

OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 151 463**

⑤① Int. Cl.<sup>6</sup>: C12N 15/67

C12N 15/90

C12N 15/85

⑫ **TRADUCCION DE REIVINDICACIONES DE SOLICITUD  
DE PATENTE EUROPEA**

T1

⑧⑥ Número de solicitud europea: **96203412.0**

⑧⑥ Fecha de presentación de la solicitud: **21.12.1990**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0 779 362**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **18.06.1997**

③⑩ Prioridad: **22.12.1989 US 454783**

⑦① Solicitante/s: **Applied Research Systems ARS  
Holding N.V.  
14 John B. Gorsiraweg, P.O. Box 3889  
Curaçao, AN**

④③ Fecha de la publicación de la mención BOPI:  
**01.01.2001**

⑦② Inventor/es: **Chappel, Scott C.**

④⑥ Fecha de publicación de la traducción de las rei-  
vindicaciones: **01.01.2001**

⑦④ Agente: **Dávila Baz, Angel**

⑤④ Título: **Constructos de ADN para la modificación de la activación y expresión de genes endógenos.**

ES 2 151 463 T1

## REIVINDICACIONES

1. Un constructo de ADN adecuado para utilizarse en la activación de la expresión de un gen preseleccionado que normalmente es transcripcionalmente silencioso en una línea predeterminada de células huésped eucariotas y adecuada para reconocer dicho gen preseleccionado mediante recombinación homóloga, cuyo constructo comprende:

- un segmento de ADN regulador capaz de activar la expresión de dicho gen preseleccionado que normalmente es transcripcionalmente silencioso cuando está enlazado operativamente con el mismo, cuyo segmento de ADN regulador, cuando está enlazado de ese modo, no se encuentra en su posición natural en el genoma, y que activa, en su posición natural, la expresión de un producto genético normalmente expresado por dicha línea celular; y
- un segmento de ADN de reconocimiento homólogo a una región sin traducir y específica del genoma dentro o proximal al gen preseleccionado dentro de la línea de células huésped.

2. Un constructo de ADN adecuado para utilizarse en la modificación de las características de expresión de un gen preseleccionado en una línea predeterminada de células huésped eucariotas y adecuado para reconocer dicho gen preseleccionado mediante recombinación homóloga, cuyo constructo comprende:

- un segmento de ADN regulador capaz de activar la expresión de dicho gen preseleccionado

nado cuando está enlazado operativamente con el mismo, no encontrándose dicho segmento de ADN regulador, cuando está enlazado de este modo, en su posición natural en el genoma, y que activa, en su posición natural, la expresión de un producto genético normalmente expresado por dicha línea celular; y

- un segmento de ADN de reconocimiento homólogo a una región sin traducir y específica del genoma dentro o proximal al gen preseleccionado dentro de la línea de células huésped.

3. Un constructo de ADN según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque comprende dos segmentos de ADN de reconocimiento, siendo homólogo, al menos el segmento aguas arriba, a una región no codificadora del genoma.

4. Un constructo de ADN según la reivindicación 3, **caracterizado** porque el segmento aguas abajo de ADN de reconocimiento incluye una porción del gen preseleccionado.

5. El uso de un constructo de ADN como el reivindicado en la reivindicación 1, o en la reivindicación 3 ó 4, cuando estas dependen de la reivindicación 1, para la activación de la expresión de un gen preseleccionado que normalmente es transcripcionalmente silencioso en una línea predeterminada de células huésped eucariotas.

6. El uso de un constructo de ADN como se ha reivindicado en la la reivindicación 2, o la reivindicación 3 ó 4, cuando éstas dependen de la reivindicación 2, para la modificación de las características de expresión de un gen preseleccionado en una línea predeterminada de células huésped eucariotas.

---

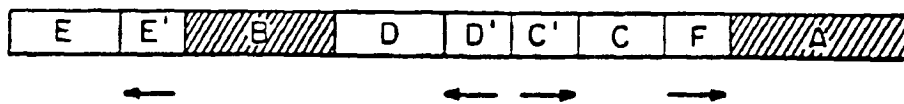
**NOTA INFORMATIVA:** Conforme a la reserva del art. 167.2 del Convenio de Patentes Europeas (CPE) y a la Disposición Transitoria del RD 2424/1986, de 10 de octubre, relativo a la aplicación del Convenio de Patente Europea, las patentes europeas que designen a España y solicitadas antes del 7-10-1992, no producirán ningún efecto en España en la medida en que confieran protección a productos químicos y farmacéuticos como tales.

---

Esta información no prejuzga que la patente esté o no incluida en la mencionada reserva.

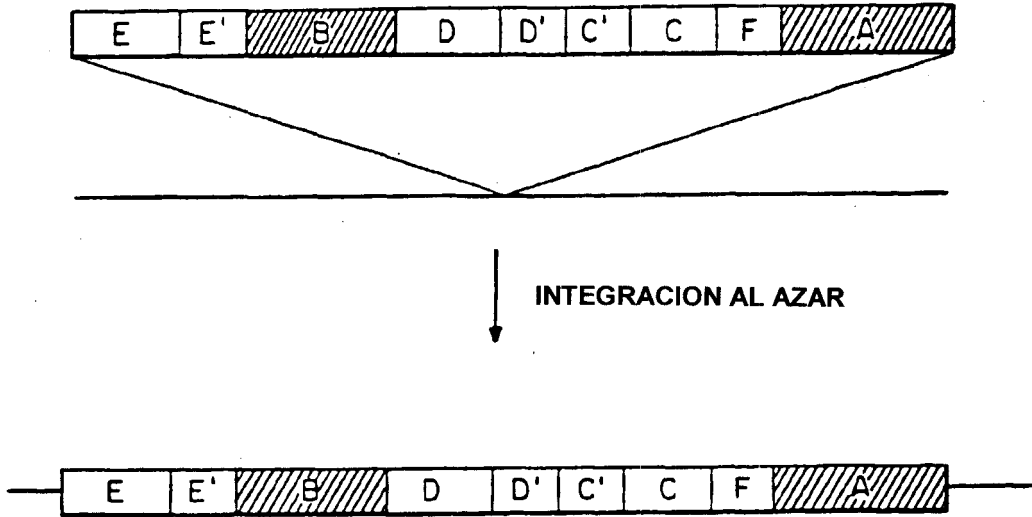
---

*FIG. 1*



# FIG. 2A

INTEGRACION AL AZAR



# FIG. 2B

RECOMBINACION HOMOLOGA

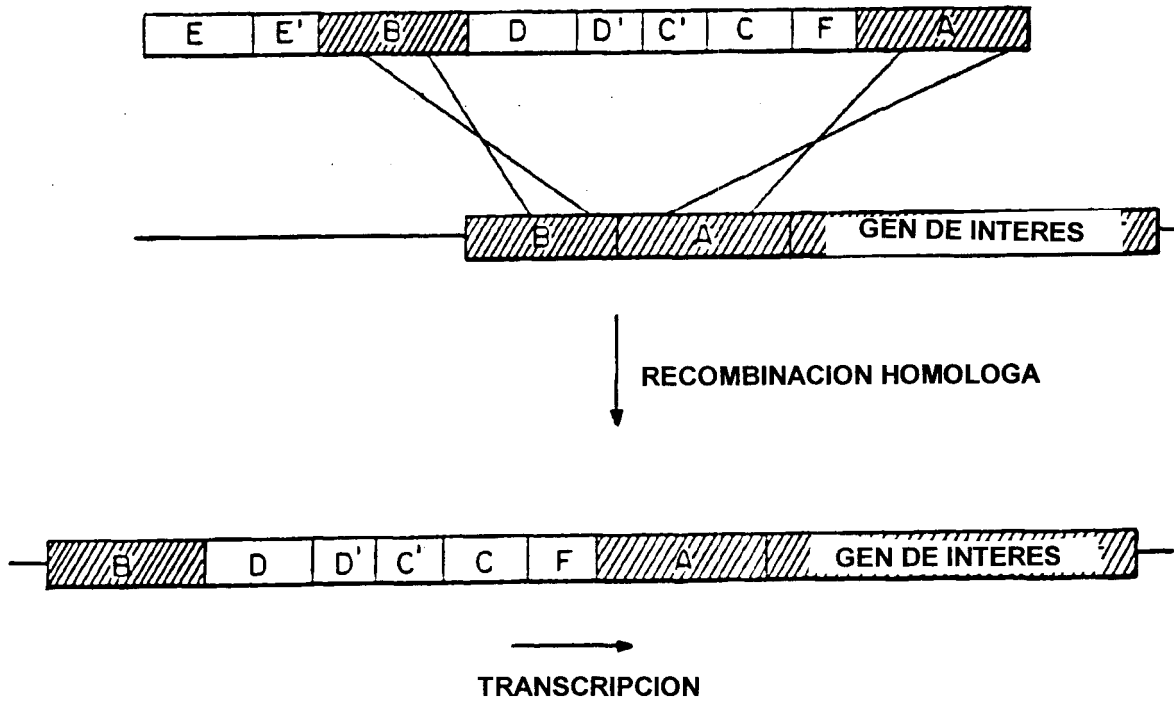


FIG. 3

CONSTRUCTO DE RECOMBINACION HOMOLOGA  
PARA TSH BETA DE RATA

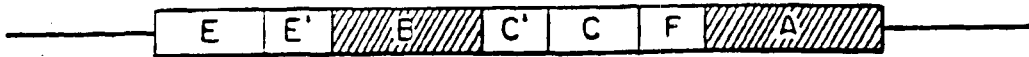


FIG. 4

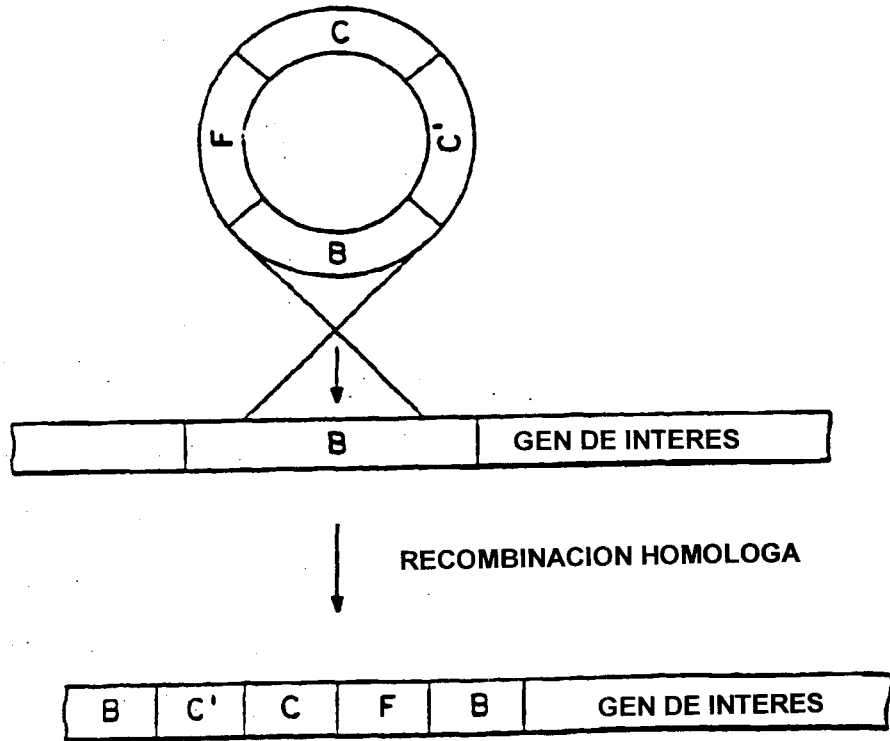
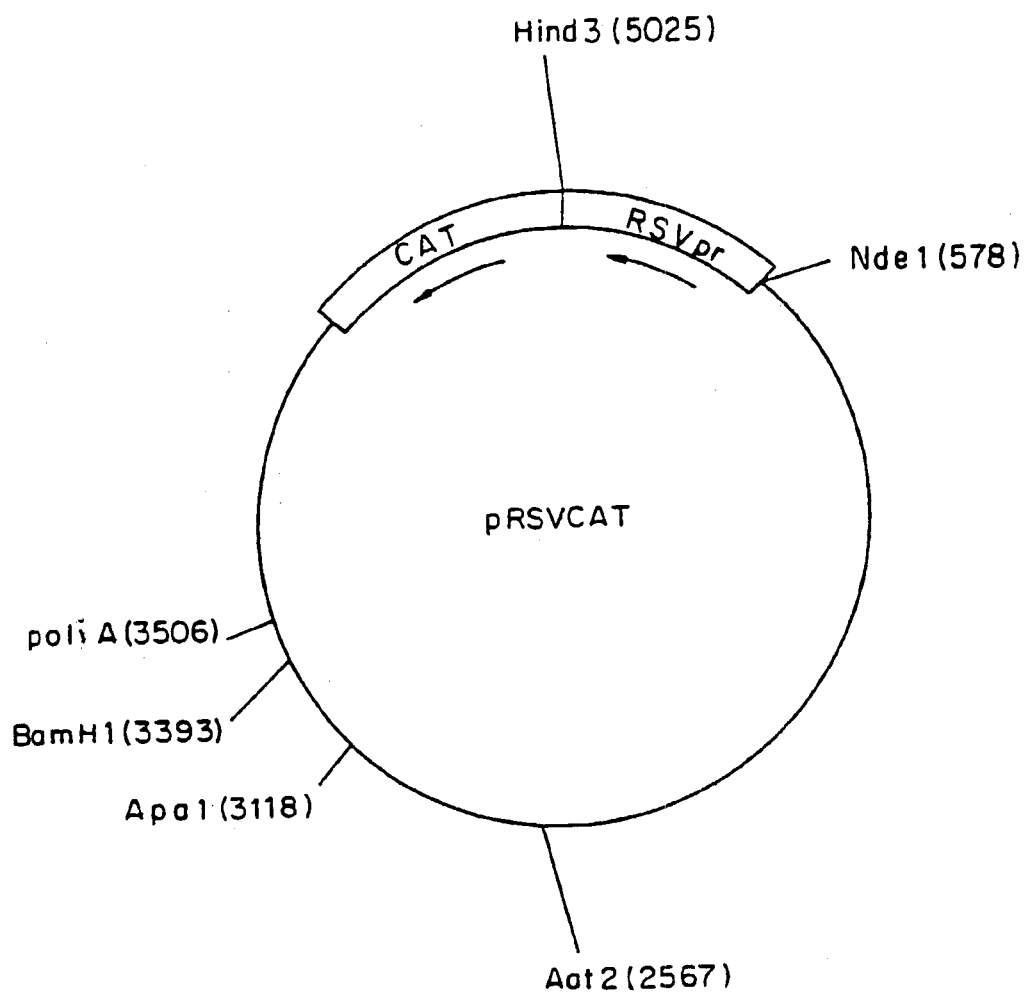


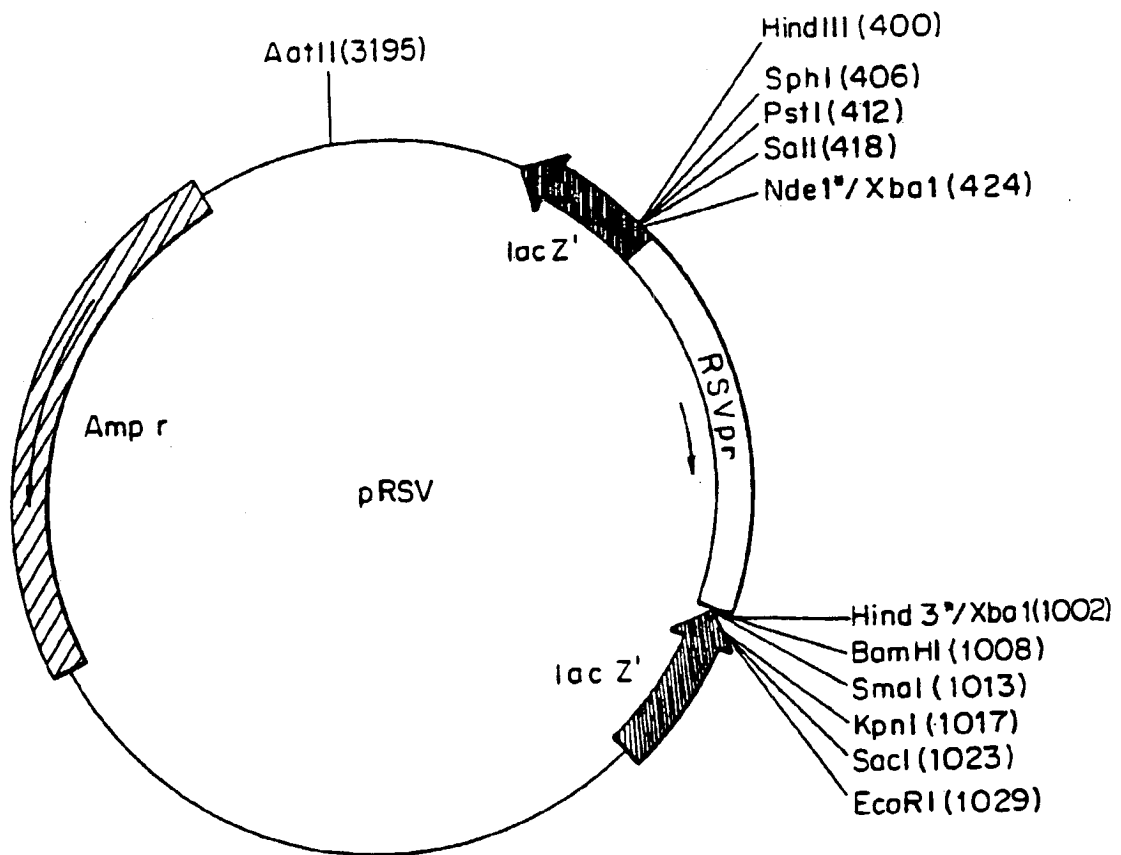
FIG. 5



LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



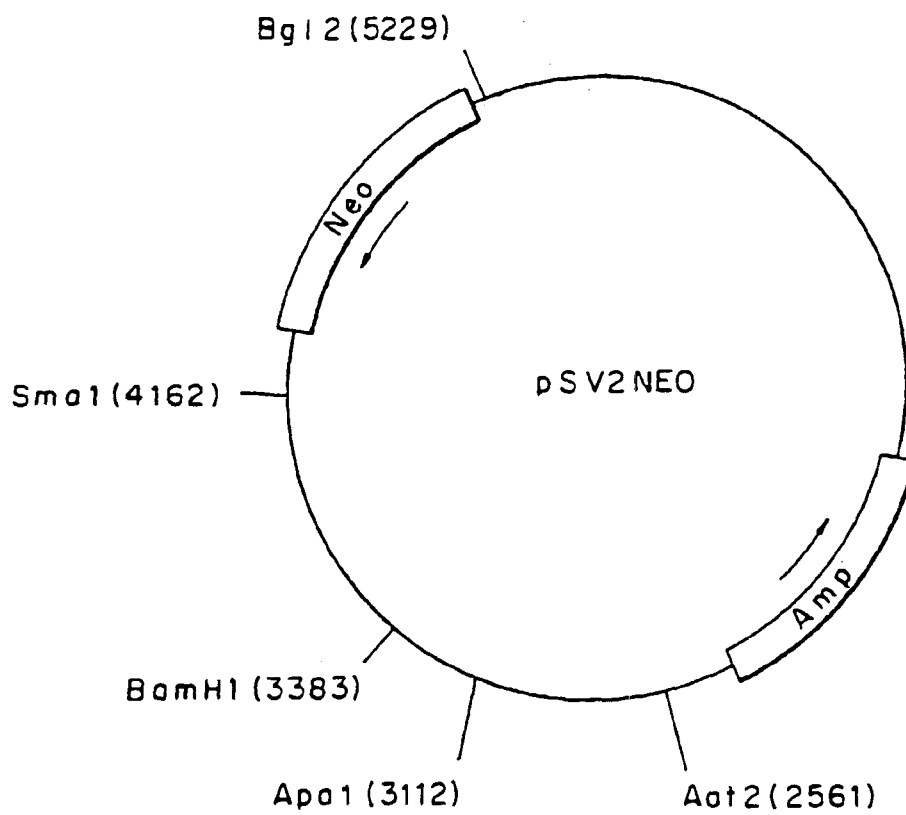
FIG. 6



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



*FIG. 7*

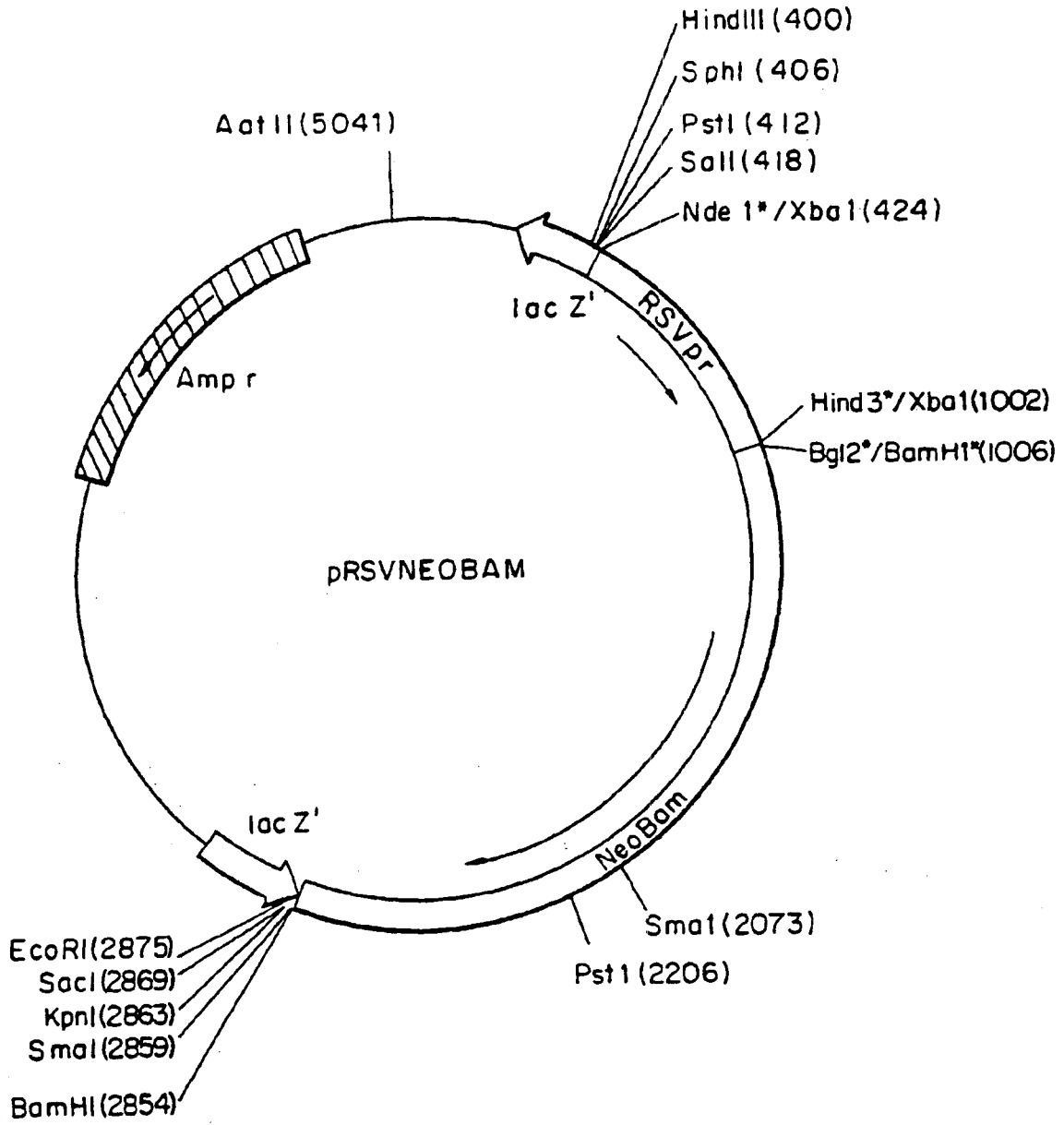


LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO





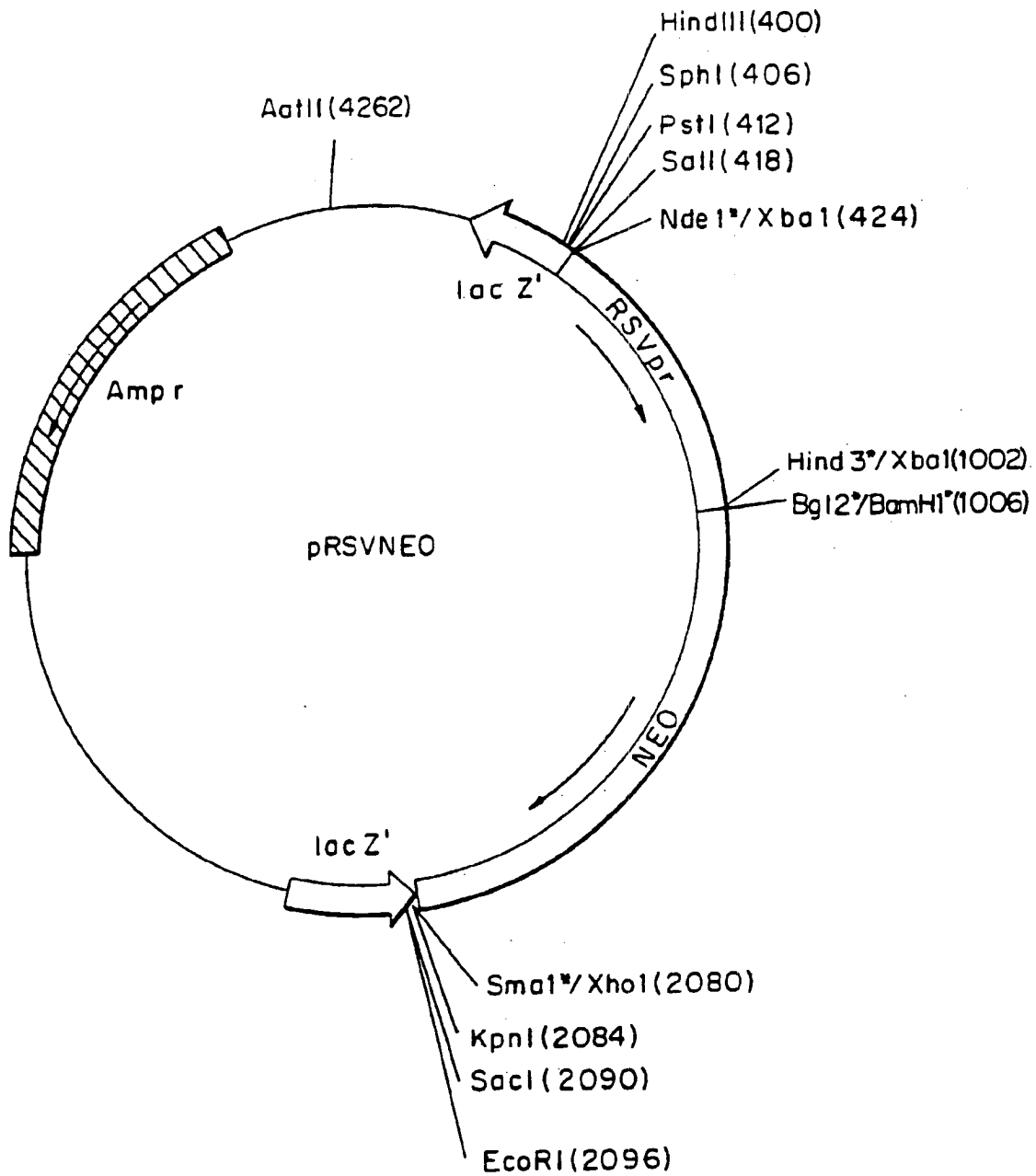
FIG. 8



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



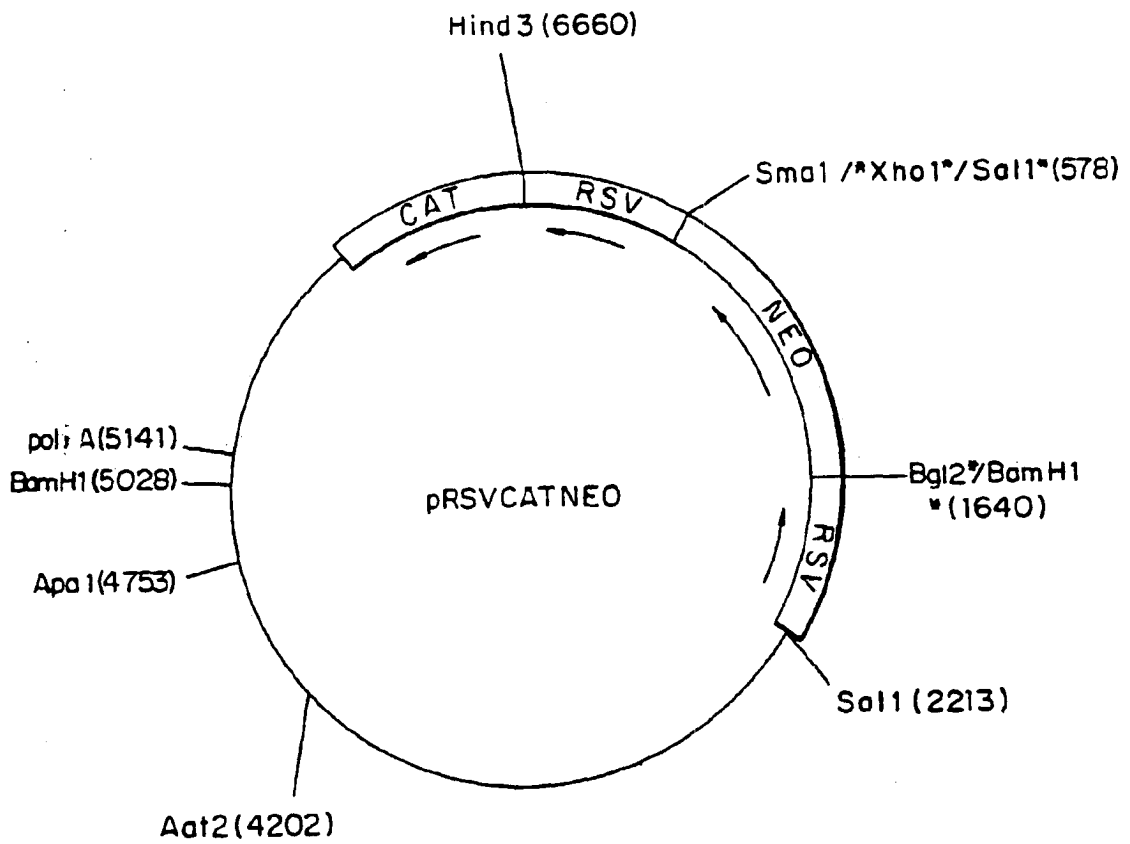
FIG. 9



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



FIG. 10



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



*FIG. II*

TSH BETA DE RATA

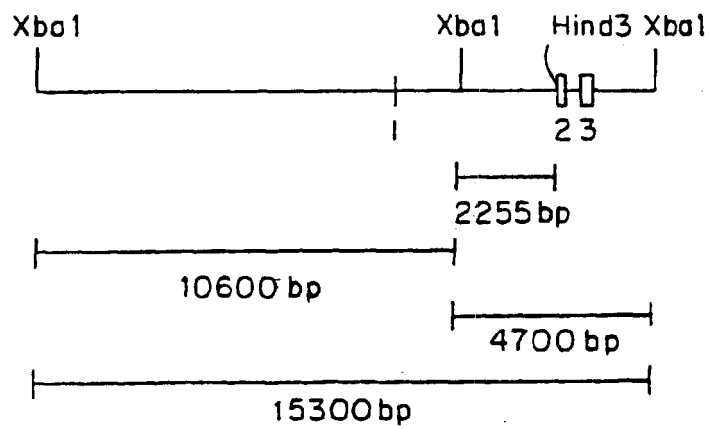
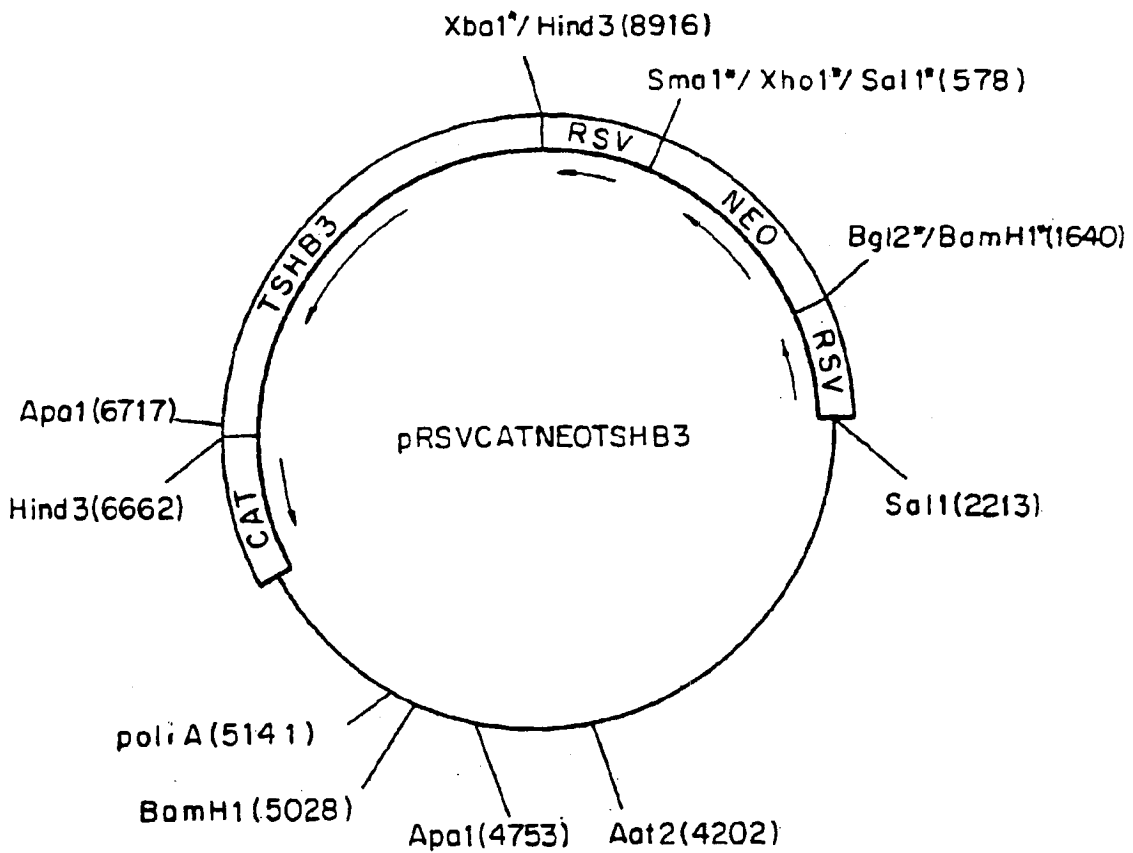


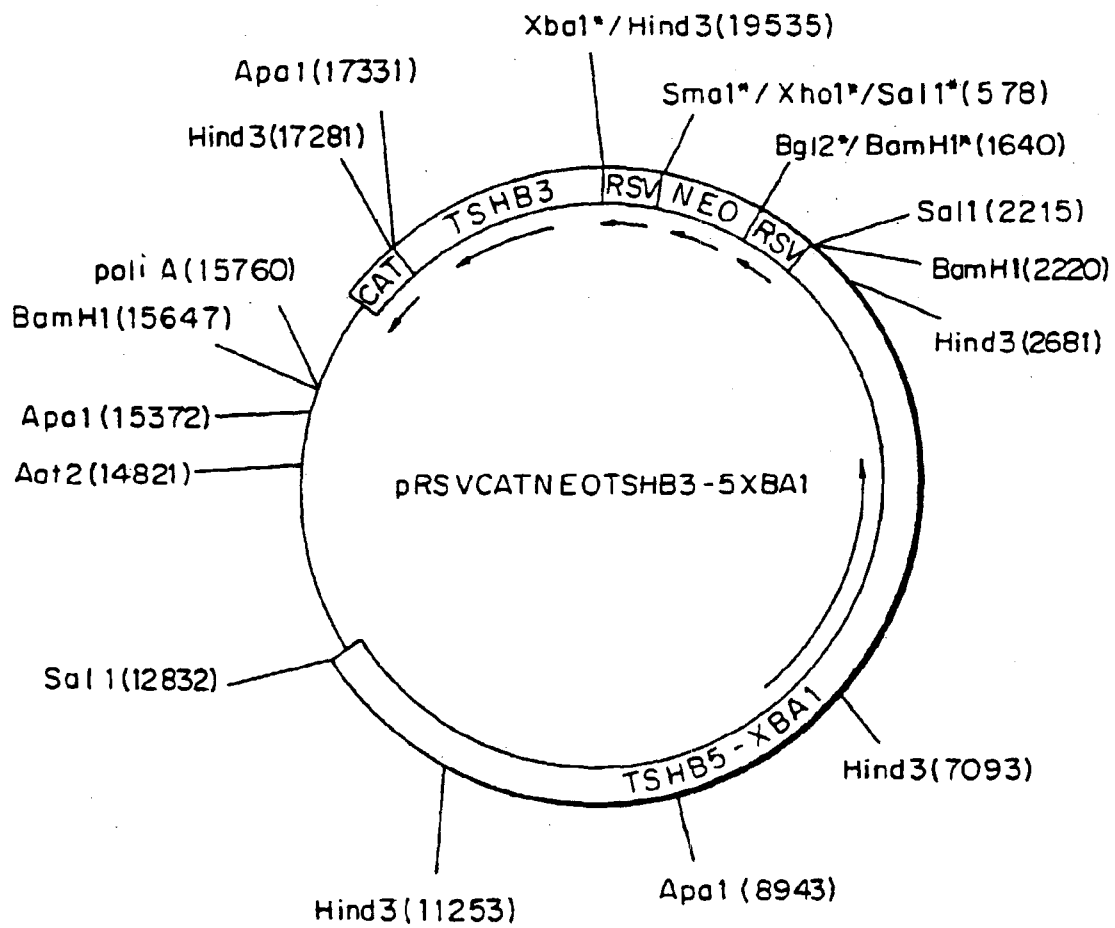
FIG. 12



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



FIG. 13



\* LA SEDE DEJA DE EXISTIR  
LA FLECHA INDICA LA DIRECCION DE SENTIDO



FIG. 14

5' POSICION DE CEBADORES PARA AMPLIFICACION PCR DE TSH BETA

g gcacgcctct gaatgtgg aaaggacacttat gagctcigtggfcittcctctgatt  
ag CATGAATGCTGTCGTTCTCTTTCCGCTGCTTTTCGCTCTTGCTTGTGGCAAGTGT

5' TSHB5 3'  
AGTATATGATGTACGTGGACAGG  
CATCGTTTTGTATCCCACTGAGTATATGATGTACGTGGACAGGAGAGAGTGCCTAC  
\*\*\*\*\*

TGCCTGACCATCAACACCACC ATCTGCGCTGGGTATTGTATGACACGG gtoftggf  
\*\*\*\*\*

cactgcgtttcttttagctgta aattgtacaggtctaaagttgtctgttaaatatttag  
aaoggaagtgggataaatc atagctcctctttgggaagccaagcacactgctttcaga  
attataattatgtcattctacacogaaaagta cagatacatfgtaacagttacccta  
aagtgtttgttctgctcaatggtagatgogaogaagtgctctttttgtctctgaggg  
gftaogtftagatgtgtgggta acogagctcaggagtcctftaagatcatcaggaaca  
aagggotat tagtcattctattacactaagttgcatgcagtttatcatgttaogtctc  
ttttcttcacacag GATATCAATG GCAAACCTGTTCTTCCCAAGTACGCACTCTCTCAG  
\*\*\*\*\*

GATG TCTGTACATA CAGAGACTTCACCTACAGAACGGTGAAATACCGGGATGCCACA  
\*\*\*\*\*

CCATGTTGCTCCTTATTCTCCTACCCCGTTGCCCTGAGCTGCAAGTGTGGCAAGTGT  
\*\*\*\*\*  
G GACTCGACGTTACACCGTTAC

3' TSHB3 5'

ACACTGACTACAGCGACTGTACACACGAGGCTGTCAAAACCAACTACTGCACCAAGCCA  
CAGACATTCTATCTGGGGG GATTTCTGTTAACTGTAATGGCAATGCAATCTGGTTAA  
ATGTGTTTACCTGGAATAGAACTAATAAAATATCATTGAT atgtctfgcctgccattt  
aatccataggcacatcccccoggcotfagagagcttacacaactttagaagcagggcg

3'

LOS EXONES 2 Y 3 ESTAN EN LETRAS MAYUSCULAS  
EL FRAGMENTO AMPLIFICADO DE 247 PB ESTA SUBRAYADO POR \*

*FIG. 15*

DETECCION DE ARN DE TSH BETA  
POR AMPLIFICACION PCR DE ARN TOTAL

