



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

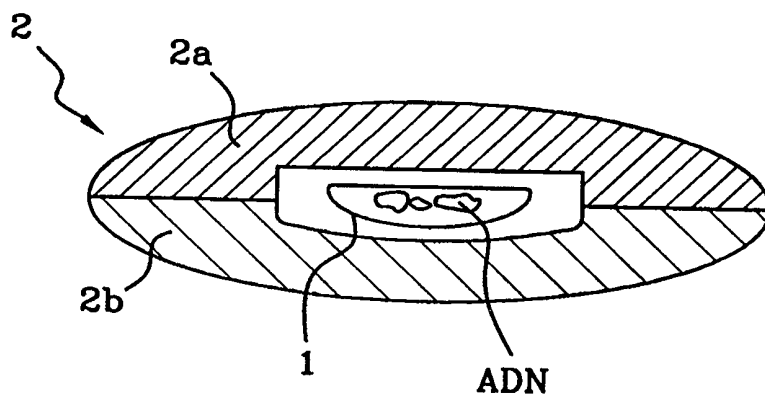
<p>(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C12N 15/10</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: WO 99/57264</p> <p>(43) Date de publication internationale: 11 novembre 1999 (11.11.99)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/00912</p> <p>(22) Date de dépôt international: 6 mai 1998 (06.05.98)</p> <p>(71)(72) Déposants et inventeurs: TUFFET, Sophie [FR/FR]; 15, rue de Cadaujac, F-33800 Bordeaux (FR). DE SOUZA, David, Georges [SN/FR]; 15, rue de Cadaujac, F-33800 Bordeaux (FR). PORTIER, Joseph [FR/FR]; 9, rue de Gzaillan, F-33710 Gradignan (FR). BONNET, Jacques [FR/FR]; 3, allée Albert Camus, F-33600 Pessac (FR). CAMPET, Guy [FR/FR]; 5, place de l'Estandit, F-33610 Canejan (FR). NOEL, Thierry [FR/FR]; 37, rue du Lac, F-69003 Lyon (FR).</p> <p>(74) Mandataire: CABINET THEBAULT; 111, cours du Médoc, F-33000 Bordeaux (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HU, ID, IL, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i></p>

(54) Title: METHOD FOR PROLONGED STORAGE OF DNA MOLECULES AND PACKAGING IMPLEMENTING SAID METHOD

(54) Titre: PROCÉDE DE CONSERVATION DE LONGUE DURÉE DE MOLECULES D'ADN ET CONDITIONNEMENT POUR SA MISE EN OEUVRE

(57) Abstract

The invention concerns a method for prolonged storage of DNA molecules and a packaging for implementing said method. Said method is characterised in that, when the DNA has been extracted and purified by any suitable technique, whether standard or not, it consists in encapsulating the previously dehumidified DNA in a sealed, non-corrosive metal capsule (1). The invention is useful for storing DNA.



(57) Abrégé

L'objet de l'invention est un procédé de conservation de longue durée de molécules d'ADN et un conditionnement pour sa mise en oeuvre. L'invention concerne un procédé de conservation de longue durée de molécules d'ADN, caractérisé en ce qu'il consiste, après extraction et purification de l'ADN par toute technique appropriée, conventionnelle ou non, à effectuer une encapsulation dans une capsule (1) métallique, inoxydable, étanche, de la molécule d'ADN préalablement déshumidifiée. Application à la conservation de l'ADN.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

PROCEDE DE CONSERVATION DE LONGUE DUREE DE MOLECULES D'ADN ET CONDITIONNEMENT POUR SA MISE EN OEUVRE

La présente invention a trait à l'ADN (Acide désoxyribonucléique) notamment d'origine humaine, et vise à conserver la molécule d'ADN, laquelle est porteuse des gènes caractéristiques de chaque individu, c'est-à-dire de son
5 patrimoine génétique.

Plus précisément, l'invention vise la sauvegarde de l'information génétique par la conservation de la molécule d'ADN de façon aussi prolongée que possible et dans des conditions de préservation de l'intégrité de l'information génétique. Cette invention présente de nombreux intérêts
10 notamment pour la médecine prédictive, pour la généalogie génétique et l'identification.

Si la molécule d'ADN est relativement stable, des études d'archéogénéticiens ayant révélé qu'elle peut se conserver des millions d'années dans un environnement favorable, elle peut cependant être dégradée
15 en l'absence de conservation dans un tel environnement.

Parmi les causes d'altération de l'ADN, on peut citer l'action des radiations ionisantes telles que les rayons X ou gamma, l'action des rayonnements ultraviolets, l'oxydation et l'hydrolyse enzymatique ou chimique.

La présente invention vise à proposer une technique de conservation de
20 l'ADN dans un environnement le préservant des effets des actions ci-dessus.

A cet effet, l'invention a pour objet un procédé de conservation de longue durée de molécules d'ADN, caractérisé en ce qu'il consiste, après extraction et purification de l'ADN par toute technique appropriée, conventionnelle ou non, à effectuer une encapsulation dans une capsule
5 métallique, inoxydable, étanche, de la molécule d'ADN préalablement déshumidifiée.

Suivant un premier mode de mise en oeuvre du procédé, l'ADN est encapsulé dans une atmosphère constituée d'un ou plusieurs gaz inertes et présentant un degré d'humidité inférieur ou égal à 1 ppm d'eau.

10 Suivant un deuxième mode de mise en oeuvre du procédé, avant ladite encapsulation physique, l'ADN est soumis à une encapsulation chimique par enrobage dans un (co)polymère approprié.

Suivant une variante de ce deuxième mode de mise en oeuvre, l'encapsulation chimique est effectuée à l'aide d'un hybride constitué dudit
15 (co)polymère, de molécules organiques et/ou de sels inorganiques, à des fins de protection renforcée de l'ADN à l'égard des rayonnements ultraviolets ou ionisants.

De préférence, et quel que soit le mode de mise en oeuvre du procédé, l'encapsulage physique est complétée par la mise de ladite capsule métallique
20 inoxydable et étanche dans un conteneur résistant aux chocs et à l'écrasement.

L'ADN ainsi encapsulé peut être conservé théoriquement pendant plusieurs dizaines de milliers d'années, à l'abri des radiations ionisantes, des ultraviolets, des agressions chimiques et des contraintes mécaniques.

25 L'invention a également pour objet les différents types de conditionnement obtenus conformément au procédé, lesquels se présentent sous la forme soit d'une capsule seule, soit d'une capsule enfermée dans une enveloppe protectrice appelée conteneur.

A l'intérieur de la capsule est conservé une quantité d'ADN, par exemple
30 30 μg , suffisante pour effectuer un nombre substantiel de prises d'échantillons à tout moment.

L'ADN est déposé directement sur la capsule, ou sur une coupelle de verre introduite dans la capsule.

A chaque prise d'échantillon, la capsule est ouverte, la quantité désirée d'ADN est prélevée, le reste étant laissé dans la capsule, le conditionnement
5 étanche étant reconstitué. L'ADN prélevé est ensuite réhydraté à des fins d'analyse.

Un tel conditionnement est de nature à assurer une préservation pérenne du patrimoine génétique qui se trouve à l'abri notamment de l'oxydation et des rayonnements ionisants et ultraviolets ainsi que d'autres agressions chimiques
10 ou mécaniques.

D'autres caractéristiques et avantages ressortiront de la description qui va suivre de modes de mise en oeuvre du procédé de l'invention, description donnée à titre d'exemple uniquement et en regard du dessin annexé sur lequel la figure unique illustre schématiquement une structure d'un conditionnement
15 conforme à l'invention.

Préalablement à la mise en oeuvre de l'invention, l'ADN est extrait et purifié.

Ceci peut être opéré par toute méthode conventionnelle ou non. L'ADN peut être extrait à partir de n'importe quelles cellules de l'organisme.

A titre d'exemple, l'ADN est extrait à partir du sang ou de bulbes de cheveux, de cellules issues de la salive, de muqueuses ou de cellules de la peau. On met en oeuvre ensuite un processus de purification à plusieurs étapes, à savoir : désagrégation des cellules, élimination des protéines par digestion enzymatique, isolement/extraction de l'ADN, amplification par
20 polymérisation, si nécessaire, et conservation à l'abri des facteurs d'altération.

L'ADN ainsi préparé se présente sous la forme d'un précipité dans de l'alcool.

Le protocole ci-dessus est bien connu et peut être remplacé par tout autre procédé, existant ou nouveau.

L'ADN est alors, conformément à l'invention, placé dans une capsule métallique, inoxydable et étanche. Une telle encapsulation dite physique est effectuée dans une atmosphère constituée d'un ou plusieurs gaz inertes, tels
30

que des gaz rares et présentant un degré d'humidité très faible, de préférence inférieur à 1 ppm d'eau, ladite atmosphère étant à la pression atmosphérique.

Ceci est opéré par exemple à l'aide d'une boîte sèche conventionnelle.

La capsule, représentée schématiquement en 1 sur la figure 1 du dessin annexé, est par exemple une capsule d'or formée d'une petite cuvette circulaire fermée par un opercule serti à la presse à la périphérie de la cuvette.

Le diamètre de la capsule d'or est par exemple de l'ordre de 5 mm et son épaisseur de 2 à 3 mm.

La solidarisation étanche de la cuvette et de son opercule peut être effectuée par tout autre moyen approprié.

L'or est préférable à cause de sa malléabilité et de ses propriétés d'inoxidabilité et de non-contamination de l'ADN. En variante, un alliage à base d'or ou de platine peut être utilisé.

L'atmosphère lors de l'encapsulation est desséchée afin d'éviter l'hydrolyse et l'oxydation de l'ADN après sertissage.

La quantité d'ADN placée dans la capsule, par exemple une trentaine de microgrammes, est largement suffisante pour autoriser un nombre substantiel de prélèvements distincts d'ADN dans la capsule au cours de sa conservation.

Un tel conditionnement peut suffire pour pouvoir assurer la préservation pérenne du patrimoine génétique pendant des dizaines, voire des centaines de milliers d'années, dans la mesure bien entendu où ladite capsule reste intègre.

Ce conditionnement protège l'ADN en particulier vis à vis :

- des réactions d'hydrolyses chimiques ou enzymatiques ;
- de coupures induites par des rayonnements ultraviolets ou toute radiation ionisante telle que rayons X ou gamma ;
- de l'oxydation par l'oxygène de l'air.

Avantageusement et pour renforcer la préservation de l'ADN, la capsule 1, à savoir ladite capsule d'or, est elle-même enfermée dans un conteneur étanche 2 en un matériau présentant de bonnes propriétés mécaniques, de façon à mieux protéger la capsule 1 vis à vis d'agressions mécaniques, en particulier les vibrations, les chocs et l'écrasement, ou toute autre agression, par exemple une élévation de température et, d'une manière

générale, de façon à protéger ladite capsule contre l'environnement, qu'il soit normal ou anormal.

Le conteneur 2 peut être une sorte de petit boîtier en deux parties 2a, 2b, scellées ou solidarisées par tout autre moyen pour assurer l'intégrité et
5 l'étanchéité de l'ensemble.

Le conteneur 2 peut être par exemple en un matériau approprié, par exemple céramique, composite, métallique, ou polymère.

Suivant un autre mode de mise en oeuvre du procédé de l'invention, l'ADN dûment préparé est, avant mise en place dans la capsule 1, soumis à
10 une encapsulation dite chimique.

A cet effet, l'ADN est enrobé dans un polymère ou copolymère inerte vis à vis de l'ADN, à des fins de renforcement de la protection à l'égard des facteurs d'altération, les molécules d'ADN étant à l'abri dans les pores du (co)polymère.

15 Le matériau d'enrobage est choisi de telle sorte qu'il puisse être dissous ultérieurement afin de pouvoir récupérer les molécules d'ADN.

Tout (co)polymère peut convenir, excepté ceux risquant de réagir contre la molécule ADN, ceux qui empêcheront la redissolution ultérieure de l'ADN et ceux qui nécessitent pour une telle redissolution un solvant acide, c'est-à-dire
20 ayant un pH inférieur ou égal à 4 environ.

On peut réaliser une telle encapsulation chimique en plaçant le matériau ADN dûment préparé, par exemple une pelote d'ADN obtenue par précipitation, dans une solution d'acide acrylique ou polyacrylique dans de
l'alcool méthylique.

25 Par exemple, on met en solution dans 50 cm³ d'alcool méthylique 1 g d'acide acrylique ou polyacrylique. L'alcool est lentement évaporé jusqu'à l'obtention d'un gel visqueux. Un amas d'ADN d'environ 1 mm³ en suspension dans une solution alcoolique est placé au sein de ce gel.

L'ensemble est desséché à 50°C jusqu'à l'obtention d'un bloc solide
30 contenant l'ADN, lequel est ensuite mis en place dans la capsule 1 suivant le processus exposé plus haut, avec cette différence qu'il n'est plus nécessaire d'opérer dans une boîte sèche, l'atmosphère neutre étant maintenue.

Ultérieurement et à tout moment, après ouverture des enveloppes 1 et 2, l'ADN peut être désencapsulé par immersion pendant 1 heure dans de l'alcool éthylique. On obtient à nouveau un amas de molécules identique à celui obtenu par le processus de purification.

5 Suivant un autre exemple mettant en oeuvre un autre (co)polymère, on prépare une solution de 1g de métacrylate ou polymétacrylate de méthyle dissous dans 50 cm³ de dichlorométhane. Le solvant est évaporé jusqu'à obtention d'un gel visqueux. Un amas d'ADN d'environ 1 mm³ en suspension dans une solution alcoolique est placé au sein de ce gel. L'ensemble est
10 desséché à 50°C jusqu'à obtention d'un bloc solide contenant l'ADN, lequel est ensuite mis en place dans la capsule 1 dans les mêmes conditions que l'exemple précédent.

Ultérieurement et à tout moment, après ouverture des enveloppes 1 et 2, l'ADN initial peut être régénéré par dissolution du (co)polymère par le
15 dichlorométhane.

Suivant une variante de telles encapsulations chimiques, le (co)polymère est associé à des molécules organiques et/ou des sels inorganiques à des fins de meilleure protection vis à vis des rayonnements ultraviolets et des radiations ionisantes. On peut notamment ajouter au (co)polymère des ions de
20 métaux lourds dans la mesure toutefois où il n'y a pas de risques de lésion de l'ADN.

Suivant un exemple, on dissous 1g d'acrylamide ou de polyacrylamide dans 25 cm³ d'eau distillée. On ajoute à la solution 50 mg d'acétate de cuivre et 50 mg d'acétate de zinc. L'eau est évaporée lentement jusqu'à obtention
25 d'un gel visqueux. Un amas d'ADN d'environ 1 mm³ en suspension dans une solution alcoolique est placé au sein de ce gel. L'ensemble est desséché à 50°C jusqu'à obtention d'un bloc solide contenant l'ADN, lequel est ensuite mis en place dans la capsule 1 dans les mêmes conditions que les exemples précédents.

30 Il est à noter que l'encapsulation chimique à l'aide d'un (co)polymère présente l'avantage de réaliser une polymérisation en billes individuelles, ce qui

rend plus pratique les prélèvements ultérieurs d'ADN, puisqu'il suffit de retirer de la capsule une bille, sans toucher aux autres.

Comme polymère utilisable selon l'invention, on peut également citer l'agarose.

5 Enfin, l'invention n'est évidemment pas limitée aux modes de mise en oeuvre illustrés ci-dessus mais en couvre au contraire toutes les variantes, notamment en ce qui concerne la nature des matériaux constitutifs des capsules 1 ou conteneurs 2, les conditions d'encapsulations physique et chimique, la nature du (co)polymère d'encapsulation chimique et de ses
10 éventuels additifs, ainsi que les forme et dimensions desdites capsules 1 ou conteneurs 2.

C'est ainsi qu'en variante l'ADN peut être déposé sur une coupelle de verre, notamment un verre sodo-calcique, telle que celle schématisée en 3 sur la figure 2 du dessin annexé.

15 L'ADN adhère au verre de la coupelle 3 qui peut présenter, à titre d'exemple, un diamètre de 7 mm et une hauteur de 1,2 mm, ladite coupelle 3 étant enfermée de manière étanche dans la capsule 1.

RE V E N D I C A T I O N S

1. Procédé de conservation de longue durée de molécules d'ADN, caractérisé en ce qu'il consiste, après extraction et purification de l'ADN par toute technique appropriée, conventionnelle ou non, à effectuer une encapsulation dans une capsule (1) métallique, inoxydable, étanche, de la
5 molécule d'ADN préalablement déshumidifiée.

2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que l'ADN est encapsulé dans une atmosphère constituée d'un ou plusieurs gaz inertes et présentant un degré d'humidité inférieur ou égal à 1 ppm d'eau.

3. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'avant ladite
10 encapsulation physique, l'ADN est soumis à une encapsulation chimique par enrobage dans un (co)polymère approprié.

4. Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce que l'encapsulation chimique est effectuée à l'aide d'un hybride constitué dudit (co)polymère, de molécules organiques et/ou de sels inorganiques, à des fins
15 de protection renforcée de l'ADN à l'égard des rayonnements ultraviolets ou ionisants.

5. Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce que l'hybride est constitué d'un (co)polymère et d'ions de métaux lourds.

6. Procédé suivant l'une des revendications 3 à 5, caractérisé en ce que
20 le (co)polymère et ses éventuels additifs organiques ou inorganiques sont dissous dans un solvant, évaporé ensuite jusqu'à obtention d'un gel visqueux, puis un amas déterminé d'ADN en suspension dans une solution alcoolique est placé au sein dudit gel et l'ensemble est desséché à une température appropriée jusqu'à l'obtention d'un bloc solide contenant l'ADN.

7. Procédé suivant la revendication 6, caractérisé en ce que
25 l'encapsulation chimique est suivie d'une encapsulation dans une capsule (1) métallique, inoxydable, étanche, dans une atmosphère constituée d'un ou plusieurs gaz inertes.

8. Procédé suivant l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que ladite capsule (1) est placée dans un conteneur étanche (2) résistant aux chocs et à l'écrasement.

5 9. Procédé suivant l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'avant son encapsulage dans la capsule métallique (1), l'ADN est déposé sur une coupelle de verre.

10 10. Conditionnement de conservation obtenu conformément au procédé de l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il est constitué d'une capsule (1) en métal ou alliage métallique malléable et présentant des propriétés d'inoxidabilité et de non-contamination de l'ADN, fermée de manière étanche par un opercule par tous moyens appropriés, notamment un sertissage.

15 11. Conditionnement selon la revendication 10, plus particulièrement destiné à la mise en oeuvre du procédé de la revendication 8, caractérisé en ce qu'il est enfermé dans un conteneur (2) dans un matériau choisi dans le groupe comprenant les céramiques, les composites, les métaux, les polymères.

20 12. Conditionnement selon la revendication 10 ou 11, plus particulièrement destiné à la mise en oeuvre du procédé de la revendication 9, caractérisé en ce qu'il comporte, à l'intérieur de la capsule métallique (1), une coupelle en verre (3) sur laquelle est déposé l'ADN.

13. Conditionnement selon la revendication 12, caractérisé en ce que la coupelle (3) est constituée d'un verre sodo-calcique.

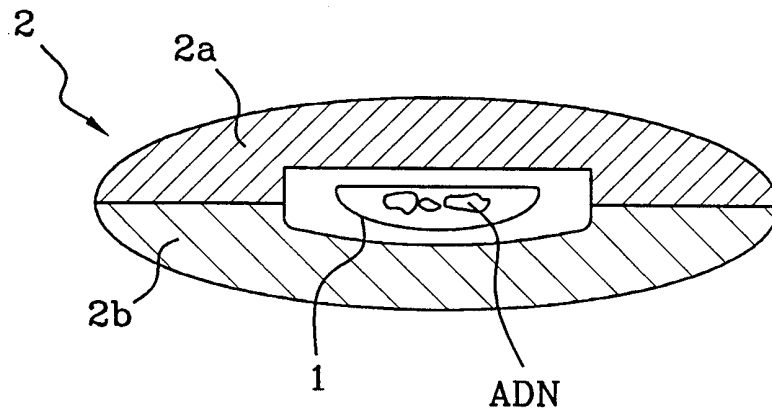


FIG.1

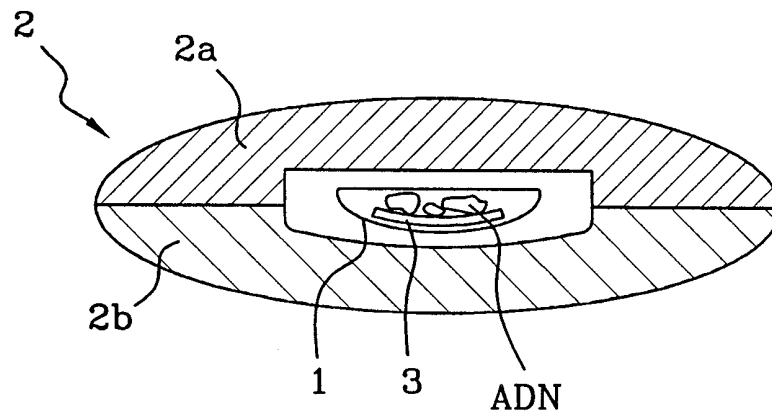


FIG.2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/00912

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 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 6 C12N

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.
E, L	FR 2 755 440 A (TUFFET S.; DE SOUZA D.G.; PORTIER J.; BONNET J.; CAMPET G.; NOEL T.) 7 May 1998 L: priority see the whole document ---	1-8, 10, 11
X	DE 297 15 707 U (HUBER MATTHIAS C. (DE)) 2 January 1998 see page 1, paragraph 2-3 see page 3, paragraph 2 ---	1-3, 6-8, 10, 11
Y	US 5 565 318 A (PHARMACIA BIOTECH INC (US); WALKER; DIFRANCESCO; HEASTER; JOLLY ET AL.) 15 October 1996 see column 7, line 3-10 see column 10, line 59-61 see column 15 - column 16; claims ---	1-3, 6-13
	-/--	

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

25 January 1999

Date of mailing of the international search report

29/01/1999

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

Macchia, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter nal Application No

PCT/FR 98/00912

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 4 806 368 A (MALIREDDY S. REDDY (US)) 21 February 1989 see column 3, line 67-68 ----	1-3,6-8, 10,11
Y	DE 41 19 574 A (DIAGEN INSTITUT MOLEKULARBIOLOGISCHE DIAGNOSTIK (DE); HENCO; COLPAN) 17 December 1992 see column 1, line 20-24 see column 2, line 6-12 ----	9,12,13
A	EP 0 383 569 A (PAFRA LIMITED (GB); FRANKS F.; HATLEY R.H.M.) 22 August 1990 see page 3, line 26-29 see page 7, line 29-44; example 2 see page 11 - page 12; claims ----	1-3,6
A	EP 0 166 529 A (ELI LILLY AND COMPANY (US); MASSEY E.H.; SHELIGA T.A.) 2 January 1986 see page 1, line 19-22 ----	1
A	WO 90 03959 A (THE FLINDERS UNIVERSITY OF SOUTH AUSTRALIA (AU); BURGoyNE LEIGH A.) 19 April 1990 see page 3, line 17 - page 4, line 29 see page 9, line 20-36 ----	3
A	WO 90 03036 A (SMID JOHANNES (NL); DELAVIZ YADOLLAH (IR); CABASSO ISRAEL (US)) 22 March 1990 see page 3, line 1 - page 7, line 17 see page 12, line 16-18 see page 13, line 12-21 ----	4,5
A	EP 0 242 294 A (AEROSPATIALE SOCIÉTÉ NATIONALE INDUSTRIELLE (FR); VALY Y. ET AL.) 21 October 1987 see column 3, line 21-43 see column 6, line 28 - column 7, line 15 ----	4,5
A	US 3 609 372 A (VOGEL REINHARD ERNST (DE); FRIEDRICH MARXEN VADUZ (LI)) 28 September 1971 see abstract ----	4,5
A	US 3 200 085 A (GUGLIELMO R.J. (US); BARBER A.L. JR. (US)) 10 August 1965 -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/00912

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2755440	A	07-05-1998	NONE	
DE 29715707	U	02-01-1998	NONE	
US 5565318	A	15-10-1996	US 5593824 A US 5763157 A	14-01-1997 09-06-1998
US 4806368	A	21-02-1989	NONE	
DE 4119574	A	17-12-1992	NONE	
EP 0383569	A	22-08-1990	AU 622978 B AU 4924490 A CA 2010058 A DE 69008891 D DE 69008891 T DK 383569 T JP 2265984 A US 5098893 A	30-04-1992 30-08-1990 16-08-1990 23-06-1994 03-11-1994 05-09-1994 30-10-1990 24-03-1992
EP 0166529	A	02-01-1986	CA 1244347 A DK 236185 A JP 61022026 A US 4839341 A	08-11-1988 30-11-1985 30-01-1986 13-06-1989
WO 9003959	A	19-04-1990	CA 2000192 A US 5496562 A	05-04-1990 05-03-1996
WO 9003036	A	22-03-1990	EP 0387348 A	19-09-1990
EP 0242294	A	21-10-1987	FR 2597651 A CA 1298698 A JP 62250399 A	23-10-1987 14-04-1992 31-10-1987
US 3609372	A	28-09-1971	BE 686789 A FR 1489444 A GB 1110181 A US 3434978 A CH 533578 A DE 1944873 A FR 2027514 A GB 1260342 A	15-02-1967 30-10-1967 25-03-1969 28-02-1973 17-09-1970 02-10-1970 12-01-1972
US 3200085	A	10-08-1965	CA 669378 A DE 1469824 A FR 1272072 A GB 904774 A	 06-02-1969 24-01-1962

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Der. e Internationale No

PCT/FR 98/00912

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 6 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 6 C12N

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)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
E, L	FR 2 755 440 A (TUFFET S.; DE SOUZA D.G.; PORTIER J.; BONNET J.; CAMPET G.; NOEL T.) 7 mai 1998 L: priority voir le document en entier ---	1-8, 10, 11
X	DE 297 15 707 U (HUBER MATTHIAS C. (DE)) 2 janvier 1998 voir page 1, alinéa 2-3 voir page 3, alinéa 2 ---	1-3, 6-8, 10, 11
Y	US 5 565 318 A (PHARMACIA BIOTECH INC (US); WALKER; DIFRANCESCO; HEASTER; JOLLY ET AL.) 15 octobre 1996 voir colonne 7, ligne 3-10 voir colonne 10, ligne 59-61 voir colonne 15 - colonne 16; revendications ---	1-3, 6-13
-/--		

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

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

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

25 janvier 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

29/01/1999

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

Macchia, G

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem	Internationale No
PCT/FR 98/00912	

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	US 4 806 368 A (MALIREDDY S. REDDY (US)) 21 février 1989 voir colonne 3, ligne 67-68 ---	1-3,6-8, 10,11
Y	DE 41 19 574 A (DIAGEN INSTITUT MOLEKULARBIOLOGISCHE DIAGNOSTIK (DE); HENCO; COLPAN) 17 décembre 1992 voir colonne 1, ligne 20-24 voir colonne 2, ligne 6-12 ---	9,12,13
A	EP 0 383 569 A (PAFRA LIMITED (GB); FRANKS F.; HATLEY R.H.M.) 22 août 1990 voir page 3, ligne 26-29 voir page 7, ligne 29-44; exemple 2 voir page 11 - page 12; revendications ---	1-3,6
A	EP 0 166 529 A (ELI LILLY AND COMPANY (US); MASSEY E.H.; SHELIGA T.A.) 2 janvier 1986 voir page 1, ligne 19-22 ---	1
A	WO 90 03959 A (THE FLINDERS UNIVERSITY OF SOUTH AUSTRALIA (AU); BURGOYNE LEIGH A.) 19 avril 1990 voir page 3, ligne 17 - page 4, ligne 29 voir page 9, ligne 20-36 ---	3
A	WO 90 03036 A (SMID JOHANNES (NL); DELAVIZ YADOLLAH (IR); CABASSO ISRAEL (US)) 22 mars 1990 voir page 3, ligne 1 - page 7, ligne 17 voir page 12, ligne 16-18 voir page 13, ligne 12-21 ---	4,5
A	EP 0 242 294 A (AEROSPATIALE SOCIÉTÉ NATIONALE INDUSTRIELLE (FR); VALY Y. ET AL.) 21 octobre 1987 voir colonne 3, ligne 21-43 voir colonne 6, ligne 28 - colonne 7, ligne 15 ---	4,5
A	US 3 609 372 A (VOGEL REINHARD ERNST (DE); FRIEDRICH MARXEN VADUZ (LI)) 28 septembre 1971 voir abrégé ---	4,5
A	US 3 200 085 A (GUGLIELMO R.J. (US); BARBER A.L. JR. (US)) 10 août 1965 -----	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem Internationale No

PCT/FR 98/00912

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2755440	A	07-05-1998	AUCUN	
DE 29715707	U	02-01-1998	AUCUN	
US 5565318	A	15-10-1996	US 5593824 A US 5763157 A	14-01-1997 09-06-1998
US 4806368	A	21-02-1989	AUCUN	
DE 4119574	A	17-12-1992	AUCUN	
EP 0383569	A	22-08-1990	AU 622978 B AU 4924490 A CA 2010058 A DE 69008891 D DE 69008891 T DK 383569 T JP 2265984 A US 5098893 A	30-04-1992 30-08-1990 16-08-1990 23-06-1994 03-11-1994 05-09-1994 30-10-1990 24-03-1992
EP 0166529	A	02-01-1986	CA 1244347 A DK 236185 A JP 61022026 A US 4839341 A	08-11-1988 30-11-1985 30-01-1986 13-06-1989
WO 9003959	A	19-04-1990	CA 2000192 A US 5496562 A	05-04-1990 05-03-1996
WO 9003036	A	22-03-1990	EP 0387348 A	19-09-1990
EP 0242294	A	21-10-1987	FR 2597651 A CA 1298698 A JP 62250399 A	23-10-1987 14-04-1992 31-10-1987
US 3609372	A	28-09-1971	BE 686789 A FR 1489444 A GB 1110181 A US 3434978 A CH 533578 A DE 1944873 A FR 2027514 A GB 1260342 A	15-02-1967 30-10-1967 25-03-1969 28-02-1973 17-09-1970 02-10-1970 12-01-1972
US 3200085	A	10-08-1965	CA 669378 A DE 1469824 A FR 1272072 A GB 904774 A	 06-02-1969 24-01-1962