

(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

(43) 国际公布日
2023 年 6 月 15 日 (15.06.2023)



(10) 国际公布号
WO 2023/103530 A1

(51) 国际专利分类号:
C12Q 1/6858 (2018.01) *C12N 15/11* (2006.01)
C12Q 1/6886 (2018.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/120663

(22) 国际申请日: 2022 年 9 月 22 日 (22.09.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

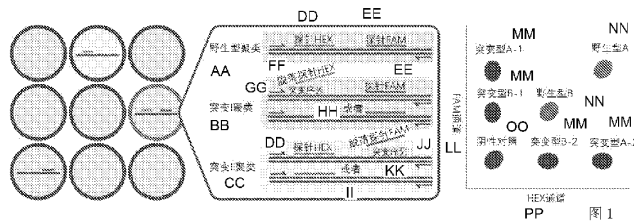
(30) 优先权:
202111503229.3 2021 年 12 月 9 日 (09.12.2021) CN

(71) 申请人: 南京普济生物有限公司 (NANJING
PREGENE BIOTECHNOLOGY CO., LTD) [CN/CN];
中国江苏省南京市江北新区星晖路 71 号加速器
六期 8 栋 4 层, Jiangsu 211899 (CN)。

(72) 发明人: 尚午 (SHANG, Wu); 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路 3-1, 中丹生态生命科学产业园二期 C 座 3 层西侧, Jiangsu 210008 (CN)。王友祥 (WANG, Youxiang); 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路 3-1, 中丹生态生命科学产业园二期 C 座 3 层西侧, Jiangsu 210008 (CN)。杨志颖 (YANG, Zhijie); 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路 3-1, 中丹生态生命科学产业园二期 C 座 3 层西侧, Jiangsu 210008 (CN)。张毅良 (ZHANG, Yiliang); 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路 3-1 号, 中丹生态生命科学产业园二期 C 座 3 层西侧, Jiangsu 210008 (CN)。蒋正欣 (JIANG, Zhengxin); 中国江苏省南京市江北新区新锦湖路 3-1 号, 中丹生态生命科学产业园二期 C 座 3 层西侧, Jiangsu 210008 (CN)。

(54) Title: DIGITAL AMPLIFICATION DETECTION METHOD, DETECTION PRODUCT AND DETECTION KIT FOR SIMULTANEOUSLY IDENTIFYING MULTIPLE GENE TYPES

(54) 发明名称: 用于同时识别多种基因类型的数字扩增检测方法、检测产品和检测试剂盒



AA Wild type cluster
BB Mutation I cluster
CC Mutation II cluster
DD Probe HEX
EE Probe FAM
FF Droplet probe HEX
GG Mutation sequence
HH Or
II Or
JJ Droplet probe FAM
KK Mutation sequence
LL FAM channel
MM Mutant type
NN Wild type
OO Negative control
PP HEX channel

(57) Abstract: Disclosed in the present application are a digital amplification detection method, detection product and detection kit for simultaneously identifying multiple gene types, which relate to the technical field of gene detection. The detection method comprises: S1, obtaining sample DNA by means of extraction; and preparing a primer-probe mixed liquid, which includes: synthesizing primers and probes, wherein for each target gene, at least two probes that bind to the target gene are designed, and modifying the primers with a

[见续页]

(74) 代理人: 江苏圣典律师事务所(JIANGSU SUNDY LAW FIRM); 中国江苏省南京市建邺区奥体大街68号4A栋6层, Jiangsu 210019 (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, ME, MG, MK, MN, 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, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, 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, 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)。

根据细则4.17的声明:

— 发明人资格(细则4.17(iv))

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))。

small molecule compound and a nucleotide sequence capable of forming a secondary structure to obtain the primer-probe mixed liquid; S2, performing a PCR reaction; and S3, analyzing detection data to obtain the gene types of different loci.

(57) 摘要: 本申请公开了用于同时识别多种基因类型的数字扩增检测方法、检测产品和检测试剂盒, 涉及基因检测技术领域; 该检测方法包括: S1、提取得到样本DNA; 制备引物探针混合液, 包括: 合成引物和探针, 每个目标基因至少设计两个结合目标基因的探针, 引物上修饰有小分子化合物和能够形成二级结构的核苷酸序列, 得到引物探针混合液; S2、进行PCR反应; S3、对检测数据进行分析, 得到不同位点的基因类型。