

C 07 H 21

Ans.nr.: 1854/84

Indleveret: 10 apr 1984

Løbedag: 10 apr 1984 840410

Alm. tilgængelig: 12 okt 1984

Prioritet: 11 apr 1983 DE 3312928

\*GESELLSCHAFT FUER BIOTECHNOLOGI-  
SCHE FORSCHUNG MBH (GFB);

Braunschweig-Stueckheim, DE.

Opfinder: Hubert \*Mayer; DE.

Fuldmægtig: Ingeniørfirmaet Budde, Schou &  
Co

Hybridvektor, der producerer human-parathyroid  
hormon, samt human-parathyroid hor-  
mon-gen

SAMMENDRAG.

1854-84

En hybridvektor, der kan klones i prokaryotiske celler, og som producerer human-parathyroid hormon (PTH), er karakteriseret ved følgende træk:

- (a) en promotor,
- (b) eventuelt en DNA-region, stødende op til promotoren, på fra 1 til 1000 og navnlig på fra 1 til 200 basepar,
- (c) et ribosomalt bindingssted, stødende op til DNA-regionen ifølge (b) eller stødende op til promotoren ifølge (a), såfremt (b) mangler,
- (d) en DNA-region, stødende op til det ribosomale bindingssted, på fra 4 til 15 basepar,
- (e) en start-kodon, stødende op til DNA-regionen ifølge (d), og
- (f) en specifik DNA-sekvens, der koder for human-parathyroid hormon (PTH).

En hybridvektor, der kan klones i eukaryotiske celler og pro-

ducerer human-parathyroid hormon (PTH), kan

- (A) fremstilles ved
  - (a) isolering af mRNA fra porcine parathyroider,
  - (b) kloning af den isolerede mRNA som ds-cDNA ved hjælp af en vektor i E. coli,
  - (c) isolering af hybridvektor-DNA fra pools af resulterende kloner,
  - (d) fiksering af hybridvektor-DNA til en bærer for hver pool, hybridisering af mRNA isoleret ifølge (a) og dernæst fjernelse deraf igen, udførelse af forsøg på at translaterer mRNA, der er blevet fjernet, til porcint parathyroid hormon (PTH), der er blevet identificeret ved antistof-fældning, hvorved der bestemmes kloner, der er opnået ifølge (b), som har porcine parathyroid hormon (PTH)-gensekvenser, sekvensering af hybridvektor-DNA af bestemte kloner med porcine parathyroid hormon(PTH)-gensekvenser, og identifikation af den klon eller de kloner, der har hybridvektor-DNA, med en DNA-sekvens, der koder for porcint parathyroid hormon (PTH),
  - (e) radioaktiv mærkning af hybridvektor-DNA af de ifølge (d) identificerede kloner,
  - (f) screening af en human genbank med resulterende radioaktivt mærket hybridvektor-DNA og
  - (g) isolering af det bestemte human-parathyroid hormon (PTH)-gen (DNA-sekvensen mellem EcoRI-restraktionsstederne ifølge (B) og overføring af dette til en ekspressions-hybridvektor, der kan klones i eukaryotiske celler,
- (B) og denne vektor er karakteriseret ved en DNA-sekvens lokaliseret mellem to EcoRI-restraktionssteder, der inkluderer en specifik DNA-sekvens, eller en subregion af DNA-sekvensen lokaliseret mellem EcoRI-restraktionsstederne, især en subregion, der udtrykker human-parathyroid hormon

1854-84

(PTH) eller angonister eller antagonistier deraf.

Et humant parathyroid hormon (PTH)-gen kan fremstilles ifølge (A) ovenfor og er karakteriseret ved DNA-sekvensen lokaliseret mellem to EcoRI-restriktionssteder ifølge (B) ovenfor eller en subregion deraf.

