

Title (en)

NUCLEIC ACID AMPLIFICATION BY TWO-ENZYME, SELF-SUSTAINED SEQUENCE REPLICATION.

Title (de)

NUKLEINSÄUREAMPLIFIZIERUNG DURCH ZWEI-ENZYM, SELBSTTRAGENDE SEQUENZREPLIKATION.

Title (fr)

AMPLIFICATION D'ACIDES NUCLEIQUES PAR REPLICATION BI-ENZYMATIQUE AUTO-ENTRETENUE DE SEQUENCES.

Publication

**EP 0572417 A1 19931208 (EN)**

Application

**EP 92901557 A 19911113**

Priority

- US 61268890 A 19901113
- US 9108488 W 19911113

Abstract (en)

[origin: WO9208800A1] Novel methods are provided for nucleic acid amplification by continuous, substantially isothermal, self-sustained sequence replication ("3SR") utilizing RNA-dependent DNA polymerase activity, DNA-dependent DNA polymerase activity, RNase H activity and DNA-dependent RNA polymerase activity. In one of the methods, before enzymatic activities can be provided by only two enzymes, a reverse transcriptase and a DNA-dependent RNA polymerase. The methods may employ two or three enzymes to provide the necessary enzymatic activities. Thus, in certain of the methods, an exogenous source of RNase H, such as E. coli RNase H, is employed in combination with a reverse transcriptase and a DNA-dependent RNA polymerase. In other of the methods of the present invention, reaction media are employed in which the inherent RNase H activity of retroviral reverse transcriptases is effective to provide high levels of amplification so that only two enzymes, reverse transcriptase and DNA-dependent RNA polymerase, are required. Novel compositions for carrying out the methods of the present invention are also provided.

Abstract (fr)

Nouveaux procédés d'amplification d'acides nucléiques par réplication continue auto-entretenue, essentiellement isothermique, de séquences ("3SR") exploitant l'activité d'ADN polymérase dépendant de l'ARN, l'activité d'ADN polymérase dépendant de l'ADN, l'activité d'RNase H et l'activité d'ARN polymérase dépendant de l'ADN. Dans l'un des procédés, des activités enzymatiques sont assurées par uniquement deux enzymes, une transcriptase inverse et une ARN polymérase dépendant d'ADN. Ces procédés peuvent employer deux ou trois enzymes qui assurent les activités enzymatiques nécessaires. On emploie ainsi, dans certains procédés, une source exogène d'RNase H, telle que l'RNase H d'E. coli, en combinaison avec une transcriptase inverse et une ARN polymérase dépendant d'ADN. Dans d'autres procédés de la présente invention, on utilise des milieux de réaction dans lesquels l'activité d'RNase H inhérente des transcriptases inverses rétrovirales permet d'atteindre des niveaux élevés d'amplification, de sorte qu'uniquement deux enzymes, à savoir une transcriptase inverse et une ARN polymérase dépendant d'ADN, sont nécessaires. On décrit également de nouvelles compositions permettant d'exécuter les procédés de la présente invention.

IPC 1-7

**C12P 19/34; C12Q 1/68; C07H 15/12; C07H 17/00**

IPC 8 full level

**C12N 15/09** (2006.01); **C07H 21/00** (2006.01); **C12N 15/10** (2006.01); **C12P 19/34** (2006.01); **C12Q 1/68** (2006.01)

IPC 8 main group level

**C12Q** (2006.01)

CPC (source: EP)

**C12N 15/10** (2013.01); **C12Q 1/6865** (2013.01)

Designated contracting state (EPC)

AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

DOCDB simple family (publication)

**WO 9208800 A1 19920529;** AU 9131591 A 19920611; CA 2096013 A1 19920514; EP 0572417 A1 19931208; EP 0572417 A4 19941123; FI 932144 A0 19930512; FI 932144 A 19930512; HU 9301369 D0 19931028; HU T69772 A 19950928; IE 913930 A1 19920617; IL 100040 A0 19920818; IL 100040 A 19951231; JP H06502767 A 19940331; NO 931709 D0 19930511; NO 931709 L 19930712; NZ 240574 A 19941026; PT 99500 A 19921030; ZA 918965 B 19920826

DOCDB simple family (application)

**US 9108488 W 19911113;** AU 9131591 A 19911113; CA 2096013 A 19911113; EP 92901557 A 19911113; FI 932144 A 19930512; HU P9301369 A 19911113; IE 393091 A 19911112; IL 10004091 A 19911112; JP 50228691 A 19911113; NO 931709 A 19930511; NZ 24057491 A 19911113; PT 9950091 A 19911113; ZA 918965 A 19911112