

64	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81N, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 91, 92, 139, 140, 167, 168
65	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 89, 90, 139, 140, 167, 168
66	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81E, L85F, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 81, 82, 121, 122, 167, 168
67	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81D, L85F, I86V, I92W, E95D	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 87, 88, 121, 122, 185, 186, 195, 196
68	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81E, L85I, I86V, V91E, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 81, 82, 127, 128, 159, 160, 167, 168
69	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81E, L85F, I86L, V91E, I92W, E95D	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 89, 90, 119, 120, 161, 162, 185, 186, 195, 196
70	desA1, C125S, R38A, F42K, L80Y, R81D, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 87, 88, 139, 140, 167, 168
71	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 81, 82, 139, 140, 167, 168
72	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, L85V, I86G, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 135, 136, 167, 168

[312]

73	desA1, C125S, R38A, F42K, L80F, R81D, L85W, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 79, 80, 141, 142, 167, 168
74	desA1, C125S, R38D, F42K, L80V, R81D, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 31, 32, 35, 36, 87, 88, 139, 140, 167, 168
75	desA1, C125S, R38A, F42K, Y45A, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 35, 36, 51, 52, 81, 82, 139, 140, 167, 168
76	desA1, C125S, R38A, F42K, K43Q, E61R, L80F, R81D, L85V, I86G, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 39, 40, 61, 62, 79, 80, 135, 136, 167, 168
77	desA1, C125S, R38A, F42K, K43E, E61R, L80F, R81D, L85W, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 37, 38, 61, 62, 79, 80, 143, 144, 167, 168
78	desA1, C125S, K35E, R38A, F42K, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 23, 24, 25, 26, 35, 36, 81, 82, 139, 140, 167, 168
79	desA1, C125S, K35E, R38A, F42K, Q74H, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 23, 24, 25, 26, 35, 36, 71, 72, 81, 82, 139, 140, 167, 168
80	desA1, C125S, K35E, R38A, F42K, Q74H, L80F, R81E, P82G, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 23, 24, 25, 26, 35, 36, 71, 72, 81, 82, 105, 106, 139, 140, 167, 168
81	desA1, C125S, K35E, R38A, F42K, Q74H, L80F, R81E, P82V, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 23, 24, 25, 26, 35, 36, 71, 72, 81, 82, 107, 108, 139, 140, 167, 168

[313]

82	desA1, C125S, L18R, Q22E, L80F, R81D, L85E, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 79, 80, 117, 118, 167, 168
83	desA1, C125S, L18R, L19R, Q22E, L80F, R81D, L85E, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 5, 6, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 79, 80, 117, 118, 167, 168
84	desA1, C125S, L18R, Q22E, L80V, R81D, L85E, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 83, 84, 117, 118, 167, 168
85	desA1, C125S, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 139, 140, 167, 168
86	desA1, C125S, L18R, Q22E, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 139, 140, 167, 168
87	desA1, C125S, L18R, L19R, Q22E, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 5, 6, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 139, 140, 167, 168
88	desA1, C125S, E61D, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 57, 58, 81, 82, 139, 140, 167, 168
89	desA1, C125S, R38A, E68Q, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 43, 44, 65, 66, 81, 82, 139, 140, 167, 168

[314]

90	desA1, C125S, F42W, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 45, 46, 81, 82, 139, 140, 167, 168
91	desA1, C125S, E61Q, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 59, 60, 81, 82, 139, 140, 167, 168
92	desA1, C125S, L80F, R81E, L85V, I86V, V91T, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 139, 140, 147, 148, 167, 168
93	desA1, C125S, L80F, R81E, D84E, L85V, I86V, V91T, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 101, 102, 139, 140, 167, 168
94	desA1, C125S, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F, L94F, L96F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 81, 82, 139, 140, 173, 174
95	desA1, C125S, V69G, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 67, 68, 81, 82, 139, 140, 167, 168
96	desA1, C125S, V69G, Q74A, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 43, 44, 69, 70, 81, 82, 139, 140, 167, 168
97	desA1, C125S, R38A, L80F, R81D, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 79, 80, 167, 168

[315]

98	desA1, C125S, R38A, L80F, R81E, L85V, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 137, 138, 167, 168
99	desA1, C125S, R38A, L80F, R81E, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 131, 132, 167, 168
100	desA1, C125S, L80F, R81E, L85Y, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 145, 146, 167, 168
101	desA1, C125S, L80F, R81E, I86A, I92F	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 129, 130, 167, 168
102	desA1, C125S, L80F, R81E, L85V, I86V	197, 198, 201, 202, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 139, 140, 181, 182
103	desA1, C125S, L18R, Q22E, R38A, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 27, 28, 35, 36, 41, 42, 81, 82, 139, 140, 167, 168
104	desA1, C125S, L18R, Q22E, E61D, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 57, 58, 81, 82, 139, 140, 167, 168
105	desA1, C125S, L18R, Q22E, E68D, L80F, R81E, L85V, I86V, I92F	197, 198, 201, 202, 7, 8, 25, 26, 29, 30, 35, 36, 41, 42, 63, 64, 81, 82, 139, 140, 167, 168

[316] desA1은 인터루킨 2의 첫번째 아미노산인 알라닌을 결실시킨 것을 의미한다.

[317]

[318] 하기 표 2에 인터루킨 2 아날로그의 전장 길이 단백질 서열을 나타냈다. 하기 표 2 내의 볼드체는 변이 위치를 나타낸 것이다.

[319]

[320] [표2]

인터루킨 2 아날로그 서열

아날로그	단백질 서열	단백질 서열 번호	염기 서열 번호
1	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	2	107
2	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLICNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	3	108
3	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YCNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	4	109
4	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPCLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	5	110
5	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFCFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	6	111
6	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	7	112
7	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	8	113
8	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSCNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	9	114
9	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	10	115
10	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	11	116
11	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TAKFYMPPKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	12	117

[321]

12	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	13	118
13	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TAKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	14	119
14	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	15	120
15	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRELISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	16	121
16	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISQIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	17	122
17	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN TIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	18	123
18	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE QELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	19	124
19	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	20	125
20	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDVVSIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	21	126
21	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDVVSIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	22	127
22	PTSSSTKKT QVQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	23	128
23	PTSSSTKKT QFQLEHLLD LQILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	24	129

[322]

24	PTSSSTKKT QLQLEHLLVD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	25	130
25	PTSSSTKKT QLQLEHLLFD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	26	131
26	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	27	132
27	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN FIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	28	133
28	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVVELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	29	134
29	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSTSIIS TLT	30	135
30	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	31	136
31	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRELISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	32	137
32	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRELISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	33	138
33	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	34	139
34	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF RPRELISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	35	140
35	PTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVFEFKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	36	141

[323]

36	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVFEVKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	37	142
37	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL RPRDLISNIN VIVFEIKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	38	143
38	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVFEFKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	39	144
39	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVFEVKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	40	145
40	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVFEIKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	41	146
41	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	42	147
42	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL EPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	43	148
43	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VLVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	44	149
44	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRVLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	45	150
45	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRFLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	46	151
46	PTSSSTKKT QLQLEHLLV LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	47	152
47	PTSSSTKKT QLQLEHLLF LQMLNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	48	153

[324]

48	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISVIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	49	154
49	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISFIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	50	155
50	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	51	156
51	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	52	157
52	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	53	158
53	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	54	159
54	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAHKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	55	160
55	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAHKNFHF DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	56	161
56	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFAMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAHKNFHL DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	57	162
57	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFAMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAHKNFHF DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	58	163
58	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDAASNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	59	164
59	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDAASNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	60	165

[325]

60	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFAMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY RPRDAASNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	61	166
61	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY DPRDGVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	62	167
62	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY EPRDGASNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	63	168
63	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHD EPRDTGSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	64	169
64	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY NPRDVVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	65	170
65	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY EPRDVVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	66	171
66	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDFVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	67	172
67	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY DPRDFVSNIN VVWLDLKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	68	173
68	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDIVSNIN EFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	69	174
69	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY EPRDFLSNIN EWVLDLKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	70	175
70	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHY DPRDVVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	71	176
71	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	72	177

[326]

72	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	73	178
73	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	74	179
74	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHY DPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	75	180
75	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFAMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	76	181
76	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKQFYMPKKA TELKHLQCLE RELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	77	182
77	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE RELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	78	183
78	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPELTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	79	184
79	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPELTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAHKNFHF EPRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	80	185
80	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPELTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAHKNFHF EGRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	81	186
81	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPELTAML TKKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAHKNFHF EVRDVGSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	82	187
82	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDEVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	83	188
83	PTSSSTKKT QLQLEHLRRD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDEVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	84	189

[327]

84	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDEVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	85	190
85	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	86	191
86	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	87	192
87	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	88	193
88	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE DELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	89	194
89	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEQVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	90	195
90	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	91	196
91	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE QELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	92	197
92	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN TFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	93	198
93	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPREVSNIN TFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	94	199
94	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVFEFKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	95	200
95	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMLNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEGL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEEFLNR WITFSQSIIS TLT	96	201

[328]

96	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEGL NLAASKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	97	202
97	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF DPRDLISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	98	203
98	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVISNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	99	204
99	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDLVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	100	205
100	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	101	206
101	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDLASNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	102	207
102	PTSSSTKKT QLQLEHLLD LQMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	103	208
103	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTAML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	104	209
104	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE DELKPLEEVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	105	210
105	PTSSSTKKT QLQLEHLRLD LEMILNGINN YKNPKLTRML TFKFYMPPKA TELKHLQCLE BELKPLEDVL NLAQSKNFHF EPRDVVSNIN VFVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFSQSIIS TLT	106	211

[329]

[330] 실시예 2: 인터루킨 2 아날로그의 발현

[331]

[332] 상기 실시예 1에서 제조한 발현 벡터를 이용하여, T7 프로모터 조절하의 재조합 인터루킨 2 아날로그를 발현시켰다. 각각의 재조합 인터루킨 2 아날로그 발현 벡터로 발현 대장균 균주, *E. coli* BL21DE3(*E. coli* B F-dcm ompT hsdS(rB-mB-) gal λ(DE3); 노바젠)을 형질 전환하였다. 형질전환 방법은 노바젠사에서 추천하는 방법을 이용하였다. 각 재조합 발현 벡터가 형질 전환된 각각의 단일 콜로니를 취하여, 암피실린(50μg/ml)이 포함된 2X 루리아 브로스(Luria Broth) 배지에 접종하고, 37°C에서 15시간 동안 배양하였다. 재조합 균주 배양액과 30% 글리세롤이 포함된 2X LB 배지를 1:1(v/v)의 비율로

혼합하여, 각 1 mL씩 cryo-튜브에 분주하고, -150°C에 보관하였다. 이를 재조합 단백질의 생산을 위한 세포 스톡(cell stock)으로 사용하였다.

- [333] 재조합 인터루킨 2 아날로그의 발현을 위하여, 각 세포 스톡 1 바이알(vial)을 녹여 500 mL의 2X LB에 접종하고, 37°C에서 14 ~ 16시간 동안 진탕 배양하였다. 600 nm에서의 흡광도 값이 4.0 이상을 나타내면 배양을 종료하고, 이를 종 배양액으로 사용하였다. 5 L 발효기(Bioflo-320, NBS, 미국)를 이용하여, 종 배양액을 1.6 L의 발효 배지에 접종하고, 초기 발효를 시작하였다. 배양조건은 온도 37°C, 공기량 2.0 L/min(1vvm), 교반 속도 650 rpm 및 30% 암모니아수를 사용하여, pH 6.70으로 유지시켰다. 발효 진행은 배양액 내의 영양소가 제한되었을 때, 추가 배지(feeding solution)를 첨가하여 유가배양을 진행하였다. 균주의 성장은 흡광도로 관측하였고, 흡광도 값 70 이상에서 최종 농도 500 µM의 IPTG를 도입하였다. 배양은 IPTG 도입 후 약 23~25시간까지 더 진행하였으며, 배양 종료 후 원심 분리를 사용하여 재조합 균주를 수확하여 사용 시까지 -80°C에 보관하였다.

[334]

[335] **실시예 3: 인터루킨 2 아날로그의 추출 및 재접힘(refolding)**

[336]

- [337] 상기 실시예 2에서 얻은 인터루킨 2 아날로그 발현 대장균으로부터 인터루킨 2 아날로그를 가용성 형태로 바꾸기 위해 세포를 파쇄하고 재접힘하였다. 배양액 100 mL 분량에 해당하는 세포 펠렛을 1 - 200 mL의 파쇄 완충 용액 (20 mM Tris-HCl pH 9.0, 1 mM EDTA pH 9.0, 0.2 M NaCl, 0.5% Triton X-100)에 부유시킨 후, 미세용액화(Microfluidizer)를 이용하여 15,000 psi로 재조합 대장균을 파쇄하였다. 13,900 g에서 30분간 원심분리하여 상층액을 버리고, 400 mL의 첫번째 세척 완충 용액(50 mM Tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA pH 9.0)으로 펠렛을 세척하였다. 상기와 동일 조건으로 원심분리하여 상층액을 버리고, 펠렛을 400 mL의 두번째 세척 완충 용액(50 mM Tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA pH 9.0, 2% Triton X-100)으로 펠렛을 세척하였다. 상기와 동일 조건으로 원심분리하여 상층액을 버리고, 펠렛을 400 mL의 세번째 세척 완충 용액(50 mM Tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA pH 9.0, 1% sodium deoxycholate)으로 펠렛을 세척하였다. 상기와 동일 조건으로 원심분리하여 상층액을 버리고, 펠렛을 400 mL의 네번째 세척 완충 용액(50 mM Tris-HCl pH 8.0, 5 mM EDTA pH 9.0, 1 M NaCl)으로 펠렛을 세척하였다. 상기와 동일 조건으로 원심분리하여 세척된 대장균 봉입체 (inclusion body) 펠렛을 수득하였다. 세척된 봉입체 펠렛을 400 mL의 가용/환원화 완충액 (6 M Guanidine, 100 mM Tris pH 8.0, 2 mM EDTA pH 9.0, 50 mM DTT)에 재부유하여 50°C에서 30분 동안 교반하였다. 가용/환원된 인터루킨 2 아날로그에 증류수 100 mL를 넣어 6 M Guanidine을 4.8 M Guanidine으로 희석한 후 13,900 g에서 30분간 원심분리하여 펠렛을 버리고 용액만 수득하였다. 희석된 용액에 증류수 185.7 mL를 추가로 넣어 4.8 M Guanidine을 3.5 M

Guanidine으로 희석한 후 100% acetic acid를 이용하여 pH를 5.0로 맞추었다. pH 조정된 용액을 상온에서 1시간 교반하였다. 불순물이 침전된 용액은 13,900 g에서 30분간 원심분리하여 상층액을 버리고, 펠렛을 마지막 세척 완충 용액 (3.5 M Guanidine, 20 mM Sodium Acetate pH 5.0, 5 mM DTT)으로 펠렛을 세척하였다. 상기와 동일 조건으로 원심분리하여 펠렛을 수득하였다. 세척된 인터루킨 2 아날로그를 400 mL의 재접힘 완충 용액 (6 mM Guanidine, 100 mM Tris pH 8.0, 0.1 mM CuCl₂)으로 용해시킨다. 혼합용액을 4°C에서 15 - 24 시간 동안 교반함으로써 재접힘 과정을 수행하였다.

[338]

[339] 실시예 4: 크기 배제 컬럼 크로마토그래피

[340]

[341] 상기 실시예 3에서 얻은 인터루킨 2 아날로그 재접힘 용액을 크기 배제 컬럼에 적용하여 정제하기 위하여 1 mL이하로 농축하였다. 컬럼은 재접힘 용액 도입 전 완충 용액 (2 M Guanidine, 100 mM Tris pH 8.0)으로 평형화하였고, 재접힘 용액 도입 후 완충 용액 흘려주어 용출하였다. 용출된 시료는 구아니딘을 포함하고 있어 안정화 용액 (10 mM Sodium Acetate pH 4.5, 5% Trehalose)로 바뀌준 후 RP-HPLC, peptide mapping 분석을 통해 순도를 측정하였다. 측정된 순도가 80%이상이면 실험에 사용하였다.

[342]

[343] 실시예 5: 인터루킨 2 아날로그의 수용체 결합력 평가

[344]

[345] 상기 실시예 4에서 얻은 인터루킨 2 아날로그의 인터루킨 2 알파 수용체와 베타 수용체 각각의 수용체 결합력을 측정하기 위하여 표면 플라즈몬 공명 측정(BIACORE T200, GE healthcare사)을 사용하였다. 제조된 아날로그들의 알파 수용체 및 베타 수용체에 대한 결합력을 측정하고, 인터루킨 2 아날로그 01(aldesleukin)과 각 결합력을 비교하였다.

[346]

[347] 먼저 CM5칩(GE healthcare사)에 아민 결합법(amine coupling)을 통해 항 인간 면역글로불린 항체(Abcam사, #ab97221)를 약 5,000 RU (resonance unit)만큼 고정화한 후, 항원 항체 결합 반응을 이용하여 인간 면역글로불린 Fc부위가 결합된 인터루킨 2 알파 수용체(SYMANSIS사, #4102H) 또는 인터루킨 2 베타 수용체(SYMANSIS사, #4122H)를 각각 면역글로불린 항체에 결합시켜 최종 고정화 하였다. 그 다음으로 상기에서 제조한 제조합 인터루킨 2 아날로그를 농도별로 희석하고 인터루킨 2 수용체가 최종 고정된 CM5칩에 흘려주어 각 인터루킨 2 수용체의 결합력을 측정하였다. 결합력은 결합 속도 상수(k_a)와 해리 속도 상수(k_d)를 측정하는 것으로 이루어졌는데, 10 μ L/분의 유속으로 인터루킨 2 아날로그를 3분간 흘려 결합 속도를 측정하고, 동일한 시간과 유속으로 실험 베퍼만 흘려 주어 각 인터루킨 2 수용체로부터의 해리 속도를 측정하였다.

측정이 완료되면, Biaevaluation 프로그램에서 1:1 binding fitting model에 따라 수용체의 결합력 평가를 진행하였다.

[348]

[349] 상대적 결합력 K_D (%) = 아날로그 01(aldesleukin) 결합력(K_D) / 아날로그 결합력(K_D) $\times 100$

[350]

[351] 아래 표 3에서 “정의 불가”는 표면 플라스몬 공명 측정에서 해당 수용체에 대한 결합이 관측되지 않음에 따라 그 수용체에 한해서는 해당 물리량을 정의할 수 없다는 것을 가리킨다.

[352]

[353] [표3]

아날로그 01(aldesleukin) 대비 인터루킨 2 아날로그의 인터루킨 2 알파 또는 베타 수용체 상대적 결합력

인터루킨 2 수용체	시험 물질	상대적 결합력 (%)
알파 수용체	아날로그 01	100.0
	아날로그 09	74.5
	아날로그 12	정의 불가
	아날로그 13	1.1
	아날로그 15	정의 불가
	아날로그 16	0.2
	아날로그 17	29.6
	아날로그 19	정의 불가
	아날로그 20	정의 불가
	아날로그 21	정의 불가
	아날로그 31	5.0
	아날로그 34	9.4
	아날로그 35	31.7
	아날로그 41	121.3
	아날로그 52	정의 불가
	아날로그 53	정의 불가
	아날로그 86	71.1
	아날로그 88	101.5
	아날로그 90	98.4
	아날로그 91	7.9
	아날로그 92	97.3
	아날로그 93	92.8
	아날로그 95	10.7
	아날로그 96	14.9
	아날로그 97	18.8
	아날로그 98	7.7
	아날로그 99	19.9

[354]

	아날로그 100	29.1
	아날로그 101	24.7
	아날로그 102	151.4
	아날로그 103	6.1
	아날로그 104	122.4
	아날로그 105	246.8
베타 수용체	아날로그 01	100.0
	아날로그 09	337.4
	아날로그 12	166.2
	아날로그 13	148.6
	아날로그 14	129.7
	아날로그 15	98.1
	아날로그 16	1261.8
	아날로그 17	9.4
	아날로그 18	35.3
	아날로그 19	455.0
	아날로그 20	156.5
	아날로그 21	14084.2
	아날로그 24	37.9
	아날로그 25	21.7
	아날로그 31	235.7
	아날로그 34	321.8
	아날로그 35	232.7
	아날로그 41	22776.2
	아날로그 52	3821.1
	아날로그 53	690.7
	아날로그 55	3025.7
	아날로그 57	2569.7
	아날로그 58	7771.2

[355]

아날로그 59	1533.5
아날로그 61	1039.1
아날로그 70	10199.2
아날로그 71	17083.8
아날로그 73	1591.8
아날로그 74	8153.4
아날로그 75	9571.2
아날로그 76	1040.4
아날로그 77	644.4
아날로그 84	710.7
아날로그 86	18745.8
아날로그 88	13856.6
아날로그 90	12776.2
아날로그 91	7361.9
아날로그 92	1510.3
아날로그 93	696.8
아날로그 94	35.5
아날로그 95	17.1
아날로그 96	229.3
아날로그 97	3019.4
아날로그 98	11084.5
아날로그 99	1509.1
아날로그 100	2534.1
아날로그 101	113.1
아날로그 102	4452.0
아날로그 103	13100.0
아날로그 104	25439.8
아날로그 105	26837.8

[356] 시험 결과(도 1 및 2, 및 표 3)에서 명시된 바와 같이 본 발명의 인터루킨 2 아날로그들은 인터루킨 2 알파 수용체 결합력을 아예 상실하거나, 인터루킨 2 아날로그 1에 비하여 감소 또는 증가하는 등 천연형 인터루킨 2 또는 알데스루킨과 상이한 인터루킨 2 알파 수용체 결합력을 나타내는 것을 확인하였다. 반면, 인터루킨 2 베타 수용체에 대해서는 천연형 인터루킨 2 또는 알데스루킨에 비하여 최대 100배 더 강한 결합력이 확인되었다. 이를 통해 인터루킨 2 아날로그의 아미노산 서열이 인터루킨 2 알파 또는 베타 수용체의

결합에 영향력이 있음을 확인하였다. 이는 특정 위치의 아미노산을 치환함으로써 인터루킨 2 수용체의 결합력을 변화시킬 수 있음을 시사하는 바이다.

[357] 상기와 같은 실험 결과는 본 발명에 따른 인터루킨 2 아날로그가 변화된 인터루킨 2 알파 수용체 결합력 및 인터루킨 2 베타 수용체 결합력을 가져, 이를 활용한 다양한 약물 개발에 이용될 수 있음을 시사하는 것이다.

[358]

[359] 이상의 설명으로부터, 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있음을 이해할 수 있다. 이와 관련하여, 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 제한적인 것이 아닌 것으로 이해하여야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 상세한 설명보다는 후술되는 특허 청구범위의 의미 및 범위, 그리고 그 등가 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

- [청구항 1] 알데스루킨(aldesleukin)에 비해 인터루킨 2 베타 수용체 결합력이 증대된 인터루킨 2 아날로그(analog)로서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2에서 1번, 12번, 18번, 19번, 20번, 22번, 32번, 35번, 38번, 42번, 43번, 45번, 48번, 49번, 61번, 68번, 69번, 74번, 76번, 80번, 81번, 82번, 84번, 85번, 86번, 87번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 95번, 96번, 125번, 126번 및 133번 위치에 상응하는 아미노산 중 하나 이상이 변이된 서열을 포함하는 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 인터루킨 2 알파 수용체에 대한 결합력이 알데스루킨과 달라진 것을 특징으로 하는 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 133번 위치에 상응하는 아미노산에 하나 이상의 아미노산이 추가된 것인, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 것인, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 5] 제4항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 1개 내지 10개의 아미노산 치환을 추가로 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 6] 제5항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 18번, 19번, 20번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 69번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 89번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 중 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환된 것인, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 18번, 19번, 22번, 38번, 42번, 43번, 45번, 61번, 68번, 74번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 88번, 91번, 92번, 94번, 및 96번 중 하나 이상의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 치환된 것인, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 하기 아날로그 중 어느 하나인 것인 인터루킨 2 아날로그:
- (a) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 32번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
 - (b) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 35번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
 - (c) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 38번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
 - (d) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
 - (e) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 43번

- 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (f) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 48번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (g) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 49번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (h) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 76번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (i) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 92번, 94번 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (j) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 및 87번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (k) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (l) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 80번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (m) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 및 84번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (n) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 19번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (o) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 12번, 38번, 및 42번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (p) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 61번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (q) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 84번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (r) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 88번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (s) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 89번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (t) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 91번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (u) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 94번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (v) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 및 126번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (w) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 80번, 및 84번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

- (x) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 94번, 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (y) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (z) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 61번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (aa) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ab) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ac) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 81번, 84번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ad) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 20번, 38번, 42번, 81번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ae) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (af) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 74번, 81번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ag) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 84번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ah) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 81번, 88번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ai) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 85번, 86번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (aj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 80번, 81번, 85번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;
- (ak) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 80번, 81번, 86번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2

아날로그;

(al) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(am) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 45번, 74번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(an) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ao) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 84번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ap) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 45번, 80번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(aq) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ar) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(as) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(at) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 69번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(au) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(av) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(aw) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ax) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번,

45번, 74번, 80번, 81번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ay) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(az) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 69번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(ba) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 84번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bb) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 94번, 및 96번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bc) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 19번, 22번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bd) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 38번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(be) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bf) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 18번, 22번, 68번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bg) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bh) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 45번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bi) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bj) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bk) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bl) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 43번, 61번, 80번, 81번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그;

(bm) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 38번, 42번, 80번, 81번, 85번, 86번, 91번, 92번, 및 95번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그; 및

(bn) 천연형 인터루킨 2 중 1번 아미노산이 제거되고, 125번, 35번, 38번, 42번, 74번, 80번, 81번, 82번, 85번, 86번, 및 92번 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된, 인터루킨 2 아날로그.

[청구항 9] 제8항에 있어서, 상기 아미노산 치환은 하기 아미노산 치환으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것인, 인터루킨 2 아날로그:

(a) 12번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환;

(b) 18번 아미노산이 아르기닌으로 치환;

(c) 19번 아미노산 티로신, 발린, 페닐알라닌, 아르기닌으로 치환;

(d) 20번 아미노산이 발린 또는 페닐알라닌으로 치환;

(e) 22번 아미노산이 글루탐산으로 치환;

(f) 32번 아미노산이 시스테인으로 치환;

(g) 35번 아미노산이 시스테인 또는 글루탐산으로 치환;

(h) 38번 아미노산이 알라닌 또는 아스파르트산으로 치환;

(i) 42번 아미노산이 라이신, 알라닌, 또는 트립토판으로 치환;

(j) 43번 아미노산이 시스테인, 글루탐산, 또는 글루타민으로 치환;

(k) 45번 아미노산이 알라닌으로 치환;

(l) 48번 아미노산이 시스테인으로 치환;

(m) 49번 아미노산이 시스테인으로 치환;

(n) 61번 아미노산이 글루타민, 아르기닌, 또는 아스파르트산으로 치환;

(o) 68번 아미노산이 아스파르트산, 또는 글루타민으로 치환;

(p) 69번 아미노산이 글리신으로 치환;

(q) 74번 아미노산이 히스티딘 또는 알라닌으로 치환;

(r) 76번 아미노산이 시스테인으로 치환;

(s) 80번 아미노산이 페닐알라닌, 티로신, 발린, 아스파르트산, 또는 트립토판으로 치환;

(t) 81번 아미노산이 아스파르트산, 글루탐산, 또는 아스파라긴으로 치환;

(u) 82번 아미노산이 글리신, 또는 발린으로 치환;

(v) 84번 아미노산이 글루탐산, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환;

(w) 85번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 트립토판, 티로신, 트레오닌,

이소류신, 글루탐산, 또는 페닐알라닌으로 치환;
 (x) 86번 아미노산이 발린, 알라닌, 글리신, 또는 류신으로 치환;
 (y) 87번 아미노산이 시스테인으로 치환;
 (z) 88번 아미노산이 글루타민, 발린, 또는 페닐알라닌으로 치환;
 (aa) 89번 아미노산이 페닐알라닌으로 치환;
 (ab) 91번 아미노산이 트레오닌, 페닐알라닌, 또는 글루탐산으로 치환;
 (ac) 92번 아미노산이 페닐알라닌, 류신, 티로신, 또는 트립토판으로 치환;
 (ad) 95번 아미노산이 아스파르트산으로 치환;
 (ae) 96번 아미노산이 페닐알라닌, 발린, 또는 이소류신으로 치환; 및
 (af) 126번 아미노산이 트레오닌으로 치환.

- [청구항 10] 제1항 내지 제9항 중 어느 한 항의 인터루킨 2 아날로그를 코딩하는, 분리된 핵산.
- [청구항 11] 제10항에 따른 핵산을 포함하는, 재조합 발현 벡터.
- [청구항 12] 제11항에 따른 재조합 발현 벡터를 포함하는, 인간을 제외한 형질전환체.
- [청구항 13] 서열번호 3 내지 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그.
- [청구항 14] 하기 일반식 1로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그:

[일반식 1]

X1-P-T-S-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-X19-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-X43-F-X45-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-X74-S-K-N-F-H-X80-X81-P-R-X84-X85-X86-S-N-I-N-X91-X92-V-X94-E-X96-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N-R-W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T(일반식 1, 서열번호 212)

상기 일반식 1에서,

X1은 결실이고,

X18은 류신(L), 또는 아르기닌(R)이고,

X19는 류신(L), 또는 티로신(Y)이고,

X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,

X38은 알라닌(A), 아스파르트산(D), 또는 아르기닌(R)이고,

X42는 알라닌(A), 페닐알라닌(F), 리신(K), 또는 트립토판(W)이고,

X43은 글루탐산(E), 리신(K), 또는 글루타민(Q)이고,

X45는 알라닌(A), 또는 티로신(Y)이고,

X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 글루타민(Q), 또는 아르기닌(R)이고,

X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,

X74는 히스티딘(H), 또는 글루타민(Q)이고,

X80은 페닐알라닌(F), 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
 X81은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 아르기닌(R)이고,
 X84는 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,
 X85는 알라닌(A), 글루탐산(E), 글리신(G), 루신(L), 발린(V),
 트립토판(W), 또는 티로신(Y)이고,
 X86은 알라닌(A), 글리신(G), 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,
 X91은 트레오닌(T), 또는 발린(V)이고,
 X92는 페닐알라닌(F), 이소루신(I), 또는 티로신(Y)이고,
 X94는 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
 X96은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)임.

[청구항 15] 제14항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 15, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 56, 58, 59, 60, 62, 71, 72, 74, 75, 76, 77, 78, 85, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 105, 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.

[청구항 16] 제14항에 있어서,
 상기 일반식 1에서,
 X43은 리신(K)이고,
 X45는 티로신(Y)이고,
 X61은 아스파르트산(D), 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,
 X68은 글루탐산(E)이고,
 X74는 글루타민(Q)이고,
 X80은 페닐알라닌(F), 또는 루신(L)이고,
 X85는 루신(L), 발린(V), 또는 티로신(Y)이고,
 X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)이고,
 X92는 페닐알라닌(F), 또는 이소루신(I)임.

[청구항 17] 제16항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 10, 13, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 32, 35, 36, 42, 53, 54, 87, 89, 91, 92, 93, 94, 98, 99, 100, 101, 103, 104, 및 105의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.

[청구항 18] 제14항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산이 추가로 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.

[청구항 19] 하기 일반식 2로 표현되는 아미노산 서열을 포함하는, 인터루킨 2 아날로그:

[일반식 2]

X1-P-T-S-S-S-T-K-K-T-Q-L-Q-L-E-H-L-X18-L-D-L-X22-M-I-L-N-G-I-N-N-Y-K-N-P-K-L-T-X38-M-L-T-X42-K-F-Y-M-P-K-K-A-T-E-L-K-H-L-Q-C-L-E-X61-E-L-K-P-L-E-X68-V-L-N-L-A-Q-S-K-N-F-H-F-X81-P-R-D-X85-X86-

S-N-I-N-V-F-V-L-E-L-K-G-S-E-T-T-F-M-C-E-Y-A-D-E-T-A-T-I-V-E-F-L-N
-R-W-I-T-F-S-Q-S-I-I-S-T-L-T(일반식 2, 서열번호 213)

X1은 결실이고,

X18은 루신(L), 또는 아르기닌(R)이고,

X22는 글루탐산(E), 또는 글루타민(Q)이고,

X38은 알라닌(A), 또는 아르기닌(R)이고,

X42는 페닐알라닌(F), 또는 리신(K) 이고,

X61은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,

X68은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,

X81은 아스파르트산(D), 또는 글루탐산(E)이고,

X85는 루신(L), 또는 발린(V)이고,

X86은 이소루신(I), 또는 발린(V)임.

[청구항 20] 제19항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 서열번호 22, 42, 53, 87, 105 및 106의 아미노산 서열로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나의 서열을 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.

[청구항 21] 제19항에 있어서, 상기 인터루킨 2 아날로그는 C-말단에 하나 이상의 아미노산이 추가로 포함하는 것인, 인터루킨 2 아날로그.