

Даний винахід відноситься до 5'-розташованої ділянки ДНК, яка включає промотор гена, що кодує білок морфогенезу кісток (тут і надалі позначається як BMP-7). Крім того, даний винахід відноситься до способу аналізу низькомолекулярної сполуки, яка позитивно або негативно регулює експресію гена BMP-7 людини, з використанням масиву клітин тварини або дріжджів, у які вносять рекомбінантний експресуючий вектор, який включає 5'-розташовану ділянку ДНК, у складі якої є промотор BMP-7 людини, з'єднаний з відповідним геном-репортером з використанням активності гена-репортера як індикаторної ознаки.

Дотепер було встановлено, що активність, пов'язана з морфогенезом кісткової тканини, властива фактору морфогенезу кісток - BMP, що відноситься до суперсімейства TGF- $\beta$  (трансформуючі фактори росту) (Science, 1965, 150, 893-897; Science, 1988, 242, 1528-1534). Відомими типами BMP є білки від BMP-1 до BMP-14. Серед них для факторів від BMP-2 до BMP-14 була підтверджена наявність активності по контролю морфогенезу (формування) кісток. Білки BMP від BMP-2 до BMP-14 вважаються ефективними з точки зору лікування і профілактики різних патологій кісток та захворювань кісток, однак в природі вони існують у надзвичайно малих кількостях. Отже, доступність великої кількості білків від BMP-2 до BMP-14, необхідних для зазначеного лікування, вимагає отримання рекомбінантного білка. Вироблення рекомбінантного білка звичайно є вельми високовитратним процесом у порівнянні з отриманням низькомолекулярних сполук. До того ж, існує цілий ряд обмежень для лікарського засобу з точки зору його фізичних властивостей та способів його введення, пов'язаних з характеристиками білка. З урахуванням цих зауважень низькомолекулярна органічна сполука, яка реально має активність, рівну такій активності білка BMP, може бути дуже перспективним лікарським засобом. Сполука, яка одержується при аналізі із застосуванням способу, що заявляється даним винаходом, має активність по індукції експресії BMP-7 людини, що є фактором остеогенезу, а також характеризується ефективністю, такою ж як у BMP-7 людини, що вказує на його ефективну застосовність. З іншого боку, якщо BMP-7 людини пов'язаний з гіперплазією кісткової і хрящової тканин, то пригнічення його експресії може запобігати остеогіперплазії. Відповідно до даного винаходу можна ідентифікувати пригнічення експресії BMP-7, і даний винахід представляє спосіб аналізу речовини з точки зору пригнічення гіперплазії. Крім того, відомо, що BMP-7 людини має активність по посиленню диференціювання ниркових клітин (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1996, 93, 9021-9026). Таким чином, представлено даним винаходом експериментальну систему можна включити до способу аналізу агента, призначеного для лікування захворювання нирок.

З точки зору такого аналізу єдиним раніше опублікованим прикладом є використання промотору гена BMP-2 (міжнародна патентна заявка WO 97/15308), причому прикладів застосування промотору гена BMP-7 не було. Крім того, оскільки матеріали, які представляються даним винаходом для способу, що заявляється, походять від організму людини, то можна чекати, що виявлені сполуки проявлять ефект при їх практичному застосуванні.

Даний винахід представляє 5'-розташовану ДНК, яка включає промотор гена BMP-7 людини. З використанням промотору, розташованого у 5'-частині гена BMP-7 людини, з'єданого з відповідним геном-репортером, і клітини тварини, до якої внесено рекомбінантний експресуючий вектор, низькомолекулярні сполуки, які позитивно або негативно регулюють експресію гена BMP-7 людини, можуть бути проаналізовані по активності репортера. Низькомолекулярні сполуки та їх похідні мають морфогенетичну активність та інгібіторну активність по відношенню до кісткової і хрящової тканин за типами активності BMP-7 людини, і вони є ефективними як профілактичні або терапевтичні засоби проти захворювань хрящової і кісткової тканин, засоби проти розвитку кісткових метастазів або терапевтичні та профілактичні засоби проти надмірного остеогенезу. До того ж, ці низькомолекулярні сполуки та їх похідні можна застосовувати як профілактичні або терапевтичні агенти по відношенню до хвороб нирок.

На Фігурі 1 показана екзон-інтронна структура 5'-розташованої ділянки гена BMP-7 людини довжиною 10,8 тисяч пар нуклеотидів та його рестрикційна карта. Зафарбована ділянка відповідає екзону і незафарбована після нього ділянка - інтрону.

На Фігурі 2 зображений рекомбінантний експресуючий вектор (плазмід рMSS115), який включає 5'-сегмент гена BMP-7 людини. Промоторний сегмент довжиною 4400 пар нуклеотидів (нуклеотиди 3813-8222, показані у SEQ ID NO:1 списку послідовностей, наведені від другого XbaI-сайта до третього XbaI-сайта 5'-кінцевої структури на Фіг.1) був вбудований по рестрикційному NheI-сайту вихідної плазмід рGL3.

На Фігурі 3 показані результати вимірювань активності промотору гена BMP-7 людини (при експресії непостійного типу).

Даний винахід відноситься до ДНК, нуклеотидна послідовність якої показана у вигляді переліку нуклеотидів від 1 до 10877 у SEQ ID NO:1 списку послідовностей, яка кодує промоторну ділянку гена білка-7 морфогенезу кісток людини або його фрагмент. У послідовності SEQ ID NO:1 списку послідовностей показана 5'-розташована ділянка гена BMP-7 людини.

Даний винахід відноситься до способу одержання ДНК, показаної у SEQ ID NO:1 списку послідовностей, шляхом здійснення таких стадій:

- (1) розщеплення геномної ДНК клітин плаценти людини рестриктазою HindIII;
- (2) виділення із застосуванням електрофорезу у агарозному гелі;
- (3) клонування виділеного, розщепленого рестриктазою HindIII фрагмента ДНК у фаговий вектор  $\lambda$ DASH-I 1, попередньо розщеплений тією ж рестриктазою;
- (4) упаковка згаданого вектора у зрілу фагову частинку;
- (5) одержання геномної клонотеки шляхом інфікування клітин *Escherichia coli* одержаним фагом;
- (6) скринінг за допомогою ПЛР; і
- (7) субклонування у плазмідний вектор.

Тип плазмідного вектора, який використовується тут, ні чим не обмежений і може бути вибраний з тих, що доступні на комерційній основі. Найкращим прикладом такого вектора може бути плазмід рUC18.

Даний винахід відноситься до рекомбінантного експресуючого вектора, який характеризується вбудованою до гена-репортера повною або частковою послідовністю ДНК по SEQ ID NO:1 списку послідовностей. Зокрема, рекомбінантний експресуючий вектор конструюють таким чином, щоб розмістити 5'-

ділянку гена BMP-7 людини, подану у SEQ ID NO:1 списку послідовностей, перед геном-репортером. Ген-репортер, такий як ген люциферази або ген  $\beta$ -галактозидази, буде свідчити про експресію вихідного продукту даного гена. Тип вектора, який використовується для одержання рекомбінантного експресуючого вектора, нічим спеціально не обмежується, і може бути використаний комерційно доступний вектор. Як найкращий приклад даним винаходом використовується вектор на основі плазмиди pGL3. На основі pGL3 був сформований вектор pMSS115 (довжиною 9200 пар нуклеотидів), який є рекомбінантним експресуючим вектором, що включає промотор гена BMP-7 людини та люциферазний ген-репортер. У даному винаході він визначається як рекомбінантний експресуючий вектор. Необхідним є внесення цього вектора до клітини ссавця, переважно до клітин остеобластного типу людини, таких як клітини SaOS-2, з використанням ліпосом. Клітини тварини, трансфіковані рекомбінантним експресуючим вектором, відбирають з використанням маркерного гена резистентності.

Даний винахід відноситься до способу аналізу пов'язаної з кістковою тканиною речовини, який відрізняється використанням рекомбінантного експресуючого вектора, що відрізняється поєднанням повної або часткової ДНК, показаної у SEQ ID NO:1 списку послідовностей, з геном-репортером. Він відноситься до способу аналізу пов'язаної з кістковою тканиною речовини, причому такою пов'язаною з кістковою тканиною речовиною є речовина, що індукуює остеогенез, або такою пов'язаною з кістковою тканиною речовиною є речовина, яка приглушує остеогенез. Низькомолекулярна сполука, яка індукуює або приглушує експресію BMP-7 людини, може бути одержана шляхом виділення промотору, який контролює експресію гена, з'єднуючи його з відповідним репортерським геном і вносячи одержану генну структуру у відповідну клітину ссавця з метою формування аналізаторної системи. Речовина, яка регулює експресію гена BMP-7 людини у такій аналізаторній системі, впливає на даний промотор так, що це стає причиною підвищення або зниження рівня експресії гена-репортера. Таким чином, просте та нескладне визначення рівня активності репортера уможливорює тестування аналізованої речовини.

Клітина тварини, яка трансфікована згаданим вектором, може бути використана у способі тестування бібліотеки хімічних сполук шляхом високопродуктивного скринінгу (Nature, 1996, 384, suppl., 14-16) та аналізу активного компонента речовини природного походження. Та речовина, яка спричиняє зниження або посилення активності, виявляється під час дії її на клітину протягом відповідного періоду часу з подальшим визначенням рівня активності репортера. Одержана таким чином речовина може регулювати експресію шляхом прямого впливу на транскрипційний фактор або непрямо на промотор гена BMP-7 людини через вплив на елементи сигнальних шляхів. Отже, ці сполуки будуть ефективними як терапевтичні засоби проти захворювань кісткової і хрящової тканин, метастазах кісткових пухлин або гіперплазії кісток.

Крім того, ці сполуки можуть бути застосовані як терапевтичні засоби по відношенню до хвороб нирок.

Речовина, одержана відповідно до даного винаходу, має морфогенетичну активність по відношенню до кісткової і хрящової тканини та ефективна як агент для терапії і профілактики у області ортопедичної хірургії (переломи, остеоартрит, такий як остеоартроз суглобів і остеоартроз тазостегнового суглоба, епіфізарний остеомієліт, пошкодження хрящів, такі як пошкодження меніска, регенерація кісткової і хрящової тканини після пошкоджень і видалення пухлини, кісткова пластика, така як створення міжхребцевий анкілозів і розширення хребетного каналу, а також спадкові патології кісток і хряща, такі як дизостеогенез і ахондроплазія) або стоматології (кісткова пластика, така як закладення піднебінної щілини, реконструкція щелепних кісток та нарощування залишкових альвеолярних виступів), а також при остеопорозі. До того ж, таку речовину за даним винаходом можна використовувати при пересаджуванні кісткової тканини у пластичній хірургії. Аналогічні шляхи застосування будуть ефективні і у разі ветеринарної хірургії. З іншого боку, даний винахід може представляти речовину, яка приглушує розвиток кісткової або хрящової тканини. У цьому випадку ця речовина застосовується як профілактичний або терапевтичний засіб при гіперплазії кістки і хряща.

Крім того, даний винахід може представляти речовину, що характеризується здатністю посилювати диференціацію ниркових клітин, завдяки чому вона може бути застосована як засіб лікування та профілактики захворювань нирок.

#### ПРИКЛАДИ

Даний винахід буде більш детально пояснено за допомогою прикладів, що наводяться далі. При цьому нижченаведені приклади є ілюстративними, а не обмежувальними.

##### Приклад 1

Виділення 5'-ділянки гена BMP-7 людини

Геномну ДНК клітин плаценти людини (Clontech) обробляли рестриктазами різного типу (BamHI, BglII, EcoRI, HindIII, PstI, Sad, Sail, Smal, SphI і XbaI), розділяли методом електрофорезу у агарозному гелі, переносили на нейлонову мембрану та піддавали Саузерн-гібридизації з використанням кДНК гена BMP-7 (EMBO J., 1990, 9, 2085-2093) як зонду. У результаті було встановлено, що розщеплення рестриктазою HindIII посеред інших рестриктаз, які використовувалися, дозволило одержати ДНК-фрагмент довжиною приблизно 11 тисяч пар нуклеотидів, який включає найбільшу ділянку гена BMP-7 людини. Потім геномну ДНК клітин плаценти людини обробляли рестриктазою HindIII та розділяли методом електрофорезу у агарозному гелі з подальшим виділенням з гелю фрагмента ДНК довжиною приблизно 11 тисяч пар нуклеотидів. Одержаний фрагмент ДНК був клонован у  $\lambda$ -фаговий вектор  $\lambda$ DASH-II (Stratagene Ltd.), попередньо оброблений рестриктазою HindIII. Одержаний вектор *in vitro* упаковували з використанням Gigapack III XL Extract (Stratagene Ltd.), інфікували їм клітини *Escherichia coli* штаму XL-1 Blue MRA (Stratagene Ltd.) з формуванням у результаті геномної клонотеки. Цю клонотеку розділяли на пули. Кожний з пулів ампліфікували з допомогою ПЛР (Nucl. Acids Res., 1993, 21, 2627-2631), а саме застосовували метод ПЛР з затравками (SEQ ID NO:2 та SEQ ID NO:3 списку послідовностей), відповідними до сегменту, що транскрибується з метою виділення пулу, з якого може бути виділена шукана 5'-послідовність гена BMP-7 людини. Крім того, 5'-розташований фрагмент довжиною 10,8 тисяч пар нуклеотидів субклонували до складу вектора pUC18 (наданий Amersham Pharmacia Biotech). Цей вектор позначили як *E.coli* pKOT314. Вектор *E.coli* pKOT314 внесли до колекції Національного інституту біології та технології людини Міністерства міжнародної торгівлі та промисловості Японії (1-3 Higashi

1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki-ken 305-8566) 30 березня 1998 року з отриманням депозитарного номера FERM P-16737 з подальшим внесенням 17 лютого 1999 року до міжнародного депозитарію під юрисдикцією Будапештської угоди (депозитарний №PERM BP-6651).

#### Приклад 2

Визначення нуклеотидної послідовності 5'-ділянки гена BMP-7 людини. Нуклеотидна послідовність виділеної 5'-розташованої ділянки гена BMP-7 людини була встановлена за допомогою ДНК-секвенатора ALF (Amersham Pharmacia Biotech), дія якого заснована на методі Сейнджера (Sanger et al., 1977, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463-5467). Визначена під час цього аналізу нуклеотидна послідовність показана у SEQ ID NO:1 списку послідовностей. Нуклеотиди 5557-10780 у послідовності SEQ ID NO:1 раніше вже були опубліковані (EMBO 1, 1990, 9, 2085-2093). Однак, існує значне число - відмінностей від послідовності, яка наводиться даним винаходом.

#### Приклад 3

Конструювання рекомбінантного експресуючого вектора, який включає промотор гена BMP-7 людини та люциферазний ген-репортер

Як показано на Фіг.1, промотор гена BMP-7 людини розташований вище 1-го екзону. З урахуванням цього фрагмент довжиною 4400 пар нуклеотидів, який включає промотор від другого XbaI-сайта до третього XbaI-сайта, рахуючи від 5'-кінця відповідно до показаного на Фіг. 1, вносили по рестрикційному NheI-сайту вихідного вектора pGL (Promega Ltd.) так, щоб цей фрагмент розташовувався вище гена-репортера люциферази, з метою конструювання рекомбінантного експресуючого вектора pMSS115 (9200 пар нуклеотидів). Він показаний на Фіг.2.

#### Приклад 4

Вимірювання активності промотору гена BMP-7 людини (внесення рекомбінантного експресуючого вектора до клітини людини та експресія за непостійним типом) з метою експресії за непостійним типом рекомбінантного експресуючого вектора з промотором BMP-7 людини згаданий рекомбінантний експресуючий вектор (pMSS115) у рівних кількостях змішували з вектором pRL-SV40 (Promega Ltd.), який включає ген люциферази організму sea pansy, узятий як внутрішній контроль для визначення ефективності внесення гена. Потім до суміші, призначеної для додавання до остеосаркомних клітин людини ліній HOS, MG63 та SaOS-2, додавали катіонні ліпосоми - ліпофектамін (Lipotech Oriental Co.). Активність люциферази вогненної мурашки *Solenopsis invicta* та люциферази sea pansy вимірювали з використанням набору реактивів Pikka Gene Dual kit (Toyo Ink Co.). Одержані результати показані на Фіг.3. Рівень промоторної активності визначали відношенням активності люциферази вогненної мурашки та активності люциферази sea pansy. Виходячи з цих результатів зрозуміло, що ДНК по SEQ ID NO:1 списку послідовностей має промоторну активність.

#### Приклад 5

Внесення рекомбінантного експресуючого вектора до клітини людини та стабільна експресія

З метою стабільної експресії рекомбінантного експресуючого вектора, який включає BMP-7 людини, згаданий вектор змішували з вектором, який включає ген резистентності до пуроміцину, у співвідношенні 10:1, а також змішували з катіонними ліпосомами - ліпофектаміном (Lifetech Oriental Co.), які потім додавали до остеосаркомних клітин людини HOS з метою їх трансфікування. Клітини, до яких попав аналізований ген, відбирали з культурального середовища, яке містить пуроміцин (Sigma Ltd.).

#### Приклад 6

Скринінг активної низькомолекулярної сполуки

Відібрані клітини вносили до лунки 96-луночного планшета, обробляли протягом 1-3 днів речовинами, які представляють різні бібліотеки хімічних сполук, обробляли цитолітичним агентом (Promega Ltd.) та вимірювали каталітичну активність з використанням набору реактивів для визначення люциферазної активності (Promega Ltd.). За допомогою даного підходу був виділений ряд речовин, які індукують або приглушають експресію BMP-7 людини.

Опис списку послідовностей

<210>1

<223> Нуклеотидна послідовність ділянок, розташованих у 5'-частині гена BMP-7 людини, які включають 1-й екзон.

<210>2

<223> Пряма ПЛР-затравка для клонування 5'-послідовності гена BMP-7 людини, яка відповідає до ділянки 1-го екзону.

<210>3

<223> Зворотна ПЛР-затравка для клонування 5'-послідовності гена BMP-7 людини, яка відповідає до ділянки 1-го екзону.

СПИСОК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> Hoechst Marion Roussel Ltd.

<120> Промотор гена BMP-7 людини і спосіб аналізу з його використанням речовини, пов'язаної з кістковою тканиною

<130> JH98K004 PCT SEQUENCES IN ENGLISH

<140>

<141>

<150> 10-120174

<151> 30 квітня 1998р.

<160>3

<170> Patentin, vers. 2.1

<210> 1

<211> 10877

<212> ДНК

<213> людина

<220>

<221> властивість

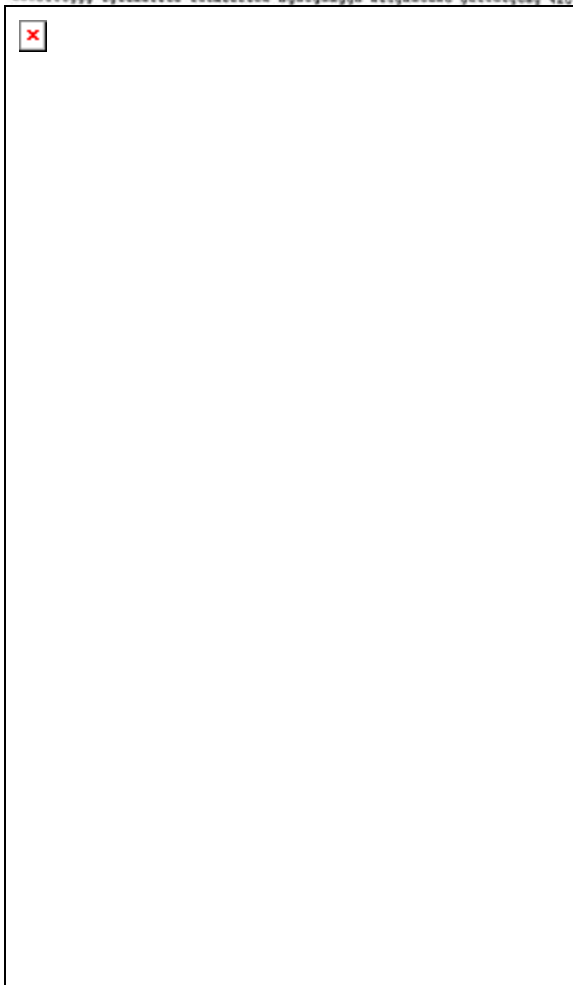
<222> (1)... (10877)

<223> Нуклеотидна послідовність ділянок, розташованих у 5'-частині гена BMP-7 людини, які включають 1-

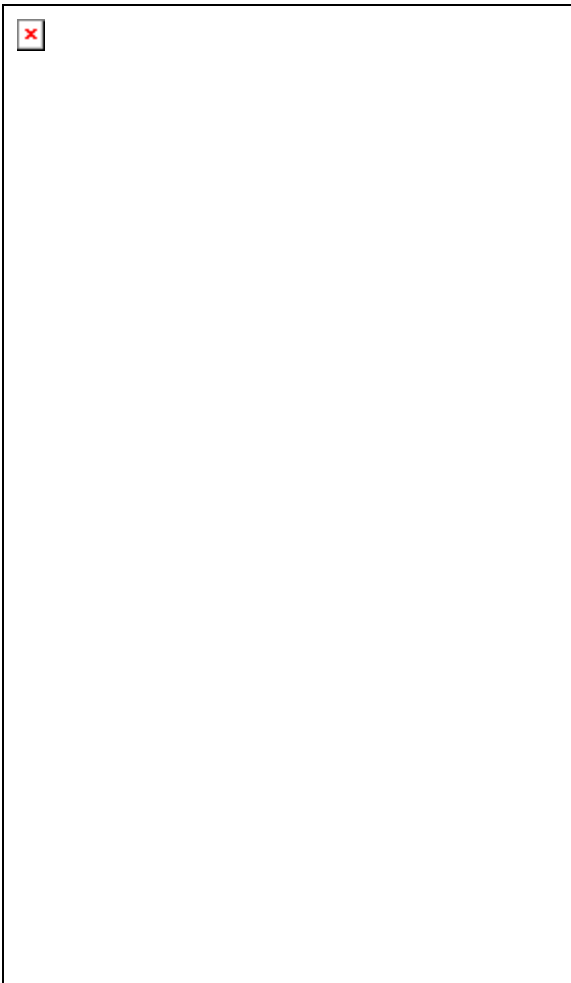
й екзон

<400> 1

```
aaactctggac atcagatagc tctgtcattc atgctaactc ttattagtgt tgcatacata 60
tctaagatga gttcaaatct gttaatcttc ccatacagtc tttccacatg agttgggaact 120
aacctgttat attcagagta atggtttacc aatggggagg gaataaagat aaaactcga 180
gtaaaaaana gaatacaatt tttcaaatga ggaagaacac agtgaaggag aggaagaag 240
gaagaaaaaa acagagatgg agagaagcac gaagtgggtt ggtgaagggt tcccaggact 300
ctgggaagga ggaagccagt ctaatccctg attcaactga agactttggg cccagcagtt 360
tctctttggg tgtcaatttc tctatcttca agatgaagga attgaacac gcttctgag 420
```



ccagaagaca ggcgctatca gtcccccat ttacagatg ggggaactga ggtgtagaga 5040  
ggttaagtcc ctggcccatg gtgcacagct ggaagagaca gagctggagt gtgaatcgg 3100  
ctgggcaggc tocagtggcc aggcctacct ctcacacaca gacttgccct cggcaatctc 3160  
aaagcctttt ctgggtgtgg gctcagctcc caaactggca toggatgcac toccagccag 5220  
atatttcttg ctggccggtt ttcaattcatt cactcattca ttcaattcatt cactcattcg 5280  
gcattcactg agggccttgg gcagctcttg gtagctctct cggggaggaa acagggaaaa 5340  
gaaagacccc cccaccaaag atggatcaca gaaagatga ggttaaatgg gggtttgttg 5400  
gacttcagag gaaacattat ctcttgaggt ctgggatatg aagagcatgt tgtctcttcc 5460  
tctgcacga gaaagatgg cgtctcagag gaagggttgc tgggttgagg gatctgggag 5520  
atgccttagc ttggcgcccg cacagtcagc ctcagtcaca cgggtctctt taggtttttg 5580  
ctgtgcttat tactattcat tcaacaggta ctaattgagc acctgtctgt tgcaggcttc 5640  
agaaataggc caggtgagat gcacaaagaa ggttaacctg gaactcttgc ttgacactg 5700  
acggatcagt tgtttcatat gtaaatgta gaaacaaagc ctgctgcccc tgcctccagc 5760  
ctcacctgtt tgtgaagat cctccaaaag atttgagagt agataaaaag cagagactac 5820  
tactgaagaa cagggtgtgt ttggtctctt attatttcag actttggaag aaaaatgact 5880  
ctttttcttc tactggcact gtaggttgca tagctgtccc tagcaagcca ggcctggagg 5940  
gcgtgtcag ggtgggggag cgaaccttgg ttctgttccc tgcctgcag gctcaagcac 6000  
ttgctgttcc tcaacctggg atgcctttcc ctggaaaagc ctgtctcttt ctgtcttttc 6060  
aggactcagg tcagtggcat ctctccaaa aactcccttt cccacccctc atcacctcac 6120  
ctgtttatc tgcgcccccg ccccactgc ctgtcactta ttgcaggctg aagtgaacca 6180  
ggctctccag ttgtacactc tcagatggac cctggacgac tgtgpnactc ctgcaatttc 6240  
cccagttccc ctggggtagg attcctgtct gccaggatgc ccaactttcc ttctccctcc 6300  
tgcattctct cctctgctcg gtttctgaat tgttccaga gagagtgaata gacaagatct 6360  
gcctctctct cagtcctga atcttatcta aggcctctgc ttgtcttccc tggcctggag 6420  
gggtctctct gatggagtct gccatgtggg ttgctctatg gccatgtctt cctgccccag 6480  
atggtgtctg gccctgggac tggccacata atatctgggc cagggtgcaaa attagtacgg 6540  
ggcaggggggt aatttgttca taggtgattc agaaccacat atggtgacct cagagtagg 6600  
aaaccaagtgt ggggccccca agagctgggg ggcctgtgac gactgtccag gttgaagcc 6660  
ccacagctcg cctccgata tctgtgtctc catgtctgtc tgttgaagga aggagtgaat 6720  
ggatgaagag cagggtgtgg ggtgtgtttg agggccttgc tgggtgtgtg gttagggccc 6780  
ctccctggca tggggtcaa gacctgttcc atccacagc ctggggcttg tgtgtaaatg 6840  
gccaggacct gcaggctggc atttttctgc tcttgcctg cctctggcct cccctttctc 6900  
cacccatgtg cccctcagg ttgcattcta gtccaaaagt ccccaaggga gccccagagg 6960  
gccacttgcc caaactctt ctgctccaga aaactgtaga agaccataat tctcttcccc 7020  
agctctctcg ctcagggaag gacagcccca aagtgaggct tagccagagc ccttccaga 7080  
caagcgcccc gcttcccca acctcagccc ttccagttc atcccaagg cctctctggg 7140  
ccccactctc tcacccagcc ccaggagggg aaggagccag gatgaacttt taocccgctg 7200  
ccctcactgc cactctgggt gcagtaattc ccttgagatc ccacacgggc agagggaccg 7260



```
ccgaagtcac ctccatgtta cgcgcgcggc cgcctctctg ggcctggagg caaggccoyt 9600
tcgaagcgcg ggcctcggtc atgtgagctg tcccgggcgg ggcgggctcg cgtaaacctg 9660
atgtaaaagg cccctccggg cgaaggctgc ttgcgcgcct tccctgggccc ctctcagccc 9720
tgccctggccc tggcatcgcg gcgctcgac ccccttacc tccctgtcaa gccctaactg 9780
tccctcgtcg gtcgcgcgcg cttagcgta cgcgcgctcc gagcgcttgg ggcctctctc 9840
cgggcgcgcg gatccccc tctctcttgg ctggagctgg ggaagaaaag gtcgcattgc 9900
taattttctt tgttttcttt ctttgtttat tttttctc ttttctttt ttttctttt 9960
ttttctttt tttttttt ttttttgaga cggagttcac tcttctgccc cagtctggag 10020
tgcaatggcg cgaatctctg tcacgcgaac ctctgcctcc cgggttcaag cgaattctgt 10080
gcctcagcct cccgagtagc tgggattaca gcctgcgcgc ccatgcctgg ctaattttgt 10140
atttttagta gagaacgggt ttctccatgt taggcaggct ggtctcgaac tcccgatctc 10200
aggtgatcct cccgcctcag cctcccaag tgggtctggg attacaggcg tgagccactg 10260
tgcctcgccg ctagtcttct attttaagta tttagtggtg ggtccggggc cggcagaatc 10320
tattttcagc atttaccagc tctgggcgc aaaccacagg ttttgccgat tgggttgcgc 10380
gggatctcag actgaacgcg gggggcggtt gggggctcgg gttccgact ggaacgcgca 10440
cgaacccggc gacgcgagcc tggggctgca cgaagggcg gggagctccc cctccatctg 10500
tgcggcgcac ttctccagac ttgtcgaac taacccccc cgggcgcagc gcgctgcggg 10560
actgatgac aaatatttgg ttcccgagat aaacaccccc gatagcgctg ttctctgac 10620
cgctttcatt ctacttctgt aacttgcgc gaaacccgca accaagtcac gacagcaaac 10680
tcaccccaag ggcgctgtgt caacatggaa ataatgac tgaaagccca cgtgggac 10740
ctggggcgct gactgggggc ggggggag cgcagatccg ccttcagct tcccccctcc 10800
tgataaggct cctggagttc cggggagggc attgtctgta cttataata actaaatcca 10860
actagtgaac caagctt 10877
```

<210> 2

<211> 30

<212> ДНК

<213> людина

<220>

<221> властивість

<222> (1)...(30)

<223> Прямая ПЛР-затравка для клонирования 5'-последовательности гена BMP-7 человека, которая соответствует фрагменту 1-го экзона

<400> 2

gggcgcagcg gggcccgctc gcagcaagtg

30

<210> 3

<211> 30

<212> ДНК

<213> людина

<220>

<221> властивість

<222> комплемент (1).....(30)

<223> Зворотна ПЛР-затравка для клонування 5'-послідовності гена BMP-7 людини, яка відповідає ділянці

1-го екзону

<400> 3

—
---