

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
5. Juli 2001 (05.07.2001)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/48184 A3

PCT

(51) Internationale Patentklassifikation⁷:

C12Q 1/68

(81) Bestimmungsstaaten (national): AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW.

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP00/13157

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

(22) Internationales Anmeldedatum:

22. Dezember 2000 (22.12.2000)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

199 62 893.9 23. Dezember 1999 (23.12.1999) DE
100 51 564.9 18. Oktober 2000 (18.10.2000) DE

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts:

16. Mai 2002

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) **Title:** METHOD FOR CARRYING OUT THE PARALLEL SEQUENCING OF A NUCLEIC ACID MIXTURE ON A SURFACE

(54) **Bezeichnung:** VERFAHREN ZUR PARALLELEN SEQUENZIERUNG EINES NUKLEINSÄUREGEMISCHES AN EINER OBERFLÄCHE

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for carrying out the parallel sequencing of at least two different nucleic acids contained in a nucleic acid mixture, whereby: (a) a surface is prepared which comprises islands of nucleic acids of the same type of tertiary nucleic acids; (b) opposite strands of the tertiary nucleic acids GTN are prepared; (c) the GTN are lengthened by one nucleotide, whereby the nucleotide, on the 2'-OH position or on the 3'-OH position, carries a protective group, which prevents an additional lengthening, and the nucleotide carries a molecular group, which enables the identification of the nucleotide; (d) the incorporated nucleotide is identified; (e) the protective group is removed and said molecular group of the incorporated nucleotide is removed or modified, and; (f) step (c) and the following steps are repeated until the desired sequence information has been obtained.

A3

WO 01/48184

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur parallelen Sequenzierung von mindestens zwei verschiedenen in einem Nukleinsäuregemisch enthaltenen Nukleinsäuren, wobei (a) eine Oberfläche bereitgestellt wird, aufweisend Inseln von Nukleinsäuren jeweils gleicher Sorte, tertiäre Nukleinsäuren; (b) Gegenstränge der tertiären Nukleinsäuren, GTN, bereitgestellt werden; (c) die GTN um ein Nukleotid verlängert werden, wobei das Nukleotid an der 2'-OH-Position oder an der 3'-OH-Position eine Schutzgruppe trägt, die eine weitere Verlängerung verhindert, das Nukleotid eine Molekülgruppe trägt, die die Identifikation des Nukleotids ermöglicht; (d) das eingebaute Nukleotid identifiziert wird; (e) die Schutzgruppe entfernt wird und die zur Identifikation verwendete Molekülgruppe des eingebauten Nukleotids entfernt oder verändert wird, und (f) Schritt (c) und nachfolgende Schritte solange wiederholt werden, bis die gewünschte Sequenzinformation erhalten worden ist.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/13157

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 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 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, BIOSIS, MEDLINE, SCISEARCH, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 547 839 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 20 August 1996 (1996-08-20) column 4, line 44 -column 5, line 2 column 15, line 62 -column 16, line 6 column 18, line 1 - line 20 column 18, line 1 -column 19, line 10; figure 9 column 23, line 15 -column 26, line 26 claims 1-7 ---	1,3-9, 11-19
Y	column 4, line 44 -column 5, line 2 column 15, line 62 -column 16, line 6 column 18, line 1 - line 20 column 18, line 1 -column 19, line 10; figure 9 column 23, line 15 -column 26, line 26 claims 1-7 ---	2,10
X	WO 93 05183 A (BAYLOR COLLEGE MEDICINE) 18 March 1993 (1993-03-18) page 3, line 9 - line 26 page 13, line 11 -page 14, line 12; figures 5,6 ---	1,3-9, 11-19
Y	page 3, line 9 - line 26 page 13, line 11 -page 14, line 12; figures 5,6 ---	2,10 -/-

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

16 October 2001

Date of mailing of the international search report

30/10/2001

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

Tilkorn, A-C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/13157

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 5 641 658 A (ADAMS CHRISTOPHER P ET AL) 24 June 1997 (1997-06-24) cited in the application column 3, line 24 - line 27 column 3, line 31 -column 4, line 12 column 4, line 44 - line 48 ---	2,10
A	WO 91 06678 A (STANFORD RES INST INT ;TSIEN ROGER Y (US)) 16 May 1991 (1991-05-16) page 11, paragraph 2 -page 13, paragraph 4 page 6, line 28 -page 8, line 7 page 2, paragraph 3 page 29, paragraph 2 page 30; figures A-D claims 1-48 ---	1-19
A	US 5 302 509 A (CHEESEMAN PETER C) 12 April 1994 (1994-04-12) the whole document ---	1-19
A	US 5 798 210 A (SARFATI SIMON ET AL) 25 August 1998 (1998-08-25) cited in the application the whole document ---	1-19
A	WO 96 23807 A (KWIATKOWSKI MAREK) 8 August 1996 (1996-08-08) claims 11-15 -----	1-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/13157

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date	
US 5547839	A	20-08-1996	US 5143854 A AU 9136791 A WO 9210587 A1 US 5902723 A AT 110738 T AT 175421 T AU 651795 B2 AU 5837190 A AU 672723 B2 AU 7765594 A BR 9007425 A CA 2054706 A1 DE 69012119 D1 DE 69012119 T2 DE 69032888 D1 DE 69032888 T2 DK 476014 T3 DK 619321 T3 EP 0476014 A1 EP 0619321 A1 EP 0902034 A2 EP 0953835 A1 ES 2058921 T3 ES 2129101 T3 GB 2248840 A ,B HK 61395 A HK 64195 A HU 59938 A2 IL 94551 A JP 11315095 A JP 11021293 A JP 4505763 T KR 9701577 B1 KR 9701578 B1 WO 9015070 A1 NL 191992 B NL 9022056 T NO 301233 B1 NZ 233886 A SG 13595 G US 6197506 B1 US 6124102 A US 6261776 B1 US 5744101 A US 5489678 A US 6291183 B1 US 58891 A		01-09-1992 08-07-1992 25-06-1992 11-05-1999 15-09-1994 15-01-1999 04-08-1994 07-01-1991 10-10-1996 04-05-1995 21-07-1992 08-12-1990 06-10-1994 22-12-1994 18-02-1999 29-07-1999 14-11-1994 30-08-1999 25-03-1992 12-10-1994 17-03-1999 03-11-1999 01-11-1994 01-06-1999 22-04-1992 05-05-1995 05-05-1995 28-07-1992 30-03-1995 16-11-1999 26-01-1999 08-10-1992 11-02-1997 11-02-1997 13-12-1990 01-08-1996 02-03-1992 29-09-1997 25-02-1993 16-06-1995 06-03-2001 26-09-2000 17-07-2001 28-04-1998 06-02-1996 18-09-2001	
WO 9305183	A	18-03-1993	AU 2674092 A WO 9305183 A1		05-04-1993 18-03-1993	
US 5641658	A	24-06-1997	CA 2196604 A1 EP 0784701 A1 JP 10505492 T WO 9604404 A1 US 6090592 A US 6060288 A		15-02-1996 23-07-1997 02-06-1998 15-02-1996 18-07-2000 09-05-2000	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No	
PCT/EP 00/13157	

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 9106678	A 16-05-1991	CA 2044616 A1 EP 0450060 A1 WO 9106678 A1		27-04-1991 09-10-1991 16-05-1991
US 5302509	A 12-04-1994	NONE		
US 5798210	A 25-08-1998	FR 2703052 A1 CA 2158975 A1 EP 0690928 A1 EP 0850949 A2 WO 9423064 A1 JP 8508473 T		30-09-1994 13-10-1994 10-01-1996 01-07-1998 13-10-1994 10-09-1996
WO 9623807	A 08-08-1996	CA 2212000 A1 EP 0808320 A1 JP 10513178 T WO 9623807 A1 US 6255475 B1		08-08-1996 26-11-1997 15-12-1998 08-08-1996 03-07-2001

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/13157

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 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)

EPO-Internal, BIOSIS, MEDLINE, SCISEARCH, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 547 839 A (FODOR STEPHEN P A ET AL) 20. August 1996 (1996-08-20)	1, 3-9, 11-19
Y	Spalte 4, Zeile 44 - Spalte 5, Zeile 2 Spalte 15, Zeile 62 - Spalte 16, Zeile 6 Spalte 18, Zeile 1 - Zeile 20 Spalte 18, Zeile 1 - Spalte 19, Zeile 10; Abbildung 9 Spalte 23, Zeile 15 - Spalte 26, Zeile 26 Ansprüche 1-7	2, 10
X	WO 93 05183 A (Baylor College Medicine) 18. März 1993 (1993-03-18)	1, 3-9, 11-19
Y	Seite 3, Zeile 9 - Zeile 26 Seite 13, Zeile 11 - Seite 14, Zeile 12; Abbildungen 5, 6	2, 10
	---	-/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

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 Anmelde datum 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 Anmelde datum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmelde datum 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 erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher 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

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

16. Oktober 2001

30/10/2001

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

Tilkorn, A-C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/13157

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	US 5 641 658 A (ADAMS CHRISTOPHER P ET AL) 24. Juni 1997 (1997-06-24) in der Anmeldung erwähnt Spalte 3, Zeile 24 - Zeile 27 Spalte 3, Zeile 31 - Spalte 4, Zeile 12 Spalte 4, Zeile 44 - Zeile 48 ---	2,10
A	WO 91 06678 A (STANFORD RES INST INT ;TSIEN ROGER Y (US)) 16. Mai 1991 (1991-05-16) Seite 11, Absatz 2 -Seite 13, Absatz 4 Seite 6, Zeile 28 -Seite 8, Zeile 7 Seite 2, Absatz 3 Seite 29, Absatz 2 Seite 30; Abbildungen A-D Ansprüche 1-48 ---	1-19
A	US 5 302 509 A (CHEESEMAN PETER C) 12. April 1994 (1994-04-12) das ganze Dokument ---	1-19
A	US 5 798 210 A (SARFATI SIMON ET AL) 25. August 1998 (1998-08-25) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument ---	1-19
A	WO 96 23807 A (KWIATKOWSKI MAREK) 8. August 1996 (1996-08-08) Ansprüche 11-15 -----	1-19

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/13157

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 5547839	A	20-08-1996	US	5143854 A	01-09-1992
			AU	9136791 A	08-07-1992
			WO	9210587 A1	25-06-1992
			US	5902723 A	11-05-1999
			AT	110738 T	15-09-1994
			AT	175421 T	15-01-1999
			AU	651795 B2	04-08-1994
			AU	5837190 A	07-01-1991
			AU	672723 B2	10-10-1996
			AU	7765594 A	04-05-1995
			BR	9007425 A	21-07-1992
			CA	2054706 A1	08-12-1990
			DE	69012119 D1	06-10-1994
			DE	69012119 T2	22-12-1994
			DE	69032888 D1	18-02-1999
			DE	69032888 T2	29-07-1999
			DK	476014 T3	14-11-1994
			DK	619321 T3	30-08-1999
			EP	0476014 A1	25-03-1992
			EP	0619321 A1	12-10-1994
			EP	0902034 A2	17-03-1999
			EP	0953835 A1	03-11-1999
			ES	2058921 T3	01-11-1994
			ES	2129101 T3	01-06-1999
			GB	2248840 A ,B	22-04-1992
			HK	61395 A	05-05-1995
			HK	64195 A	05-05-1995
			HU	59938 A2	28-07-1992
			IL	94551 A	30-03-1995
			JP	11315095 A	16-11-1999
			JP	11021293 A	26-01-1999
			JP	4505763 T	08-10-1992
			KR	9701577 B1	11-02-1997
			KR	9701578 B1	11-02-1997
			WO	9015070 A1	13-12-1990
			NL	191992 B	01-08-1996
			NL	9022056 T	02-03-1992
			NO	301233 B1	29-09-1997
			NZ	233886 A	25-02-1993
			SG	13595 G	16-06-1995
			US	6197506 B1	06-03-2001
			US	6124102 A	26-09-2000
			US	6261776 B1	17-07-2001
			US	5744101 A	28-04-1998
			US	5489678 A	06-02-1996
			US	6291183 B1	18-09-2001
			US	58891 A	

WO 9305183	A	18-03-1993	AU	2674092 A	05-04-1993
			WO	9305183 A1	18-03-1993

US 5641658	A	24-06-1997	CA	2196604 A1	15-02-1996
			EP	0784701 A1	23-07-1997
			JP	10505492 T	02-06-1998
			WO	9604404 A1	15-02-1996
			US	6090592 A	18-07-2000
			US	6060288 A	09-05-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/13157

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9106678	A	16-05-1991	CA EP WO	2044616 A1 0450060 A1 9106678 A1	27-04-1991 09-10-1991 16-05-1991
US 5302509	A	12-04-1994	KEINE		
US 5798210	A	25-08-1998	FR CA EP EP WO JP	2703052 A1 2158975 A1 0690928 A1 0850949 A2 9423064 A1 8508473 T	30-09-1994 13-10-1994 10-01-1996 01-07-1998 13-10-1994 10-09-1996
WO 9623807	A	08-08-1996	CA EP JP WO US	2212000 A1 0808320 A1 10513178 T 9623807 A1 6255475 B1	08-08-1996 26-11-1997 15-12-1998 08-08-1996 03-07-2001