

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

更正本

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日
2009 年 11 月 26 日 (26.11.2009)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2009/140802 A8

- (51) 国际专利分类号:
C40B 40/06 (2006.01) C40B 20/02 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01) C40B 20/04 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2008/001695
- (22) 国际申请日: 2008 年 10 月 6 日 (06.10.2008)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200810097700.1 2008 年 5 月 23 日 (23.05.2008) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 陕西北美基因股份有限公司 (SHAAN XI LIFE GEN CO., LTD.) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 唐一通 (TANG, Yitong) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号,

Shaanxi 710069 (CN)。 陈超 (CHEN, Chao) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。 崔亚丽 (CUI, Yali) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。 朱娟丽 (ZHU, Juanli) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。 余龙林 (YU, Longlin) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。 高怡文 (GAO, Yiwen) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。 李铮 (LI, Zheng) [CN/CN]; 中国陕西省西安市太白北路 229 号, Shaanxi 710069 (CN)。

(74) 代理人: 西安智邦专利商标代理有限公司 (XI'AN ZHIBANG PATENT & TRADEMARK AGENT CO., LTD.); 中国陕西省西安市振兴路 133 号, Shaanxi 710068 (CN)。

[见续页]

(54) Title: TEST PROBES, COMMON OLIGONUCLEOTIDE CHIPS, NUCLEIC ACID DETECTION METHOD, AND THEIR USES

(54) 发明名称: 检测探针、通用寡核苷酸芯片及核酸检测方法及其用途

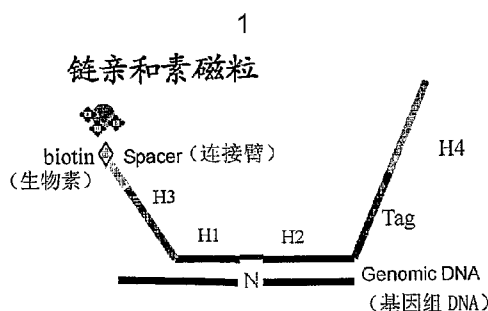


图 2C / Fig. 2C

1 BEADS COATED WITH STREPTAVIDIN

(57) Abstract: High-throughput detection for the interesting base or the mutation site in the nucleic acid sample can be achieved by the linear test probe pairs P1 and P2. The test probe pairs P1 and P2 respectively comprise either of the flanking complementary sequences which are adjacent to the interesting base or the mutation site in the nucleic acid sample. When the test probe pairs P1, P2 are annealed and hybridized to the nucleic acid sample, a gap will be generated at the interesting base or the mutation site position between the probe pairs and the sample. Divide the annealed hybrid sample into four equal reaction systems to which add dATP, dTTP, dCTP, dGTP, respectively. The test probe pairs P1 and P2 will be ligated into one single probe when adding the complementary nucleotide system under the DNA polymerase or ligase. After purified and amplified, the generated single probes are hybridized to the corresponding area in a common oligonucleotide microarray. The generated single probe will give a signal in the hybrid area, and therefore detect and analyze the hybrid signal to determine the base type or the mutation genotype at the detection position. The invention can be applied to the re-sequencing the target nucleic acid sequence, the detection and analysis for the mutation, insertion, or deletion sites of a known nucleic acid sequence, and the genotyping of the pathogenic microorganism.

[见续页]

WO 2009/140802 A8



(81) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) **指定国** (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY,

KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(48) **更正本的公布日:** 2010 年 12 月 9 日

(15) 更正内容:

见 2010 年 12 月 9 日 公布的公告

(57) 摘要:

通过设计线性检测探针 P1 和 P2, 可实现对核酸样本上待测碱基或突变位点的高通量检测。检测探针 P1, P2 分别包括与核酸样本待测碱基或突变位点两侧的序列互补的序列。将检测探针 P1, P2 与核酸样本退火杂交, 由此在检测探针与核酸样本之间在待测碱基或突变位点处, 形成一个缺口。将形成该缺口的退火杂交样本, 均分成四个反应体系, 在每个反应体系中分别加入 dATP, dTTP, dCTP, dGTP。在 DNA 聚合酶和连接酶的作用下, 与缺口处互补的添加核苷酸体系, 将会导致相应的检测探针 P1 和 P2, 连接成一条探针。将此探针进行纯化和扩增, 之后与通用寡核苷酸微阵列上的相应区域进行杂交。已进行连接的探针, 在杂交区域将会产生信号。由此, 对杂交结果进行检测分析, 可确定待测位点的碱基类型或突变位点的基因型。本发明可用于对目标核酸序列进行重测序分析, 对已知核酸序列中的突变位点、插入/缺失位点进行检测分析, 以及可用于病原微生物的分型检测领域。