SUOMI—FINLAND
(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus
Patent- och registerstyrelsen

PATENTTIHAKEMUS—PATENTANSÖKAN
[A] TIIVISTELMÄ—SAMMANDRAG

(11) (21) Patenttihakemus-Patentansökan 860744

(51) Kv.lk.⁴/Int.Cl.⁴ C 12 Q 1/68

(22) Hakemispäivä-Ansökningsdag 20.02.86

(23) Alkupäivä-Löpdag

(41) Tullut julkiseksi-Blivit offentlig 23.08.86

(86) Kv. hakemus-Int. ansökan

(30) Etuoikeus-Prioritet 22.02.85 US 704130

(71) Hakija/SÖkande: Molecular Diagnostics, Inc., 400 Morgan Lane, West Haven, USA

(72) KeksijÄ/Uppfinnare: Dattagupta, Nanibhushan

(74) Asiamies/Ombud: Kolster

(54) Keksinnön nimitys/Uppfinningens benämning: Liuosfaasissa tehtävä kaksoishybridisaatiokoe polynukleotidisekvenssien detektoimiseksi. I lösningsfasen utförbart dubbelhybridisationstest för detektering av polynukleotidsekvenser.

(57) Tiivistelmä

Keksintö koskee kaksoishybridisaatiokoetta tietyn polynukleotidisekvenssin läsnäolon havaitsemiseksi tutkittavasta näytteestä, jossa kokeessa hybridisaatio tehdään liuosfaasissa. Testissä käytetään kahta liukenevaa polynukleotidikoetinta, jotka hybridisoituvat detektoitavan sekvenssin eri osiin. Ensimmäinen eli erotuskoetin sisältää reaktiopartnerin kanssa reagoivan kohdan, edullisesti sitoutuvaa ainetta (esimerkiksi avidiinia) sitovan kohdan (esimerkiksi biotiinin). Liuos saatetaan hybridisaation jälkeen kosketukseen reaktiopartnerin immobilisoidun muodon kanssa, jolloin kaksoishybridit, jotka sisältävät detektoitavan sekvenssin ja erotus- ja detektointikoettimen, immobilisoituvat. Immobilisoitu fraktio erotetaan sitten ja detektointikoetin määritetään jommastakummasta erotetusta fraktiosta. Detektointikoetin leimataan edullisesti sellaisella ryhmällä kuin spesifisesti sitoutuvalla ligandilla, esimerkiksi biotiinilla tai hapteenilla ja se on detektoitavissa sitomalla se leimattuun sitoutumispartneriin, esimerkiksi entsyymillä leimattuun avidiiniin tai vasta-aineeseen. Tällä koemenetelmällä on kaksoishybridisaatiomenetelmän edut sekä liuosfaasikokeen kineettiset ja käsittelyyn liittyvät edut.

(57) Sammandrag

Uppfinningen avser ett dubbelhybridisationsproberingsförfarande för detektering av närvaron av en speciell polynukleotidsekvens i ett testprov, varvid hybridisationen utföres i lösningsfas. I testet används två lösliga polynukleotidprober, vilka hybridiserar sig vid skilda partier av sekvensen som skall detekteras. Den första eller separationsproben omfattar ett reaktivt ställe för en reaktionspartner, företrädesvis ett bindningsställe (t.ex. biotin) för en bindande substans (t.ex. avidin). Efter hybridiseringen kontaktas den resulterande lösningen med en immobiliserad form av reaktionspartnern, varvid dubbelhybrider, vilka omfattar sekvensen som skall detekteras och detektions- och separationsproberna blir immobiliserade. Den immobiliserade fraktionen separeras sedan och detektionsproben bestäms i någon av de separerade fraktionerna. Företrädesvis märks detektionsproben med en specifikt bindbar ligand, t.ex. biotin eller ett hapten, och kan detekteras genom bindande av en märkt bindningspartner, t.ex. enzym-märkt avidin eller antikropp, vid denna. Proberingsförfarandet har fördelarna med en dubbelhybridisationsteknik samt de kinetiska och manupulativa egenskaperna hos en probering i lösningsfas.