



SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

(11) (21) Patenttihakemus - Patentansökan	962000
(51) Kv.1k.6 - Int.c1.6	
C 12N 15/11, C 12P 19/34, C 12Q 1/68	
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	10.05.96
(24) Alkupäivä - Löpdag	14.11.94
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	10.05.96
(86) Kv. hakemus - Int. ansökan	PCT/US94/13041
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
12.11.93 US 152482 P	

(71) Hakija - Sökande

1. The Scripps Research Institute, 10666 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Erlander, Mark G., 1352 Via Terrassa, Encinitas, CA 92024, USA, (US)
2. Sutcliffe, Gregor J., 2253 Via Tiempo, Cardiff, CA 92007, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Berggren Oy Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä erikseen ekspressoituvien mRNA:iden identifioimiseksi samanaikaisesti sekä suhteellisten pitoisuuksien mittaamiseksi
Förfarande för samtidig identifiering av separat expresenterande mRNA samt mätning av relativa koncentrationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on entistä parempi menetelmä mRNA:iden samanaikaiseksi sekvenssispesifiseksi identifioimiseksi mRNA-populaatiosta, jolla saadaan visualisoitua lähes kaikki kudoksen ekspressoimat mRNA-molekyylit geelillä erillisenä vyöhykkeenä, jonka intensiteetti vastaa karkeasti ottaen mRNA-pitoisuutta. Tavallisesti menetelmässä muodostetaan cDNA:ta käyttämällä ankkurialukkeita 3'-päätepisteen fiksoimiseksi, saadaan kloonattuja inserttejä cDNA:sta vektorissa, joka sisältää bakteriofagispesifisen promoottorin myöhempää RNA-syntetointia varten, muodostetaan kloona-
tuista inserteistä linearisoituja fragmentteja, valmistetaan cRNA:ita, transkriptoidaan cDNA cRNA:sta käyttämällä alukesettiä, ja suoritetaan PCR käyttämällä 3'-aluketta, jonka sekvenssi on johdettu vektorista, ja 5'-alukkeiden settiä johdettuna cDNA:n transkriptointiin cRNA:sta käytetyistä alukkeista. Menetelmällä saadaan identifioitua mRNA-ekspression muutoksia, jotka liittyvät lääkeaineiden antoon tai fysiologisiin tai patologisiin tiloihin.

Uppfinningen avser ett förbättrat förfarande för samtidig sekvensspecifik identifikation av mRNA från en mRNA-population med vilket det är möjligt att visualisera så gott som alla av vävnaden expresenterade mRNA-molekyler som separata sektorer på en gel vars intensitet motsvarar i stora drag mRNA-haltet. I förfarandet formas cDNA vanligtvis genom att man använder ankarprimer för fixering av en 3'-ändpunkt, man får klonade inserter av cDNA i en vektor som innehåller en bakteriofagspecifik promotor för senare RNA-syntetisering, man framställer cRNA, transkriberar cDNA från cRNA genom att använda ett primersset, och genomför PCR genom att använda en 3'-primer vars sekvens har härletts av vektoren samt ett set av 5'-primer härlett från primer tillämpade för transkription av cDNA från cRNA. Med förfarandet det är möjligt att identifiera förändringar i mRNA-expression som givande av läkemedel eller fysiologiska eller patologiska tillstånd medför.