



- (51) 국제특허분류:
C12Q 1/68 (2006.01) C12N 15/11 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/001808
- (22) 국제출원일: 2012년 3월 13일 (13.03.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2011-0023184 2011년 3월 16일 (16.03.2011) KR
- (71) 출원인 (US 을(를) 제외한 모든 지정국에 대하여): 연세대학교 산학협력단 (INDUSTRY-ACADEMIC CO-OPERATION FOUNDATION, YONSEI UNIVERSITY) [KR/KR]; 서울특별시 서대문구 연세로 50, 연세대학교 공학원 1층, 120-749 Seoul (KR).
- (72) 발명자: 겸
- (75) 발명자/출원인 (US 에 한하여): 방두희 (BANG, Du Hee) [KR/KR]; 서울특별시 동대문구 이문 2동 334-41, 130-082 Seoul (KR). 한효준 (HAN, Hyo Jun) [KR/KR]; 서울특별시 양천구 신정 3동 e-편한세상아파트 105동 2004호, 158-073 Seoul (KR).
- (74) 대리인: 양부현 (YANG, Boo-Hyun); 서울특별시 관악구 인현동 1659-2 청동빌딩 301호, 151-832 Seoul (KR).

- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, 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, 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, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

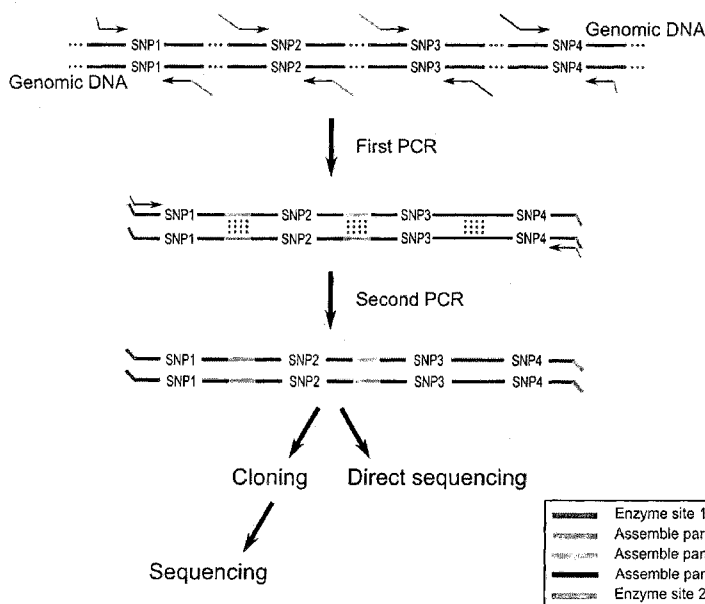
- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))
- 청구범위 보정 기한 만료 전의 공개이며, 보정서를 접수하는 경우 그에 관하여 별도 공개함 (규칙 48.2(h))

[다음 쪽 계속]

(54) Title: METHOD FOR ASSEMBLING MULTIPLE TARGET LOCI TO A SINGLE NUCLEIC ACID SEQUENCE

(54) 발명의 명칭: 다중 타겟 위치의 단일 핵산서열로의 어셈블리 방법

Fig. 1



(57) Abstract: The present invention relates to a method for assembling multiple target loci to a single assembled nucleic acid sequence, and to a method for simultaneously detecting multiple target loci using said assembly method. The method of the present invention involves assembling the multiple target loci to a single assembled nucleic acid sequence through two polymerase chain reactions (PCRs), i.e. a primary PCR and a secondary PCR. More particularly, a pair of primers (a forward primer and an inverse primer) for a primary amplification consist of a target-specific sequence (a target hybridization nucleotide sequence) and a 5'-flanking assembly spacer sequence (an overlapping sequence). In addition, a primary amplified product amplified by means of the pair of primers for a primary amplification is assembled to a single shortened nucleic acid sequence in a convenient and easy manner through a set of primers for a secondary amplification, thus enabling the simultaneous detection of multiple target loci. Accordingly, the method and a kit of the present invention may simultaneously detect and analyze multiple variabilities in DNA sequences of a sample (preferably human blood), thus not only remarkably reducing sequencing costs for detecting variabilities, but also providing

ing a critical approach and means for achieving the concept of customized medicine.

(57) 요약서:

[다음 쪽 계속]



본 발명은 다중 타겟 위치(multiple target loci)를 하나의 어셈블된 핵산서열로의 어셈블리하는 방법 및 이를 이용한 동시 검출방법에 관한 것이다. 본 발명의 방법은 두 번의 PCR, 즉 제 1 차 PCR(polymerase chain reaction) 및 제 2 차 PCR 반응을 통해 다중 타겟 위치를 하나의 어셈블된 핵산서열로 어셈블리시킨다. 보다 상세하게는, 본 발명에서 이용되는 제 1 차 증폭용 프라이머쌍(정방향 프라이머 및 역방향 프라이머)은 타겟-특이적 서열(타겟 혼성화 뉴클레오타이드 서열) 및 5'-플래깅 어셈블리 스페이서 서열(오버래핑 서열)로 이루어져 있다. 또한, 상기 제 1 차 증폭용 프라이머쌍을 이용하여 증폭된 제 1 차 증폭결과물을 제 2 차 증폭용 프라이머 세트를 통해 간편하고 용이하게 하나의 단축된 핵산서열로 어셈블리시켜 다중 타겟 위치를 동시에 검출할 수 있다. 따라서, 본 발명의 방법 및 키트는 시료(바람직하게는, 인간의 혈액)의 DNA 서열 상의 다중 변이성(예컨대, SNPs)을 동시에 검출 및 분석함으로써, 변이 검출을 위한 시퀀싱 비용을 현저하게 감소시킬 수 있을 뿐 아니라 맞춤형 의학의 개념을 실현하기 위한 중요한 접근방법 및 수단을 제공한다.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/001808**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****C12Q 1/68(2006.01)i, C12N 15/11(2006.01)i***

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)

C12Q 1/68; C12N 15/64; C12P 19/34; C12M 1/34

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

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: nucleic acid, multiple, overlap, primer, multiple target loci

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 6,204,025 B1 (LIU, QIANG) 20 March 2001 See abstract; claims 1,11,20,24-26,49	1-6,11-14,18 7-10,15-17
A	US 2009/0042258 A1 (BITINAITE, JURATE) 12 February 2009 See abstract; figures 8-13	1-18
A	US 7,498,131 B2 (VAN EIJK, MICHAEL JOSEPHUS THERESIA et al.) 03 March 2009 See abstract; claim 1; figure 1	1-18
A	US 2010/0143900 A1 (PELUSO, PAUL S. et al.) 10 June 2010 See abstract; claims 1,12,18	1-18
PX	HAN, H. et al., "Multiple target loci assembly sequencing (mTAS)", Analytical Biochemistry, Vol.415, pp.218-220 (16 April 2011) See the entire document	1-18



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family 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 application or patent 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 OCTOBER 2012 (30.10.2012)

Date of mailing of the international search report

31 OCTOBER 2012 (31.10.2012)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/001808

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
US 6204025 B1	20.03.2001	NONE	
US 2009-0042258 A1	12.02.2009	US 2003-194736 A1 US 2011-262973 A1 US 7435572 B2	16.10.2003 27.10.2011 14.10.2008
US 7498131 B2	03.03.2009	AT 358186 T AU 2002-359090 A1 AU 2002-360222 A1 AU 2002-360223 A1 AU 2002-360223 B2 CA 2470356 A1 DE 60219199 D1 DE 60219199 T2 EP 1319718 A1 EP 1453978 A2 EP 1453978 B1 EP 1453978 B9 ES 2284967 T3 JP 04-226476 B2 JP 2005-512549 A JP 2005-512549 T US 2006-0121458 A1 WO 03-052140 A2 WO 03-052140 A3 WO 03-052141 A2 WO 03-052141 A3 WO 03-052141 A9 WO 03-052142 A2 WO 03-052142 A3	15.04.2007 30.06.2003 30.06.2003 30.06.2003 27.04.2006 26.06.2003 10.05.2007 03.01.2008 18.06.2003 08.09.2004 28.03.2007 12.09.2007 16.11.2007 18.02.2009 12.05.2005 12.05.2005 08.06.2006 26.06.2003 13.11.2003 26.06.2003 26.02.2004 18.12.2003 26.06.2003 30.10.2003
US 2010-0143900 A1	10.06.2010	NONE	

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

C12Q 1/68(2006.01)i, C12N 15/11(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

C12Q 1/68; C12N 15/64; C12P 19/34; C12M 1/34

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: nucleic acid, multiple, overlap, primer, multiple target loci

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X A	US 6,204,025 B1 (LIU, QIANG) 2001.03.20 초록; 청구항 1, 11, 20, 24-26, 49 참조	1-6, 11-14, 18 7-10, 15-17
A	US 2009/0042258 A1 (BITINAITE, JURATE) 2009.02.12 초록; 도면 8-13 참조	1-18
A	US 7,498,131 B2 (VAN EIJK, MICHAEL JOSEPHUS THERESIA 외 1명) 2009.03.03 초록; 청구항 1; 도면 1 참조	1-18
A	US 2010/0143900 A1(PELUSO, PAUL S. 외 2명) 2010.06.10 초록; 청구항 1, 12, 18 참조	1-18
PX	HAN, H. et al., "Multiple target loci assembly sequencing (mTAS)", Analytical Biochemistry, vol.415, pp.218-220 (2011.4.16.) 전문 참조	1-18

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

“A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

“T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

“E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

“X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

“L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

“Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

“O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

“&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

“P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

국제조사의 실제 완료일

2012년 10월 30일 (30.10.2012)

국제조사보고서 발송일

2012년 10월 31일 (31.10.2012)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소

 대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 82-42-472-7140

심사관

이효진

전화번호 82-42-481-8743



국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 6204025 B1	2001.03.20	없음	
US 2009-0042258 A1	2009.02.12	US 2003-194736 A1 US 2011-262973 A1 US 7435572 B2	2003.10.16 2011.10.27 2008.10.14
US 7498131 B2	2009.03.03	AT 358186 T AU 2002-359090 A1 AU 2002-360222 A1 AU 2002-360223 A1 AU 2002-360223 B2 CA 2470356 A1 DE 60219199 D1 DE 60219199 T2 EP 1319718 A1 EP 1453978 A2 EP 1453978 B1 EP 1453978 B9 ES 2284967 T3 JP 04-226476 B2 JP 2005-512549 A JP 2005-512549 T US 2006-0121458 A1 WO 03-052140 A2 WO 03-052140 A3 WO 03-052141 A2 WO 03-052141 A3 WO 03-052141 A9 WO 03-052142 A2 WO 03-052142 A3	2007.04.15 2003.06.30 2003.06.30 2003.06.30 2006.04.27 2003.06.26 2007.05.10 2008.01.03 2003.06.18 2004.09.08 2007.03.28 2007.09.12 2007.11.16 2009.02.18 2005.05.12 2005.05.12 2006.06.08 2003.06.26 2003.11.13 2003.06.26 2004.02.26 2003.12.18 2003.06.26 2003.10.30
US 2010-0143900 A1	2010.06.10	없음	