

Title (en)  
SINGLE STEP AMPLIFICATION AND SEQUENCING OF NUCLEIC ACIDS.

Title (de)  
EINSCHRITT-AMPLIFIKATION UND SEQUENZIERUNG VON NUKLEINSÄUREN.

Title (fr)  
AMPLIFICATION ET SEQUEN AGE D'ACIDES NUCLEIQUES EN UNE ETAPE.

Publication  
**EP 0595982 A1 19940511 (EN)**

Application  
**EP 92916411 A 19920723**

Priority  
• AU 9200372 W 19920723  
• AU PK740091 A 19910724

Abstract (en)  
[origin: WO9302212A1] Method for the amplification and sequencing of DNA or RNA. The method comprises the steps of (i) melting a double stranded nucleic acid to yield a pair of complementary nucleic acid strands, (ii) hybridising a primer to each of the strands, the primers being so chosen that the primer annealing to the sense strand is 3' to the position of the primer on the antisense strand, one of the primers being labelled so as to be capable of being visualized independently of the other primer, (iii) causing a polymerase enzyme to amplify the nucleic acid in the presence of a dideoxynucleotide analogue of one of the nucleotides present in the nucleic acid, the dideoxy analogue being present in such a concentration that a majority of the newly synthesised nucleic acid strands are terminated by incorporation of dideoxynucleotides without extending far enough to act as templates for synthesis of the opposite strand using the second primer, (iv) repeating steps (i) to (iii) sequentially a number of times, (v) repeating the steps (i) to (iv) using at least another two dideoxynucleotide analogues of the other three nucleotides present in the nucleic acid, and (vi) electrophoretically separating the reaction products of each of the repetitions of steps (i) to (iv) and visualizing the labelled strands. The other of the nucleotides of at least a part of the strand of the nucleic acid to which the labelled primer annealed between the binding sites may be determined by comparing the separated and visualized gels for each of the nucleotide analogues used.

Abstract (fr)  
Procédé d'amplification et de séquençage d'ADN et d'ARN. Le procédé comprend les étapes suivantes: 1) à fusionner un acide nucléique à double brin pour obtenir une paire de brins d'acide nucléique complémentaires, 2) à hybrider une amorce à chacun des brins, les amorces étant choisies de telle sorte que la recircularisation de l'amorce sur le brin codant est en 3' par rapport à la position de l'amorce du brin non codant, une des amorces étant marquée de manière à être visualisée indépendamment de l'autre amorce, 3) à faire amplifier l'acide nucléique à une polymérase en présence d'un analogue de didésoxynucléotide à l'un des nucléotides présents dans l'acide nucléique, l'analogue de didésoxy étant présent dans une telle concentration que la majorité des brins d'acide nucléique nouvellement synthétisés sont terminés par l'incorporation de didésoxynucléotides sans s'étendre assez loin pour agir comme gabarits de synthèse du brin opposé au moyen de la seconde amorce, 4) à répéter les étapes 1 à 3 séquentiellement un certain nombre de fois, 5) à répéter les étapes 1 à 4 en utilisant au moins deux autres analogues de didésoxynucléotides des autres 3 nucléotides présents dans l'acide nucléique et 6) à séparer par électrophorèse les produits de réaction de chacune des répétitions des étapes 1 à 4 et à visualiser les brins marqués. L'autre des nucléotides d'au moins une partie du brin de l'acide nucléique, sur lequel l'amorce marquée recircularisée entre les sites de liaison, peut être déterminé en comparant les gels séparés et visualisés pour chacun des analogues de nucléotides utilisés.

IPC 1-7  
**C12Q 1/68**

IPC 8 full level  
**C12Q 1/68** (2006.01); **C12Q 1/6869** (2018.01)

CPC (source: EP)  
**C12Q 1/6869** (2013.01)

Designated contracting state (EPC)  
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU MC NL SE

DOCDB simple family (publication)  
**WO 9302212 A1 19930204**; CA 2114124 A1 19930204; EP 0595982 A1 19940511; EP 0595982 A4 19951011; JP H07500004 A 19950105

DOCDB simple family (application)  
**AU 9200372 W 19920723**; CA 2114124 A 19920723; EP 92916411 A 19920723; JP 50249093 A 19920723