



<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12Q 1/68</p>	<p>A3</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/23250</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 14. Mai 1999 (14.05.99)</p>								
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06961</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 3. November 1998 (03.11.98)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:</p> <table border="0"> <tr> <td>197 48 690.8</td> <td>4. November 1997 (04.11.97)</td> <td>DE</td> </tr> <tr> <td>198 14 001.0</td> <td>28. März 1998 (28.03.98)</td> <td>DE</td> </tr> <tr> <td>198 14 828.3</td> <td>2. April 1998 (02.04.98)</td> <td>DE</td> </tr> </table> <p>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE/DE]; Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim (DE).</p> <p>(72) Erfinder; und</p> <p>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): KESSLER, Christoph [DE/DE]; Schloßbergweg 11, D-82057 Icking (DE). HABERHAUSEN, Gerd [DE/DE]; Jochbergweg 2, D-82393 Iffeldorf (DE). BARTL, Knut [DE/DE]; Am Westend 6, D-82407 Wielenbach (DE). ORUM, Henrik [DK/DK]; Vildrosevej 3, DK-3500 Værløse (DK).</p> <p>(74) Gemeinsamer Vertreter: ROCHE DIAGNOSTICS GMBH; Patentabteilung, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim (DE).</p>	197 48 690.8	4. November 1997 (04.11.97)	DE	198 14 001.0	28. März 1998 (28.03.98)	DE	198 14 828.3	2. April 1998 (02.04.98)	DE	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i></p> <p>(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 22. Juli 1999 (22.07.99)</p>
197 48 690.8	4. November 1997 (04.11.97)	DE								
198 14 001.0	28. März 1998 (28.03.98)	DE								
198 14 828.3	2. April 1998 (02.04.98)	DE								
<p>(54) Title: SPECIFIC AND SENSITIVE METHOD FOR DETECTING NUCLEIC ACIDS</p> <p>(54) Bezeichnung: SPEZIFISCHES UND SENSITIVES NUKLEINSÄURENACHWEISVERFAHREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to a method for detecting a nucleic acid, comprising the following steps: the production of a number of enhancers of a fragment of said nucleic acid with a length of less than 100 nucleotides using two primers, one of said primers being able to bind to a first binding sequence (A) of a strand of the nucleic acid and the other primer being able to bind to a second binding sequence (C') which is essentially complementary to a sequence (C), said sequence (C) not overlapping with (A) and being positioned in the direction 3' from A, in the presence of a probe with a binding sequence (D) which is able to bind to the third sequence (B) positioned between the sequences (A) and (C) or the complement (B') thereof, said probe containing a reporter group and a quencher group, using a polymerase with 5' nuclease activity; and detection of the nucleic acid through the measurement of a signal which is determined by the release of the reporter group.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum Nachweis einer Nukleinsäure enthaltend die Schritte Herstellung einer Vielzahl von Amplifikaten eines Teilstücks dieser Nukleinsäure mit einer Länge von weniger als 100 Nucleotiden mit Hilfe zweier Primer, von denen einer an eine erste Bindesequenz (A) eines Strangs der Nukleinsäure binden kann und von denen der andere an eine zweite Bindesequenz (C'), die zu einer mit (A) nicht überlappenden, in 3'-Richtung von (A) gelegenen Sequenz (C) im wesentlichen komplementär ist, binden kann, in Anwesenheit einer Sonde mit einer Bindesequenz (D), welche an die zwischen den Sequenzen (A) und (C) gelegene dritte Sequenz (B) oder das Komplement (B') davon binden kann, wobei diese Sonde eine Reportergruppe und eine Quenchergruppe enthält, unter Verwendung einer Polymerase mit 5'-Nukleaseaktivität und Nachweis der Nukleinsäure durch Messung eines Signals, welches durch die Freisetzung der Reportergruppe bedingt ist.</p>										

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 98/06961

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C12Q1/68

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 6 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)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 229 701 A (CETUS CORP) 22 July 1987	1,2,4,5, 9
Y	see example 2	3,6-8
Y	<p style="text-align: center;">---</p> US 5 527 898 A (BAUER HEIDI M ET AL) 18 June 1996 see column 8, line 22 - column 9, line 5; examples 1,3 see column 10, line 26 - column 11, line 30 see column 17, line 48 - column 18, line 61	3,6-8
A	<p style="text-align: center;">---</p> US 5 538 848 A (LIVAK KENNETH J ET AL) 23 July 1996 see the whole document	1,5
	<p style="text-align: center;">---</p> -/--	

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.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 May 1999

Date of mailing of the international search report

02/06/1999

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

Reuter, U

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP 98/06961

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category ^o	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 95 02690 A (ABBOTT LAB) 26 January 1995 see page 4; examples 9,10 -----	4
A	WO 91 10675 A (STICHTING RES FONDS PATHOLOGIE) 25 July 1991 see page 4, line 8 - page 5, line 17 see page 8, line 14 - page 9, line 16 see page 12, line 13 - page 13, line 7 see page 14 - page 20, line 28 -----	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/06961

Patent document cited in search report	A	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0229701	A	22-07-1987	AT 127857	T 15-09-1995
			AU 606043	B 31-01-1991
			AU 6710987	A 16-07-1987
			CA 1279244	A 22-01-1991
			DE 3751513	D 19-10-1995
			DE 3751513	T 28-03-1996
			DK 10787	A 11-07-1987
			ES 2078214	T 16-12-1995
			IE 69565	B 02-10-1996
			JP 2576980	B 29-01-1997
			JP 62217161	A 24-09-1987
			JP 2574640	B 22-01-1997
			JP 6233700	A 23-08-1994
			US 5386022	A 31-01-1995
			US 5594123	A 14-01-1997
			US 5176995	A 05-01-1993
			US 5008182	A 16-04-1991
US 5527898	A	18-06-1996	US 5447839	A 05-09-1995
			US 5182377	A 26-01-1993
			US 5639871	A 17-06-1997
			US 5705627	A 06-01-1995
			AT 138108	T 15-06-1996
			AU 645483	B 20-01-1994
			AU 4401189	A 02-04-1990
			CA 1339262	A 12-08-1997
			DE 68926507	D 20-06-1996
			DE 68926507	T 16-01-1997
			EP 0433396	A 26-06-1991
			JP 2651483	B 10-09-1997
			JP 4500910	T 20-02-1992
			WO 9002821	A 22-03-1990
			US 5283171	A 01-02-1993
US 5538848	A	23-07-1996	AU 695561	B 13-08-1998
			AU 4283696	A 06-06-1996
			CA 2201756	A 23-05-1996
			EP 0792374	A 03-09-1997
			JP 10510982	T 27-10-1998
			WO 9615270	A 23-05-1996
			US 5876930	A 02-03-1999
			US 5723591	A 03-03-1998
WO 9502690	A	26-01-1995	AU 7326494	A 13-02-1995
			CA 2167056	A 26-01-1995
			EP 0785996	A 30-07-1997
			JP 9501829	T 25-02-1997
			US 5736334	A 07-04-1998
WO 9110675	A	25-07-1991	NL 9000134	A 16-08-1991
			AT 137809	T 15-05-1996
			AU 645286	B 13-01-1994
			AU 7071691	A 05-08-1991
			CA 2074069	A 20-07-1991
			DE 69119408	D 13-06-1996
			DE 69119408	T 05-12-1996
			DK 517704	T 09-09-1996
			EP 0517704	A 16-12-1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/06961

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9110675 A		ES 2088483 T	16-08-1996
		GR 3020302 T	30-09-1996
		US 5364758 A	15-11-1994

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 98/06961

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 6 C12Q1/68		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 6 C12Q		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 229 701 A (CETUS CORP) 22. Juli 1987	1,2,4,5, 9
Y	siehe Beispiel 2 ---	3,6-8
Y	US 5 527 898 A (BAUER HEIDI M ET AL) 18. Juni 1996 siehe Spalte 8, Zeile 22 - Spalte 9, Zeile 5; Beispiele 1,3 siehe Spalte 10, Zeile 26 - Spalte 11, Zeile 30 siehe Spalte 17, Zeile 48 - Spalte 18, Zeile 61 ---	3,6-8
A	US 5 538 848 A (LIVAK KENNETH J ET AL) 23. Juli 1996 siehe das ganze Dokument --- -/--	1,5
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
26. Mai 1999		02/06/1999
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Reuter, U

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06961

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 95 02690 A (ABBOTT LAB) 26. Januar 1995 siehe Seite 4; Beispiele 9,10 ----	4
A	WO 91 10675 A (STICHTING RES FONDS PATHOLOGIE) 25. Juli 1991 siehe Seite 4, Zeile 8 - Seite 5, Zeile 17 siehe Seite 8, Zeile 14 - Seite 9, Zeile 16 siehe Seite 12, Zeile 13 - Seite 13, Zeile 7 siehe Seite 14 - Seite 20, Zeile 28 -----	1-9

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06961

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0229701 A	22-07-1987	AT 127857 T	15-09-1995
		AU 606043 B	31-01-1991
		AU 6710987 A	16-07-1987
		CA 1279244 A	22-01-1991
		DE 3751513 D	19-10-1995
		DE 3751513 T	28-03-1996
		DK 10787 A	11-07-1987
		ES 2078214 T	16-12-1995
		IE 69565 B	02-10-1996
		JP 2576980 B	29-01-1997
		JP 62217161 A	24-09-1987
		JP 2574640 B	22-01-1997
		JP 6233700 A	23-08-1994
		US 5386022 A	31-01-1995
		US 5594123 A	14-01-1997
		US 5176995 A	05-01-1993
		US 5008182 A	16-04-1991
US 5527898 A	18-06-1996	US 5447839 A	05-09-1995
		US 5182377 A	26-01-1993
		US 5639871 A	17-06-1997
		US 5705627 A	06-01-1995
		AT 138108 T	15-06-1996
		AU 645483 B	20-01-1994
		AU 4401189 A	02-04-1990
		CA 1339262 A	12-08-1997
		DE 68926507 D	20-06-1996
		DE 68926507 T	16-01-1997
		EP 0433396 A	26-06-1991
		JP 2651483 B	10-09-1997
		JP 4500910 T	20-02-1992
		WO 9002821 A	22-03-1990
		US 5283171 A	01-02-1993
US 5538848 A	23-07-1996	AU 695561 B	13-08-1998
		AU 4283696 A	06-06-1996
		CA 2201756 A	23-05-1996
		EP 0792374 A	03-09-1997
		JP 10510982 T	27-10-1998
		WO 9615270 A	23-05-1996
		US 5876930 A	02-03-1999
		US 5723591 A	03-03-1998
WO 9502690 A	26-01-1995	AU 7326494 A	13-02-1995
		CA 2167056 A	26-01-1995
		EP 0785996 A	30-07-1997
		JP 9501829 T	25-02-1997
		US 5736334 A	07-04-1998
WO 9110675 A	25-07-1991	NL 9000134 A	16-08-1991
		AT 137809 T	15-05-1996
		AU 645286 B	13-01-1994
		AU 7071691 A	05-08-1991
		CA 2074069 A	20-07-1991
		DE 69119408 D	13-06-1996
		DE 69119408 T	05-12-1996
		DK 517704 T	09-09-1996
		EP 0517704 A	16-12-1992

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06961

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9110675 A		ES 2088483 T	16-08-1996
		GR 3020302 T	30-09-1996
		US 5364758 A	15-11-1994
