

C 12 N 15

Ans.nr.: 4139/82

Indleveret: 16 sep 1982

Løbedag: 16 sep 1982

Alm. tilgængelig: 25 apr 1983

Prioritet: 18 sep 1981 US 303687

*GENENTECH INC.; South San Francisco, US.

Opfinder: Herman Albert De *Boer; US, Herbert

L. *Heyneker; US, Peter H. *Seeburg; US.

Fuldmægtig: Patentbureauet Hofman-Bang & Boutard

Fremgangsmåder og midler til mikrobiel udtrykkelse af DNA-sekvenser

SAMMENDRAG

4139-82

En DNA-sekvens, der koder for et ønsket polypeptid, konstrueres på en sådan måde, at den tilsvarende mRNA dannet ved transkription i en passende mikrobiel vært udviser niveauer af rumlig, dvs. sekundær/tertiær struktur, der er utilstrækkelige til at skade dens tilgængelighed for effektiv ribosomal translation. Dette gøres ved, at et fragment af DNA-sekvensen syntetiseres kemisk således, at der skabes en sekvens, som koder for den rigtige aminosyre-sammensætning af den N-terminale del af polypeptidet, idet der udvælges sådanne codoner fra den degenererede genetiske kode, at denne sekvens ved transkription giver mRNA, som har minimal sekundær/tertiær struktur. Det syntetiserede fragment liggeres derpå sammen i rigtig aflæsningsramme-forbindelse med et andet fragment, som koder for den resterende C-terminale del af polypeptidet med den naturlige sekvens.

Når DNA-sekvensen indsættes sammen med passende anbragte translations-start- og -stop-signaler i en mikrobiel udtrykkelsesvektor og deri bringes under styring af en mikrobielt operabel promotor, og en mikroorganisme transformeres med det således dannede mikrobielle udtrykkelsesmedium, kan der opnås transformant-mikroorganismer, som er i stand til at producere væsentlige mængder af det ønskede polypeptidprodukt. Specielt er der opnået mikroorganismer, som kan producere oksevæksthormon i mængder på over ca. 100 000 kopier pr. celle.