(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
22. März 2007 (22.03.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/031546 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12N 15/10 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/066335

(22) Internationales Anmeldedatum:
13. September 2006 (13.09.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
05019914.0 13. September 2005 (13.09.2005) EP

(71) Anmelder *(für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US)*: **QIAGEN GMBH** [DE/DE]; Qiagen Str.1, 40724 Hilden (DE).

(71) Anmelder *(nur für DE)*: **FORSCHUNGSZENTRUM JÜLICH GMBH** [DE/DE]; 52425 Jülich (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder *(nur für US)*: **MÜLLER, Markus** [DE/DE]; Im Ückerath 100, 41542 Dormagen (DE). **KULA, Maria-Regina** [DE/DE]; Geigenberger Str. 35, 81477 München (DE). **HUBBUCH, Jürgen** [DE/DE]; Schleidener Str. 13, 50937 Köln (DE). **FRERIX, Andreas** [DE/DE]; Steinchensweg 5, 47546 Kalkar-Kehrum (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: **QIAGEN GMBH**; Qiagen Str.1, IP & L, Postcode 870, 40724 Hilden (DE).

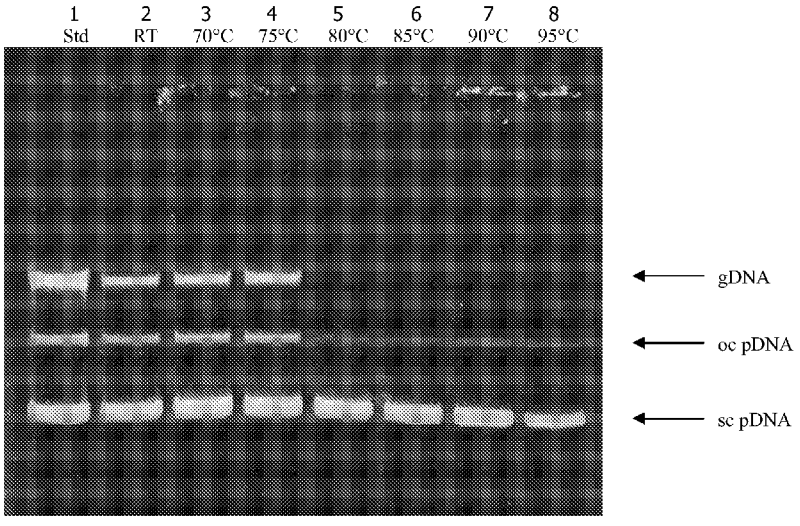
(81) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart)*: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten *(soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart)*: ARIPO (BW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR THE SELECTIVE ENRICHMENT OF DOUBLE-STRANDED DNA FROM NUCLEIC ACID MIXTURES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR SELEKTIVEN ANREICHERUNG VON DOPPELSTRÄNGIGER DNA AUS NUKLEINSÄUREGEMISCHEN



(57) Abstract: The invention relates to a method for stripping undesired nucleic acid components from double-stranded DNA, in particular, super-coiled plasmid DNA. The method is characterised by the steps: (a) provision of a mixture containing completely and/or partly double-stranded nucleic acids and optionally single-stranded nucleic acids, (b) resuspension of the mixture from (a) in an aqueous, low-concentration buffer system with low ion strength and low buffer effect, (c) adjustment of the conditions in the mixture from (b), to those where the completely and/or partly double-stranded nucleic acids are denatured, (d) further addition of buffer and a polymer component to the mixture from (c), (e) incubation of the mixture from (d) for a time which is sufficient for the formation of an aqueous two-phase system with an upper and lower phase and (f) removal of the upper phase containing the single-strand nucleic acids and isolation of the double-strand nucleic acids from the lower phase.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2007/031546 A1

GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— *mit internationalem Recherchenbericht*

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Abreicherung unerwünschter Nukleinsäurebestandteile von doppelsträngiger DNA, insbesondere super-coiled Plasmid- DNA. Das erfindungsgemäße Verfahren ist gekennzeichnet durch die Schritte (a) Zurverfügungstellen eines Gemischs enthaltend vollständig und/oder teilweise doppelsträngige Nukleinsäuren sowie gegebenenfalls einzelsträngige Nukleinsäuren; (b) Resuspendieren des unter Punkt (a) genannten Gemischs in einem wäßrigen, niedermolaren Puffersystem mit niedriger Ionenstärke und geringer Pufferwirkung; (c) Einstellen von Bedingungen in dem Gemisch gemäß Schritt (b), bei welchen die vo llständig und/oder teilweise doppelsträngigen Nukleinsäuren denaturiert werden; (d) weitere Zugabe von Puffer und einer Polymerkomponente zu dem Gemisch gemäß Schritt (c); (e) Inkubation des Gemischs gemäß Schritt (d) für einen Zeitraum, der ausreicht, ein wäßriges Zwei- Phasensystem mit einer Ober- und einer Unterphase auszubilden; und (f) Entfernen der Einzelstrang-Nukleinsäure enthaltenden Oberphase und Auffangen der Doppelstrang- Nukleinsäure aus der Unterphase.