

Title (en)

STABLE EXPRESSION VECTORS.

Title (de)

STABILE EXPRESSIONSVEKTOREN.

Title (fr)

VECTEURS D'EXPRESSION STABLES.

Publication

EP 0303668 A1 19890222 (EN)

Application

EP 88902162 A 19880303

Priority

GB 8704908 A 19870303

Abstract (en)

[origin: WO8806622A1] A vector suitable for cloning and expressing heterologous DNA in host cells of a given type (in particular gram positive, including *Bacillus* especially *B.subtilis*, *B.pumilis* or *B.amyloliquefaciens* host cells) and a process for obtaining these vectors is described. Vectors are derived from plasmids which are normally stably maintained in the given host cells by cloning a cassette of heterologous DNA comprising a selectable marker, at least one unique restriction site not found in the plasmid and optionally also a transcription terminator and promoter into a non-unique site of the plasmid, followed by selection of the resultant vectors for stable maintenance in the given host cells. This approach maximises the chance of obtaining a stable vector as the likelihood of finding a position on the plasmid where insertion of DNA does not interrupt a region essential or important for replication and stable maintenance is greatly increased. Specific *Bacillus* vectors are described (pPOD2152, pPOD2154, pPOD2158, pPOD2161, pPOD2167 and pPOD2168) which have been found to maintain cloned heterologous DNA with 100 % stability for at least 70 generations.

Abstract (fr)

Le vecteur sert au clonage et à l'expression d'ADN hétérologue dans des cellules hôtes d'un type donné (en particulier gram positif, y compris des cellules hôtes *Bacillus* et notamment *B.subtilis*, *B.pumilis* ou *B.amyloliquefaciens*). Un procédé permettant d'obtenir ce type de vecteur est également décrit. Lesdits vecteurs sont obtenus à partir de plasmides qui sont normalement conservés à l'état stable dans les cellules hôtes données par clonage d'une cassette d'ADN hétérologue comprenant un marqueur sélectionnable, au moins un site de restriction unique qui ne se trouve pas dans le plasmide et éventuellement une terminaison de transcription et un promoteur dans un site non unique du plasmide, suivi par une sélection des vecteurs résultants pour la conservation stable dans les cellules hôtes données. Cette approche augmente au maximum les chances d'obtenir un vecteur stable ainsi que la possibilité de trouver une position sur le plasmide où l'insertion d'ADN n'interrompt pas une région essentielle ou importante pour la réplication et où la conservation stable est grandement accrue. La présente invention décrit des vecteurs de *Bacillus* spécifiques (pPOD2152, pPOD2154, pPOD2158, pPOD2161, pPOD2167 et pPOD2168), dont on a découvert qu'ils conservent l'ADN hétérologue cloné avec une stabilité de 100 % pendant au moins 70 générations.

IPC 1-7

C12N 15/00; C12N 1/20; C12P 21/00

IPC 8 full level

C12N 15/09 (2006.01); **C12N 1/20** (2006.01); **C12N 15/75** (2006.01); **C12P 21/00** (2006.01); **C12R 1/07** (2006.01); **C12R 1/125** (2006.01)

CPC (source: EP)

C12N 15/75 (2013.01)

Citation (search report)

See references of WO 8806622A1

Designated contracting state (EPC)

AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

DOCDB simple family (publication)

WO 8806622 A1 19880907; AU 1365088 A 19880926; AU 615179 B2 19910926; EP 0303668 A1 19890222; FI 885060 A0 19881102; FI 885060 A 19881102; GB 8704908 D0 19870408; JP H01502795 A 19890928

DOCDB simple family (application)

GB 8800159 W 19880303; AU 1365088 A 19880303; EP 88902162 A 19880303; FI 885060 A 19881102; GB 8704908 A 19870303; JP 50204388 A 19880303