

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(10) 国际公布号
WO 2024/260438 A1

(43) 国际公布日

2024 年 12 月 26 日 (26.12.2024)

WIPO | PCT

(51) 国际专利分类号:

C12N 15/70 (2006.01) *C12N 15/11* (2006.01)
C12N 15/113 (2010.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/100559

(22) 国际申请日: 2024 年 6 月 21 日 (21.06.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202310743161.9 2023年6月21日 (21.06.2023) CN

(71) 申请人:南京金斯瑞生物科技有限公司(NANJING GENSRIPT BIOTECH CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号, Jiangsu 211100 (CN)。

(72) 发明人:周帆(ZHOU, Fan); 中国江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号, Jiangsu 211100 (CN)。张璐(ZHANG, Lu); 中国江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号, Jiangsu 211100 (CN)。叶露萌(YE, Lumeng); 中国江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号, Jiangsu 211100 (CN)。李竑(LI, Hong); 中国江苏省南京市江宁科学园雍熙路 28 号, Jiangsu 211100 (CN)。

(74) 代理人:北京市道可特律师事务所(BEIJING DOCVIT LAW FIRM); 中国北京市朝阳区东三环中路 5 号财富金融中心 56 层 01-2 室, Beijing 100022 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

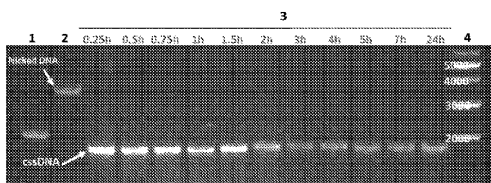
(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

(54) Title: METHOD FOR PREPARING SINGLE-STRANDED DNA USING CAS NICKING ENZYME

(54) 发明名称: 一种利用Cas切口酶制备单链DNA的方法



1. 图1b-亲本质粒 AA
2. 图1b-亲本质粒-缺刻DNA BB
3. 图1b-亲本质粒-ssDNA CC
4. Kb Ladder Marker DD

图 5

AA FIG. 1b-parent plasmid
BB FIG. 1b-parent plasmid-nicking DNA
CC FIG. 1b-parent plasmid-ssDNA
DD Kb Ladder Marker

(57) Abstract: A method for preparing a single-stranded DNA using a CAS nicking enzyme. The method solves the problem of limited enzyme cleavage sites when a traditional nickase is used, and multiple gRNAs can be used in one enzyme digestion system for multi-point nicking. The plasmid nicking efficiency is improved, and the digestion efficiency of the subsequent exonuclease is also effectively improved.

(57) 摘要: 一种利用Cas切口酶制备单链DNA的方法, 所述方法解决了传统缺刻酶使用时酶切位点受限的问题, 并且可以一个酶切体系中使用多个gRNA, 进行多点缺刻, 提高质粒缺刻效率的同时, 也有效的提高了后续核酸外切酶的消化效率。

WO 2024/260438 A1