

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
21 décembre 2000 (21.12.2000)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 00/77250 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C12Q 1/68,
C12N 15/10

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) [FR/FR]; 3, rue Michel-Ange, F-75794 Paris Cedex 16 (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR00/01655

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : ESCUDE, Christophe [FR/FR]; 18, rue Rambuteau, F-75003 Paris (FR). GARESTIER, Thérèse [FR/FR]; 35, rue Broca, F-75005 Paris (FR). HELENE, Claude [FR/FR]; 35, rue Broca, F-75005 Paris (FR). ROULON, Thibaut [FR/FR]; 22, rue Noas Dausmesnil, F-77370 Nangis (FR).

(22) Date de dépôt international : 14 juin 2000 (14.06.2000)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
99/07503 14 juin 1999 (14.06.1999) FR

(74) Mandataires : PEAUCELLE, Chantal etc.; Cabinet Ar-mengaud Aine, 3, avenue Bugeaud, F-75116 Paris (FR).

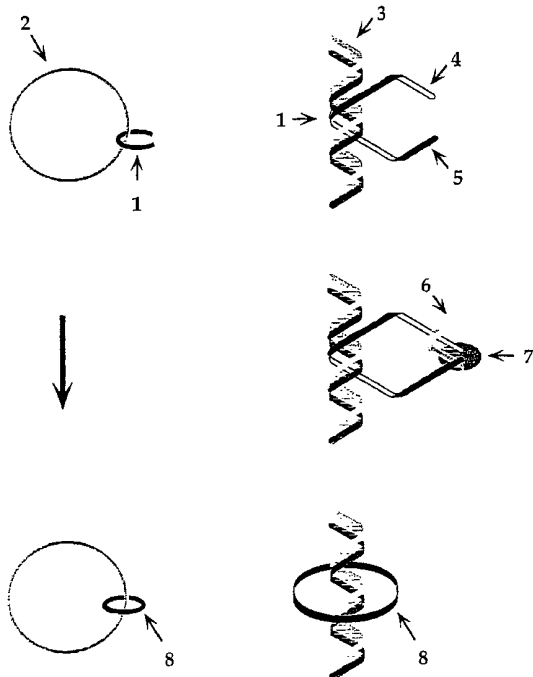
(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) :
INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (I.N.S.E.R.M.) [FR/FR];
101, rue de Tolbiac, F-75654 Paris Cedex 13 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ,

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR CIRCULARIZING OLIGONUCLEOTIDES AROUND A DOUBLE STRANDED NUCLEIC ACID, RESULTING STRUCTURES AND USES THEREOF

(54) Titre : PROCEDE DE CIRCULARISATION D'OLIGONUCLEOTIDES AUTOUR D'UN ACIDE NUCLEIQUE EN DOUBLE BRIN, LES STRUCTURES OBTENUES ET LEURS APPLICATIONS



(57) Abstract: The invention concerns a method for circularizing an oligonucleotide which consists in: incubating a double stranded nucleic acid comprising a target sequence, with a single stranded oligonucleotide comprising a central part capable of being fixed on said target sequence, bound by spacer segments to 5' and 3' terminal sequences, said sequences being: either a) complementary to the sequence of an oligonucleotide matrix; or x) partly complementary to each other, so as to be capable of being hybridized to each other forming a double strand while preserving a single stranded end, which is capable of being hybridized with the terminal sequence of another oligonucleotide, called loop-oligonucleotide, which has a hairpin structure, with one single stranded part and a folded part forming a double strand; contacting, in the first case a) the complex formed with said oligonucleotide matrix, in conditions enabling the hybridization of the 3' and 5' ends, adjacently, with the matrix, and in the case x), contacting the complex formed with said loop-oligonucleotide, in conditions enabling, through hybridization of the free ends of the single stranded oligonucleotides and of the loop-oligonucleotide, the juxtaposition of the 3' and 5' ends of said oligonucleotides; ligating the hybridized ends so as to circularize the oligonucleotide around the double stranded nucleic acid and, optionally, isolating the circularized structure. The invention also concerns the applications and the resulting structures obtained for diagnostic and therapeutic purposes.

[Suite sur la page suivante]



WO 00/77250 A3



PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT,
TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(88) **Date de publication du rapport de recherche
internationale:**

30 août 2001

(84) **États désignés (régional)** : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasiatique (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(57) **Abrégé** : Le procédé de circularisation d'un oligonucléotide selon l'invention comprend: l'incubation d'un acide nucléique double brin comprenant une séquence cible, avec un oligonucléotide simple brin comprenant une partie centrale capable de se fixer sur ladite séquence cible, reliée par des séquences espaceurs à des séquences terminales en 5' et 3', ces séquences étant: soit a) complémentaires de la séquence d'une matrice oligonucléotidique; soit x) partiellement complémentaires l'une de l'autre, de manière à pouvoir s'hybrider l'une à l'autre en formant un double brin tout en conservant une extrémité en simple brin, laquelle est capable de s'hybrider à la séquence terminale d'un autre oligonucléotide, dit oligonucléotide-boucle, qui possède une structure en épingle à cheveux, avec une partie en simple brin et une partie repliée qui forme un double brin, la mise en contact, dans le premier cas a), du complexe formé avec ladite matrice oligonucléotidique, dans des conditions permettant l'hybridation des extrémités 5' et 3', de manière adjacente, à la matrice, et dans le cas x), celle du complexe formé avec ledit oligonucléotide-boucle, dans des conditions permettant, par l'hybridation des extrémités libres de l'oligonucléotide simple brin et de l'oligonucléotide-boucle, la juxtaposition des extrémités 5' et 3' de ces oligonucléotides, la ligation des extrémités hybridées, de manière à circulariser l'oligonucléotide autour de l'acide nucléique double brin et, si on le souhaite, l'isolement de la structure circularisée. Application du procédé et des structures obtenues en diagnostic et thérapeutique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 00/01655

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12Q1/68 C12N15/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 19193 A (UNIV YALE) 29 May 1997 (1997-05-29) the whole document ---	16-20, 22-24, 31,32
X	WO 97 09069 A (LANDEGREN ULF) 13 March 1997 (1997-03-13) the whole document ---	16-20, 22-24, 31,32
A	WO 97 47769 A (SARNOFF CORP) 18 December 1997 (1997-12-18) the whole document ---	1-32
A	WO 94 17086 A (APOLLON INC ; YOON KYONGGEUN (US); LU MEIQING (US)) 4 August 1994 (1994-08-04) ---	
	-/--	

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 February 2001

Date of mailing of the international search report

06/03/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Molina Galan, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 00/01655

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NILSSON M ET AL: "PADLOCK PROBES: CIRCULARIZING OLIGONUCLEOTIDES FOR LOCALIZED DNA DETECTION" SCIENCE,US,AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, vol. 265, no. 5181, 30 September 1994 (1994-09-30), pages 2085-2088, XP000579803 ISSN: 0036-8075 ---	
A	US 5 591 841 A (JI HUAMIN ET AL) 7 January 1997 (1997-01-07) ---	
A	PFANNSCHMIDT ET AL.: "Sequence-specific labeling of superhelical DNA by triple helix formation and psoralen crosslinking" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 24, no. 9, 1996, pages 1702-1709, XP002135279 OXFORD GB ---	
A	ESCUDÉ ET AL.: "Rational design of a triple helix specific intercalating ligand" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 95, March 1998 (1998-03), pages 3591-3596, XP002135278 WASHINGTON US ---	
A	WO 98 02449 A (ONCOR INC) 22 January 1998 (1998-01-22) ---	
P,X	ESCUDÉ ET AL.: "Padlock oligonucleotides for duplex DNA based on sequence-specific triple helix formation" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 96, September 1999 (1999-09), pages 10603-10607, XP002151269 WASHINGTON US the whole document -----	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 00/01655

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9719193 A	29-05-1997	US 5854033 A	29-12-1998
		AU 714486 B	06-01-2000
		AU 1024097 A	11-06-1997
		EP 0862656 A	09-09-1998
		US 6143495 A	07-11-2000
WO 9709069 A	13-03-1997	SE 506908 C	02-03-1998
		AU 6950096 A	27-03-1997
		EP 0964704 A	22-12-1999
		SE 9503117 A	09-03-1997
WO 9747769 A	18-12-1997	US 5912124 A	15-06-1999
		AU 3232297 A	07-01-1998
		CA 2258742 A	18-12-1997
		EP 1007725 A	14-06-2000
		JP 2000512148 T	19-09-2000
WO 9417086 A	04-08-1994	NONE	
US 5591841 A	07-01-1997	NONE	
WO 9802449 A	22-01-1998	US 5866336 A	02-02-1999
		US 6117635 A	12-09-2000
		AU 3728597 A	09-02-1998
		CA 2260973 A	22-01-1998
		EP 0912597 A	06-05-1999
		US 6090552 A	18-07-2000

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document internationale No
PCT/FR 00/01655

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE CIB 7 C12Q1/68 C12N15/10		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 7 C12Q		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 97 19193 A (UNIV YALE) 29 mai 1997 (1997-05-29) le document en entier ---	16-20, 22-24, 31, 32
X	WO 97 09069 A (LANDEGREN ULF) 13 mars 1997 (1997-03-13) le document en entier ---	16-20, 22-24, 31, 32
A	WO 97 47769 A (SARNOFF CORP) 18 décembre 1997 (1997-12-18) le document en entier ---	1-32
A	WO 94 17086 A (APOLLON INC ; YOON KYONGGEUN (US); LU MEIQING (US)) 4 août 1994 (1994-08-04) --- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
° Catégories spéciales de documents cités:		
A document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 28 février 2001		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 06/03/2001
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé Molina Galan, E

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document Internationale No

PCT/FR 00/01655

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>NILSSON M ET AL: "PADLOCK PROBES: CIRCULARIZING OLIGONUCLEOTIDES FOR LOCALIZED DNA DETECTION" SCIENCE,US,AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE,, vol. 265, no. 5181, 30 septembre 1994 (1994-09-30), pages 2085-2088, XP000579803 ISSN: 0036-8075</p> <p>----</p>	
A	<p>US 5 591 841 A (JI HUAMIN ET AL) 7 janvier 1997 (1997-01-07)</p> <p>----</p>	
A	<p>PFANNSCHMIDT ET AL.: "Sequence-specific labeling of superhelical DNA by triple helix formation and psoralen crosslinking" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 24, no. 9, 1996, pages 1702-1709, XP002135279 OXFORD GB</p> <p>----</p>	
A	<p>ESCUDE ET AL.: "Rational design of a triple helix specific intercalating ligand" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 95, mars 1998 (1998-03), pages 3591-3596, XP002135278 WASHINGTON US</p> <p>----</p>	
A	<p>WO 98 02449 A (ONCOR INC) 22 janvier 1998 (1998-01-22)</p> <p>----</p>	
P,X	<p>ESCUDE ET AL.: "Padlock oligonucleotides for duplex DNA based on sequence-specific triple helix formation" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 96, septembre 1999 (1999-09), pages 10603-10607, XP002151269 WASHINGTON US le document en entier</p> <p>-----</p>	1-32

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document internationale No

PCT/FR 00/01655

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9719193 A	29-05-1997	US 5854033 A	29-12-1998
		AU 714486 B	06-01-2000
		AU 1024097 A	11-06-1997
		EP 0862656 A	09-09-1998
		US 6143495 A	07-11-2000
WO 9709069 A	13-03-1997	SE 506908 C	02-03-1998
		AU 6950096 A	27-03-1997
		EP 0964704 A	22-12-1999
		SE 9503117 A	09-03-1997
WO 9747769 A	18-12-1997	US 5912124 A	15-06-1999
		AU 3232297 A	07-01-1998
		CA 2258742 A	18-12-1997
		EP 1007725 A	14-06-2000
		JP 2000512148 T	19-09-2000
WO 9417086 A	04-08-1994	AUCUN	
US 5591841 A	07-01-1997	AUCUN	
WO 9802449 A	22-01-1998	US 5866336 A	02-02-1999
		US 6117635 A	12-09-2000
		AU 3728597 A	09-02-1998
		CA 2260973 A	22-01-1998
		EP 0912597 A	06-05-1999
		US 6090552 A	18-07-2000