

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 543**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2010 PCT/EP2010/055473**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.10.2010 WO10122159**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2010 E 10716821 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.09.2016 EP 2421990**

54 Título: **Composiciones para uso en marcaje de seguridad**

30 Prioridad:

24.04.2009 GB 0907100

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

24.03.2017

73 Titular/es:

**SELECTAMARK SECURITY SYSTEMS PLC
(100.0%)
The Gatehouse 1 Locks Court 429 Crofton Road
Locksbottom, Kent BR6 8NL, GB**

72 Inventor/es:

**BROWN, JASON y
REICHERT, BAS**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 606 543 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones para uso en marcaje de seguridad

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones conteniendo nucleótidos sintéticos, métodos de fabricar dichas composiciones, uso de las composiciones en marcaje de seguridad de propiedad y/o para marcar un ladrón o agresor, y métodos de detectar tal composición en una persona o propiedad y analizar la composición para determinar el origen de la composición y/o información acerca del propietario de la propiedad.

Antecedentes de la invención

Las composiciones conteniendo nucleótidos sintéticos para uso en marcaje de seguridad de propiedad y/o para marcar un ladrón o agresor son conocidas en la técnica. De hecho, el solicitante de la presente invención ya ha desarrollado y comercializado varios productos conteniendo tales composiciones. Algunos ejemplos de los productos del Solicitante de la presente invención que utilizan tales composiciones se explican a continuación.

El kit de marcaje de propiedad SelectaDNA^{RTM} incluye un bote de adhesivo que puede ser aplicado a propiedad usando un aplicador con el fin de marcar la propiedad con una composición única que puede ser rastreada hasta el propietario en el caso de que la propiedad sea robada por un ladrón y luego recuperada por la policía. Cada bote de adhesivo contiene una composición de ADN única y también varios miles de micropuntos dispersados por todo el adhesivo. Cada micropunto contiene un código de registro único y un número de teléfono o dirección de Internet de base de datos. Un proveedor de servicios mantiene una base de datos que enlaza cada código de registro único con detalles del propietario de la propiedad, por ejemplo, nombre, dirección y/o número de teléfono del propietario. Estos detalles pueden ser obtenidos cuando un propietario de la propiedad compra el kit de marcaje de seguridad e introducidos en la base de datos. Esta base de datos, o una segunda base de datos, también contiene información acerca de la composición de ADN única que está enlazada al código de registro o directamente a los detalles del propietario. El adhesivo también contiene un material fluorescente que emite luz visible bajo luz UV con el fin de que el marcaje adhesivo en la propiedad sea localizado fácilmente por la policía.

Cuando un artículo de propiedad robado es recuperado por la policía, se puede utilizar una lámpara UV para localizar el marcaje adhesivo en la propiedad. Con una lupa se puede localizar un micropunto dentro del marcaje adhesivo y el código de registro único y se puede leer un número de teléfono o dirección de Internet de base de datos. La policía puede llamar por teléfono entonces al número de teléfono de la base de datos y un operador de la base de datos puede usar el código de registro único para proporcionar detalles del propietario de la propiedad de tal manera que la policía pueda contactar con el propietario y devolver la propiedad. Si la policía no puede localizar un micropunto en el marcaje adhesivo, entonces se puede quitar una pequeña muestra del adhesivo y enviar a un laboratorio para análisis con el fin de obtener información acerca de la composición de ADN única dispersada por todo el adhesivo. Esta información puede ser usada después para identificar el propietario usando la base de datos. Una pegatina u otra marca en la propiedad pueden indicar un número de teléfono o dirección de Internet que la policía puede usar para contactar con el operador de base de datos en la ausencia de micropuntos.

Dicho kit proporciona así dos métodos posibles de rastrear el propietario de la propiedad robada, mediante los micropuntos o mediante la composición de ADN única. Sin embargo, el solicitante de la presente invención contempla naturalmente que uno de estos métodos pueda ser usado por sí mismo. De hecho, para algunas aplicaciones puede no ser apropiado proporcionar micropuntos en una composición de marcaje de seguridad. Por ejemplo, puede no ser apropiado proporcionar micropuntos en composiciones que hayan de ser expulsadas como un aerosol para marcar un ladrón o agresor puesto que tales micropuntos pueden bloquear la boquilla de dispensación y/o quitarse fácilmente.

Tal es el caso de la DNA PERSONAL ALARM del Solicitante de la presente solicitud que no usa micropuntos. Este producto incluye una alarma personal de mano en forma de un recipiente presurizado que contiene una composición que incluye una composición de ADN única y un material fluorescente del tipo usado en el kit de marcaje de seguridad previamente descrito. Como se ha descrito en relación al kit de marcaje de seguridad, un proveedor de servicios lleva una base de datos que enlaza la información acerca de cada composición de ADN única con detalles de los propietarios de las alarmas personales. Si un propietario es atacado, puede pulverizar sobre su agresor usando la alarma personal. Posteriormente, si es aprehendido, se puede utilizar una lámpara UV para localizar la composición de ADN en el agresor. Se puede tomar una pequeña muestra de la composición y enviarla a un laboratorio para análisis al objeto de obtener información acerca de la composición de ADN única. Esta información puede ser usada posteriormente para identificar el propietario de la alarma personal usando la base de datos. Como tal, al agresor se le puede vincular irrefutablemente con el ataque sufrido por el propietario de la alarma personal, se puede devolver cualquier propiedad robada, y la información puede ser usada para asegurar un veredicto de culpabilidad.

Otro uso de composiciones contenido ADN sintético es en un sistema de seguridad de edificios, en particular en

puntos de entrada como puertas y ventanas. Un sistema de seguridad de un edificio que dispensa un fluido para disuadir y/o identificar a los intrusos se describe en la anterior Solicitud de Patente, GB0804493-5 propiedad del Solicitante de la presente solicitud. En esta solicitud anterior se describe que una formulación especialmente útil incluye un marcador/identificador de ADN, un trazador UV/material fluorescente, un propulsor, y opcionalmente un solvente que puede ser orgánico, por ejemplo, un alcohol, o acuoso. Como sucede con dicho kit de marcaje de seguridad y alarma personal, un proveedor de servicios lleva una base de datos que enlaza la información acerca de cada composición de ADN única con detalles de los propietarios del sistema de seguridad. Si entra un ladrón en un edificio, el sistema de seguridad pulveriza sobre el intruso la composición de ADN. Posteriormente, si es aprehendido, se puede usar una lámpara UV para localizar la composición de ADN en el intruso. Se puede tomar una pequeña muestra de la composición y enviarla a un laboratorio para análisis al objeto de obtener información acerca de la composición de ADN única. Esta información puede ser usada posteriormente para identificar el propietario del edificio usando la base de datos. Como tal, el intruso puede ser vinculado irrefutablemente con el robo de tal manera que cualquier propiedad robada pueda ser devuelta y la información puede ser usada para asegurar un veredicto de culpabilidad.

Un problema que el solicitante de la presente invención ha identificado con productos actuales en el mercado es que el ADN sintético de propiedad que usan requiere equipo Biotage^{RTM} especial para analizar el ADN en lugar del equipo Sanger de uso más común. El Solicitante de la presente invención ha observado que sería una gran ventaja comercial habilitar el uso de equipo Sanger estándar a causa de su amplia disponibilidad y uso. Esto permitiría al Solicitante de la presente invención vender productos, como el kit de marcaje de seguridad antes descrito, la alarma personal y el sistema de seguridad para edificios a distribuidores del extranjero. El uso de Biotage^{RTM} limita seriamente las oportunidades comerciales porque es muy difícil hallar laboratorios que: (1) tengan el equipo; y (2) deseen realizar el análisis a nivel comercial. Además, el Solicitante de la presente invención considera que las fuerzas de policía del extranjero desean realizar el análisis de ADN en su propio país por razones prácticas, políticas y/o legales y no desean depender de equipo de propiedad situado en un país extranjero.

Otro problema que el solicitante de la presente invención ha identificado es que las composiciones de ADN sintéticas usadas en productos actuales no están optimizadas para las aplicaciones de marcaje de seguridad aquí descritas. En particular, el solicitante de la presente invención considera que las cadenas de ADN individuales en las composiciones actuales son excesivamente largas. En general, cuanto más largas son las cadenas de ADN, más costosas son de fabricar y más costosas son de analizar.

Una finalidad de la presente invención es resolver los problemas antes descritos.

Resumen de la invención

Según un primer aspecto de la presente invención se facilita una composición incluyendo: una pluralidad de primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos; y una pluralidad de segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos que son diferentes de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos, donde cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una primera secuencia de bases de unión de iniciador, una primera secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una segunda secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la primera secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador primera y segunda, donde cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una tercera secuencia de bases de unión de iniciador, una segunda secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una cuarta secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la segunda secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta, donde la primera secuencia de identificación es diferente de la segunda secuencia de identificación, y donde información acerca del propietario de la composición es proporcionada por las secuencias de identificación primera y segunda usando una base de datos que conecta información acerca del propietario de la composición con las secuencias de identificación primera y segunda.

La composición es una composición de marcaje de seguridad, típicamente (aunque no exclusivamente) adecuada para marcar la propiedad y/o personas. La propiedad podría ser propiedad probablemente en peligro de ser perdida o robada, y las personas podrían ser delincuentes tal como ladrones, asaltantes y otros atacadores, o podrían ser otros individuos que podrían beneficiarse del marcaje de seguridad, tal como soldados. Los oligómeros se forman de modo que se puedan relacionar fácilmente con el propietario de la composición, usando una base de datos. Así, las secuencias de identificación primera y segunda se pueden relacionar con el propietario de la composición mediante una base de datos. La base de datos contiene información acerca del propietario de la composición y conecta esta información con las secuencias de identificación primera y segunda. Así, la información acerca del propietario se puede obtener a partir de la identificación de las secuencias de identificación primera y segunda en la composición.

Proporcionando dos oligómeros de nucleótidos sintéticos diferentes en la composición, los oligómeros se pueden hacer más cortos, pero proporcionando todavía una variación suficientemente grande para identificar de forma única cada composición. Por ejemplo, si ambos oligómeros tienen una secuencia de identificación de tres bases de longitud, entonces hay $(4^3)^2$ combinaciones posibles, es decir, 4096. Si ambos oligómeros tienen una secuencia de identificación de siete bases de longitud, entonces hay $(4^7)^2$ combinaciones posibles, es decir, 2.684×10^8 . El

solicitante considera que este rango de combinaciones es suficiente para asegurar que las composiciones usadas en marcaje de seguridad de propiedad y/o para marcar un ladrón o agresor sean identificables de forma única. La ventaja de usar una secuencia de identificación más corta es que los oligómeros de nucleótidos serán más baratos y más fáciles de fabricar y también más baratos y más fáciles de analizar. La desventaja es que el número de variaciones únicas es limitado. Por ejemplo, si se usa el extremo más bajo del rango reivindicado (es decir, tres bases en cada secuencia de identificación), entonces después de producir y vender 4096 productos, los productos adicionales duplicarán identificadores previos. Este rango más bajo será útil para productos que probablemente tendrán un número de ventas bajo. Alternativa o adicionalmente, los identificadores se pueden regionalizar geográficamente, por país por ejemplo, de tal manera que los identificadores puedan ser reutilizados en regiones diferentes. Otras agrupaciones pueden ser posibles con el fin de permitir la reutilización de secuencias de identificación.

A pesar de las posibilidades anteriores de reutilización de combinaciones de identificación, sería claramente deseable proporcionar identificadores completamente únicos en todo el mundo. Consiguientemente, se prefiere que una o ambas secuencias de identificación primera y segunda tengan al menos cuatro bases. Si ambos oligómeros tienen una secuencia de identificación de cuatro bases de longitud, entonces hay $(4^4)^2$ combinaciones posibles, es decir, 65536, que puede ser suficiente para productos de gama alta de bajo volumen de ventas como los sistemas de seguridad domésticos.

Igualmente, es improbable que muchos productos se vendan en un volumen suficiente para que se requieran 2.684×10^8 variaciones posibles. Consiguientemente, para la mayoría de las aplicaciones será preferible que una o ambas secuencias de identificación primera y segunda tengan seis bases o menos. Si ambos oligómeros tienen una secuencia de identificación de seis bases de longitud, entonces hay $(4^6)^2$ combinaciones posibles, es decir, 1.678×10^7 .

Si se requiere gran número de variaciones únicas, es posible proporcionar oligómeros de nucleótidos adicionales más bien que incrementar la longitud de las secuencias de identificación. Consiguientemente, la composición puede incluir un tercer oligómero de nucleótido, teniendo el tercer oligómero de nucleótido una tercera secuencia de identificación flanqueada por lugares de unión de iniciador. También se puede utilizar cuatro o más oligómeros de nucleótidos de tal manera que la longitud de las secuencias de identificación se pueda reducir manteniendo al mismo tiempo un rango suficiente de variaciones únicas. Naturalmente, como alternativa, o adicionalmente, a añadir más oligómeros, si se requiere un mayor número de variaciones únicas, entonces la longitud de las secuencias de identificación de los oligómeros en la composición se puede incrementar de manera que sea más grande que siete bases de longitud. Sin embargo, esto también aumentará el costo en términos de fabricación y análisis.

Las secuencias de unión de iniciador a ambos lados de las secuencias de identificación son necesarias para amplificar y secuenciar los oligómeros de nucleótidos. Según algunas realizaciones, las secuencias de unión de iniciador primera y segunda son diferentes una de otra. Igualmente, según algunas realizaciones, las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta son diferentes una de otra. Además, según algunas realizaciones, las secuencias de unión de iniciador primera y segunda son diferentes de las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta.

Según realizaciones de las presentes invenciones, cada una de las secuencias de unión de iniciador puede ser idéntica o complementaria de una porción de un iniciador PCR estándar (reacción en cadena de la polimerasa), en particular una porción terminal en la región 3' de un iniciador PCR. Según algunas realizaciones, las secuencias de unión de iniciador primera y tercera son idénticas a porciones de secuencias de iniciador estándar usadas en amplificación y secuenciación Sanger. Según algunas realizaciones, las secuencias de unión de iniciador segunda y cuarta son complementarias de porciones de secuencias de iniciador estándar usadas en amplificación y secuenciación Sanger.

Es preferible mantener cortas las secuencias de unión de iniciador para facilitar la fabricación de los oligómeros. Sin embargo, los secuenciadores estándar son menos exactos para oligómeros más cortos. El Solicitante de la presente invención ha observado que las secuencias de unión de iniciador cortas pueden ser usadas para los oligómeros si, durante la amplificación, se usan secuencias de iniciador más largas para alargar los oligómeros antes de la amplificación y la secuenciación. Como tales, las secuencias de unión de iniciador primera, segunda, tercera y cuarta pueden tener una longitud en el rango de 5 a 40 bases, más preferiblemente de 10 a 30 bases, muy preferiblemente de 15 a 20 bases. Estas secuencias de unión de iniciador son de longitud suficiente para enlazar fiablemente con iniciadores más largos antes de la amplificación estándar usando una reacción en cadena de la polimerasa.

Con el fin de mantener los oligómeros de nucleótidos lo más cortos posible, se prefiere que cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos conste solamente de la primera secuencia de unión de iniciador, la primera secuencia de identificación, y la segunda secuencia de unión de iniciador. Igualmente, se prefiere que cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos conste solamente de la tercera secuencia de unión de iniciador, la segunda secuencia de identificación, y la cuarta secuencia de unión de iniciador.

Las composiciones según realizaciones de la presente invención pueden incluir más componentes como se describe

en la sección de Antecedentes. Por ejemplo, las composiciones pueden incluir micropuntos, material fluorescente, adhesivo, grasa, gel, un solvente orgánico o acuoso, y/o un propulsor. Según una realización, la composición incluye un adhesivo en el que los oligómeros están dispersados. Según otra realización, la composición incluye un solvente que hace que la composición se pueda pulverizar. Según esta realización, se puede facilitar un recipiente presurizado para contener la composición, incluyendo el recipiente una boquilla para pulverizar la composición. Según otras realizaciones, la composición incluye una grasa o un gel en el que los oligómeros están dispersados.

Según algunas realizaciones, la composición puede incluir además una pluralidad de partículas o moléculas que proporcionan una firma óptica. Por ejemplo, las múltiples partículas o moléculas pueden proporcionar un rango de propiedades refractivas que pueden ser exploradas y usadas para identificar la composición. Según realizaciones, se puede dispersar nanopartículas, tal como polvo de cerámica inorgánica, en la composición. Un rango de polvos proporciona un rango de firmas ópticas distintas que puede ser usado para identificar la composición. El rango de firmas ópticas únicas será normalmente más pequeño que el rango de secuencias de nucleótidos diferentes. Como tal, la firma óptica puede no identificar de forma única cada composición diferente en la práctica. Sin embargo, tal firma óptica puede ser útil para identificar un fabricante de las composiciones, un proveedor, una fuente y/o un lote de composiciones.

A la luz de lo anterior, es evidente que las composiciones según realizaciones de la presente invención pueden proporcionar un rango en cascada de diferentes componentes y métodos de identificación. En un nivel superior, la composición puede tener un color específico, por ejemplo, un color azul bajo luz fluorescente. Esto puede servir para identificar una compañía que utilice dicho color. Sin embargo, a medida que entren más compañías en este campo, es probable que algunas compañías terminen usando el mismo color fluorescente para sus composiciones de identificación. Se puede facilitar un segundo nivel de identificación por medio de micropuntos que identifiquen más exactamente la fuente de las composiciones. Sin embargo, si una muestra de la composición no contiene un micropunto, entonces se necesitan otros medios para identificar la fuente de la composición. Así se puede facilitar un tercer nivel de identificación por medio de una firma óptica usando una pluralidad de moléculas o nanopartículas ópticamente activas dispersadas en la composición para identificar la fuente de la composición. Finalmente, se facilita un cuarto nivel de identificación por medio de las secuencias de identificación de nucleótidos para identificar de forma exacta y única cada composición individual. Tal rango en cascada de métodos de identificación proporciona un rango de diferentes niveles de identificación con el fin de asegurar que la identificación sea exitosa. Además, la identificación de nivel superior es rápida y barata de realizar sin equipo excesivamente complejo o caro que permite a los individuos o a las fuerzas de policía identificar una fuente central de una composición. Así se puede centralizar el análisis de nucleótidos más complejo y lento.

Las composiciones se fabricarán normalmente formando los oligómeros de nucleótidos y luego dispersándolos en un medio adecuado para despliegue, por ejemplo, como un adhesivo, grasa, gel o pulverización. Las composiciones se cargarán después en recipientes adecuadamente codificados y se hará un registro para enlazar cada recipiente codificado con su código de nucleótido. Cuando se venda a un cliente, se tomarán detalles del cliente junto con el código del recipiente comprado. Así, los detalles del cliente pueden unirse al código de nucleótido en una base de datos como se ha descrito en la sección de Antecedentes.

Según realizaciones de la presente invención, los oligómeros de nucleótidos pueden incluir ADN o ARN. Se prefiere ADN por ser más estable. Los oligómeros de nucleótidos pueden ser de cadena única o doble. Los oligómeros de nucleótidos de cadena única son preferibles según algunas aplicaciones porque son más baratos de fabricar. Sin embargo, aunque los oligómeros de cadena doble son más caros de fabricar, tienen la característica ventajosa de que son más estables que los oligómeros de cadena única. Consiguientemente, en algunas aplicaciones pueden ser preferibles los oligómeros de cadena doble.

Según otro aspecto de la presente invención se facilita una pluralidad de recipientes de la composición. Cada recipiente es identificable por una combinación única de las secuencias de identificación primera y segunda. Los recipientes pueden estar agrupados en lotes, donde el primer identificador es para identificar el lote al que pertenece un recipiente y el segundo identificador es para identificar de forma única cada recipiente dentro de dicho lote.

Según otro aspecto de la invención se facilita un kit de marcaje de seguridad, incluyendo el kit:

(1a) una composición de marcaje de seguridad incluyendo una pluralidad de primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos; y una pluralidad de segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos que son diferentes de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos,

donde cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una primera secuencia de bases de unión de iniciador, una primera secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una segunda secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la primera secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador primera y segunda,

donde cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una tercera secuencia de bases de unión de iniciador, una segunda secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una cuarta

secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la segunda secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta,

5 donde la primera secuencia de identificación es diferente de la segunda secuencia de identificación;

donde la información acerca del propietario de la composición la facilitan las secuencias de identificación primera y segunda usando una base de datos que conecta información acerca del propietario de la composición con las secuencias de identificación primera y segunda; y/o

10 (1b) un recipiente presurizado que aloja la composición de (a), e incluyendo además al menos uno de un solvente y un propulsor, incluyendo el recipiente presurizado una boquilla para pulverizar dicha composición; y

(2) instrucciones para registrar la propiedad del kit en una base de datos.

15 Según otro aspecto de la presente invención, la composición se usa en marcaje de seguridad de propiedad y/o para marcar un ladrón o agresor.

Según otro aspecto de la presente invención, se facilita un método de determinar un propietario de una composición como se describe aquí, incluyendo el método: tomar una muestra de la composición; reaccionar uno o ambos oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo con iniciadores que se unen con las secuencias de unión de iniciador primera y segunda y/o tercera y cuarta para aumentar la longitud de uno o ambos oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo; amplificar uno o ambos oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo usando una reacción en cadena de la polimerasa; secuenciar los oligómeros de nucleótidos sintéticos amplificados para identificar la primera y/o segunda secuencia de identificación; y consultar una base de datos para comparar la primera y/o segunda secuencia de identificación identificada con información acerca del propietario de la composición.

Los iniciadores pueden incluir secuencias de iniciador que son secuencias de iniciador estándar usadas en amplificación y secuenciación Sanger. Los iniciadores son más largos que las secuencias de unión de iniciador con el fin de mejorar la exactitud de secuenciación. Por ejemplo, los iniciadores pueden tener una longitud en el rango de 50 a 200 bases, preferiblemente de 50 a 100 bases.

Breve descripción de los dibujos

35 Para una mejor comprensión de la presente invención y para mostrar cómo se puede poner en práctica, ahora se describirán realizaciones de la presente invención a modo de ejemplo solamente con referencia a los dibujos acompañantes, en los que:

40 La figura 1 representa una ilustración esquemática de oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo según una realización de la presente invención.

La figura 2 representa una ilustración esquemática de un método de determinar un propietario de una composición según una realización de la presente invención.

45 Y la figura 3 representa una ilustración esquemática de un método usado para alargar y amplificar uno de los oligómeros de nucleótidos según una realización de la presente invención.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención

50 Las composiciones de la presente invención incluyen una mezcla de dos oligómeros de nucleótidos sintéticos diferentes. Se ilustran ejemplos en la figura 1. El primer oligómero de nucleótido sintético 2 incluye una secuencia de unión de iniciador 4, una secuencia de unión de iniciador 6, y una secuencia de identificación 8 dispuesta entre las secuencias de unión de iniciador. El segundo oligómero de nucleótido sintético 10 es de estructura similar al primer oligómero e incluye una secuencia de unión de iniciador 12, una secuencia de unión de iniciador 14, y una secuencia de identificación 16 dispuesta entre las secuencias de unión de iniciador.

Las secuencias de identificación se usan para identificar la composición. Las secuencias de identificación de los dos oligómeros son diferentes y juntas proporcionan un código único para la composición. Las secuencias de identificación tienen de tres a siete bases, preferiblemente de 4 a 6 bases. Las secuencias de unión de iniciador son idénticas o complementarias de porciones de secuencias de iniciador estándar usadas para amplificar el oligómero durante el análisis.

60 La figura 2 representa un método de analizar una composición incluyendo una mezcla de dos oligómeros de nucleótidos sintéticos diferentes 2, 10 como se ha descrito anteriormente en relación a la figura 1.

65 Se toma una muestra de la composición y se aíslan los oligómeros de nucleótidos. Los oligómeros de nucleótidos

son alargados después usando iniciadores y luego son amplificados usando una reacción en cadena de la polimerasa. Una característica clave es que los iniciadores son más largos que las secuencias de unión de iniciador de los oligómeros de nucleótidos 2, 10. Consiguientemente, los oligómeros de nucleótidos se incrementan en longitud como se ilustra en el paso A de la figura 2. Los oligómeros extendidos conservan la misma longitud de secuencia de identificación 8, 16 pero tienen secuencias de iniciador mucho más largas 18, 20, 22, 24 en comparación con las secuencias de unión de iniciador originales 4, 6, 12, 14. Estos oligómeros extendidos son amplificados en número usando una reacción en cadena de la polimerasa como se ilustra en el paso B y luego son secuenciados como se ilustra en el paso C. Los oligómeros más largos pueden ser secuenciados usando métodos de secuenciación estándar. En contraposición, sería difícil secuenciar exactamente los oligómeros más cortos usando métodos estándar. Finalmente, en el paso D se usa una base de datos para comparar las secuencias identificadas con información acerca del propietario de la composición.

La figura 3 representa con más detalle un método usado para alargar y amplificar uno de los oligómeros de nucleótidos. Como antes, el oligómero de nucleótido sintético 2 incluye una primera secuencia de unión de iniciador 4, una segunda secuencia de unión de iniciador 6, y una secuencia de identificación 8 dispuesta entre las secuencias de unión de iniciador.

En el paso 1, se une un iniciador PCR 30 a la segunda secuencia de unión de iniciador 6. El iniciador PCR 30 tiene una porción terminal 32 en su extremo 3' que es complementaria de la segunda secuencia de unión de iniciador 6 para unión. El iniciador PCR 30 también tiene un lugar de unión de iniciador 34 para amplificación de secuenciación Sanger en una posición distinta de la porción terminal 32. En este caso, el lugar de unión de iniciador 34 está en el extremo 5' del iniciador PCR 30 e incluye una secuencia correspondiente a un iniciador de secuencia inversa.

En el paso 2, la secuencia de iniciador PCR 30 se extiende usando el oligómero de nucleótido sintético 2 como una plantilla con el fin de formar una secuencia extendida 40 incluyendo porciones 36 y 38 que son complementarias de la primera secuencia de unión de iniciador 4 y la secuencia de identificación 8 del oligómero de nucleótido sintético original 2.

En el paso 3, se une un segundo iniciador PCR 42 a la porción 36 de la secuencia extendida 40. El segundo iniciador PCR 42 tiene una porción terminal 44 en su extremo 3' que es complementaria de la porción 36 de la secuencia extendida 40. Dado que la porción 36 es complementaria de la primera secuencia de unión de iniciador 6, la porción terminal 44 del segundo iniciador 42 es idéntica a la primera secuencia de unión de iniciador original 4.

El segundo iniciador PCR 42 también tiene un lugar de unión de iniciador 46 para amplificación de secuenciación Sanger en una posición distinta de la porción terminal 44. En este caso, el lugar de unión de iniciador 46 está en el extremo 5' del iniciador PCR 42 e incluye una secuencia correspondiente a un iniciador de secuencia directa.

En el paso 4, el segundo iniciador PCR 42 se extiende usando la secuencia extendida 40 como una plantilla con el fin de formar una secuencia extendida final 48 incluyendo una porción 50 que es complementaria de la porción 38 y por ello idéntica a la secuencia de identificación 8 del oligómero de nucleótido sintético original 2. La secuencia extendida final 48 incluye así una secuencia de un iniciador de secuencia directa 46, una secuencia de un iniciador de secuencia inversa 52, y una secuencia 50 idéntica a la secuencia de identificación 8 del oligómero de nucleótido sintético original 2.

En el paso 5, la secuencia extendida final 48 es amplificada en número usando amplificación PCR. El producto de amplificación puede ser secuenciado entonces usando los lugares de iniciador de secuencia directa e inversa.

Se puede utilizar los mismos pasos del método para amplificación y secuenciación de un segundo oligómero de nucleótido en la composición usando un tercer y un cuarto iniciador PCR. En este caso, si los iniciadores PCR primero y segundo alojan los mismos lugares de unión de iniciador de secuencia que los iniciadores PCR tercero y cuarto respectivamente, los oligómeros de nucleótidos deberán ser amplificados y secuenciados por separado. Alternativamente, si los iniciadores PCR primero y segundo tienen diferentes lugares de unión de iniciador de secuencia a los iniciadores PCR tercero y cuarto respectivamente, los oligómeros de nucleótidos pueden ser amplificados en una reacción. Sin embargo, el análisis de secuenciación todavía deberá ser realizado por separado.

Las composiciones y los métodos de la presente invención permiten utilizar oligómeros de nucleótidos cortos para identificar de forma única las composiciones al mismo tiempo que permiten utilizar equipo estándar para secuenciar los oligómeros extendiendo la longitud de los oligómeros durante las etapas iniciales de amplificación.

Aunque esta invención se ha mostrado y descrito en particular con referencia a realizaciones preferidas, los expertos en la técnica entenderán que se puede hacer varios cambios en la forma y el detalle sin apartarse del alcance de la invención definido por las reivindicaciones anexas.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de marcaje de seguridad incluyendo:

5 una pluralidad de primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos; y

una pluralidad de segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos que son diferentes de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos,

10 donde cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una primera secuencia de bases de unión de iniciador, una primera secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una segunda secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la primera secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador primera y segunda,

15 donde cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una tercera secuencia de bases de unión de iniciador, una segunda secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una cuarta secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la segunda secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta,

20 donde la primera secuencia de identificación es diferente de la segunda secuencia de identificación, y

donde información acerca del propietario de la composición la proporcionan las secuencias de identificación primera y segunda usando una base de datos que conecta información acerca del propietario de la composición con las secuencias de identificación primera y segunda.

25 2. Una composición según la reivindicación 1, donde la primera secuencia de identificación tiene una longitud en el rango de cuatro a seis bases.

30 3. Una composición según la reivindicación 1, donde la segunda secuencia de identificación tiene una longitud en el rango de cuatro a seis bases.

4. Una composición según cualquier reivindicación precedente, donde las secuencias de unión de iniciador primera y segunda son diferentes de las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta.

35 5. Una composición según alguna de las reivindicaciones 1 a 3, donde las secuencias de unión de iniciador primera y segunda son idénticas a las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta.

6. Una composición según cualquier reivindicación precedente, donde las secuencias de unión de iniciador primera y segunda son diferentes,

40 y/o donde las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta son diferentes,

y/o donde cada una de las secuencias de unión de iniciador primera, segunda, tercera y cuarta tiene una longitud en el rango de 5 a 40 bases, más preferiblemente en el rango de 10 a 30 bases, muy preferiblemente en el rango de 15 a 20,

45 y/o donde cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos consta de la primera secuencia de unión de iniciador, la primera secuencia de identificación, y la segunda secuencia de unión de iniciador,

50 y/o donde cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos consta de la tercera secuencia de unión de iniciador, la segunda secuencia de identificación, y la cuarta secuencia de unión de iniciador,

y/o donde la composición incluye además uno o más de un adhesivo, un material fluorescente, una pluralidad de micropuntos, un solvente, un propulsor, una grasa y un gel.

55 7. Un recipiente presurizado que aloja una composición según la reivindicación 6, incluyendo la composición al menos uno de un solvente y un propulsor, incluyendo el recipiente presurizado una boquilla para pulverizar dicha composición.

60 8. Una pluralidad de recipientes, incluyendo cada recipiente una composición según alguna de las reivindicaciones 1 a 6, donde cada recipiente es identificable por una combinación única de las secuencias de identificación primera y segunda.

65 9. Una pluralidad de recipientes según la reivindicación 8, incluyendo una pluralidad de lotes de recipientes, donde el primer identificador es para identificar el lote al que pertenece un recipiente y el segundo identificador es para identificar de forma única cada recipiente dentro de dicho lote.

10. Un kit de marcaje de seguridad, incluyendo el kit:

5 (1a) una composición de marcaje de seguridad incluyendo una pluralidad de primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos;

10 y una pluralidad de segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos idénticos que son diferentes de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos, donde cada uno de los primeros oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una primera secuencia de bases de unión de iniciador, una primera secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una segunda secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la primera secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador primera y segunda,

15 donde cada uno de los segundos oligómeros de nucleótidos sintéticos incluye una tercera secuencia de bases de unión de iniciador, una segunda secuencia de identificación de tres a siete bases de longitud, y una cuarta secuencia de bases de unión de iniciador, estando dispuesta la segunda secuencia de identificación entre las secuencias de unión de iniciador tercera y cuarta, donde la primera secuencia de identificación es diferente de la segunda secuencia de identificación;

20 donde información acerca del propietario de la composición la facilitan las secuencias de identificación primera y segunda usando una base de datos que conecta información acerca del propietario de la composición con las secuencias de identificación primera y segunda; y/o

25 (1b) un recipiente presurizado que aloja la composición de (a), e incluyendo además al menos uno de un solvente y un propulsor, incluyendo el recipiente presurizado una boquilla para pulverizar dicha composición; y

(2) instrucciones para registrar la propiedad del kit en una base de datos.

30 11. Un kit según la reivindicación 10, donde la composición de seguridad es una composición como la definida en alguna de las reivindicaciones 1-6, y/o el recipiente presurizado es un recipiente como el definido en alguna de las reivindicaciones 7-9.

35 12. Uso de una composición como la definida en alguna de las reivindicaciones 1-6, de un recipiente presurizado como el definido en la reivindicación 7, o de un kit como el definido en alguna de las reivindicaciones 10 a 11, en el marcaje de seguridad de propiedad y/o una persona.

40 13. Un método de determinar un propietario de una composición como la definida en alguna de las reivindicaciones 1-6, de un recipiente presurizado como el definido en la reivindicación 7, o de un kit como el definido en alguna de las reivindicaciones 10 a 11, incluyendo el método:

tomar una muestra de la composición de seguridad;

45 reaccionar uno o ambos de los oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo con iniciadores que se unen a las secuencias de unión de iniciador primera y segunda y/o tercera y cuarta para aumentar la longitud de uno o ambos de los oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo;

amplificar uno o ambos de los oligómeros de nucleótidos sintéticos primero y segundo usando una reacción en cadena de la polimerasa;

50 secuenciar los oligómeros de nucleótidos sintéticos amplificados para identificar la secuencia de identificación primera y/o segunda; y

consultar una base de datos para comparar la primera y/o segunda secuencia de identificación identificada con información acerca del propietario de la composición.

55 14. Un método según la reivindicación 13, donde los iniciadores tienen una longitud en el rango de 50 a 200 bases, más preferiblemente en el rango de 50 a 100 bases.

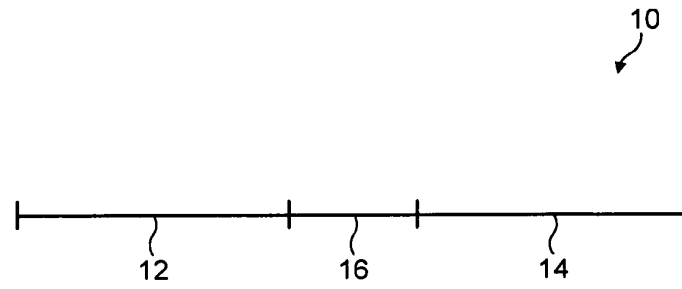
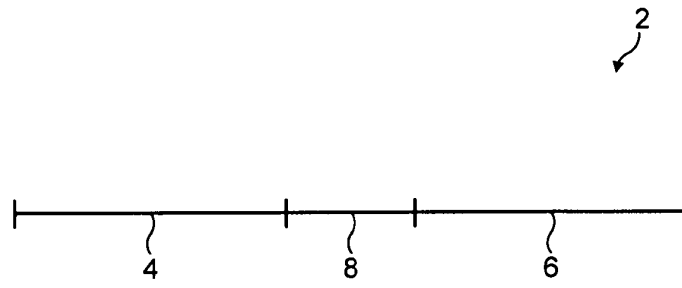


FIG. 1

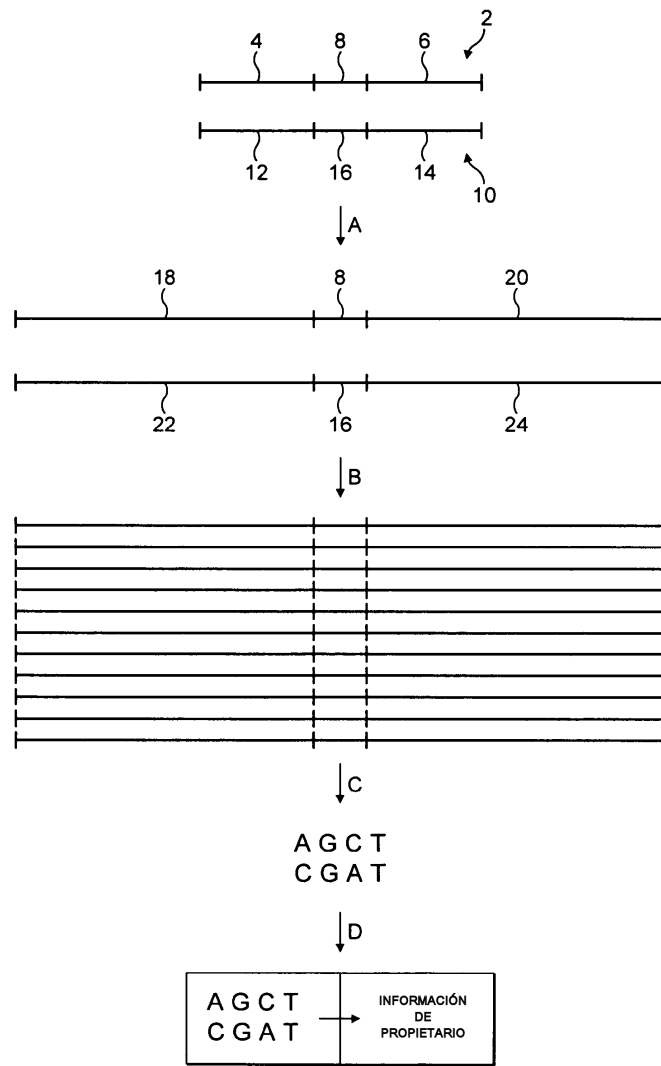


FIG. 2

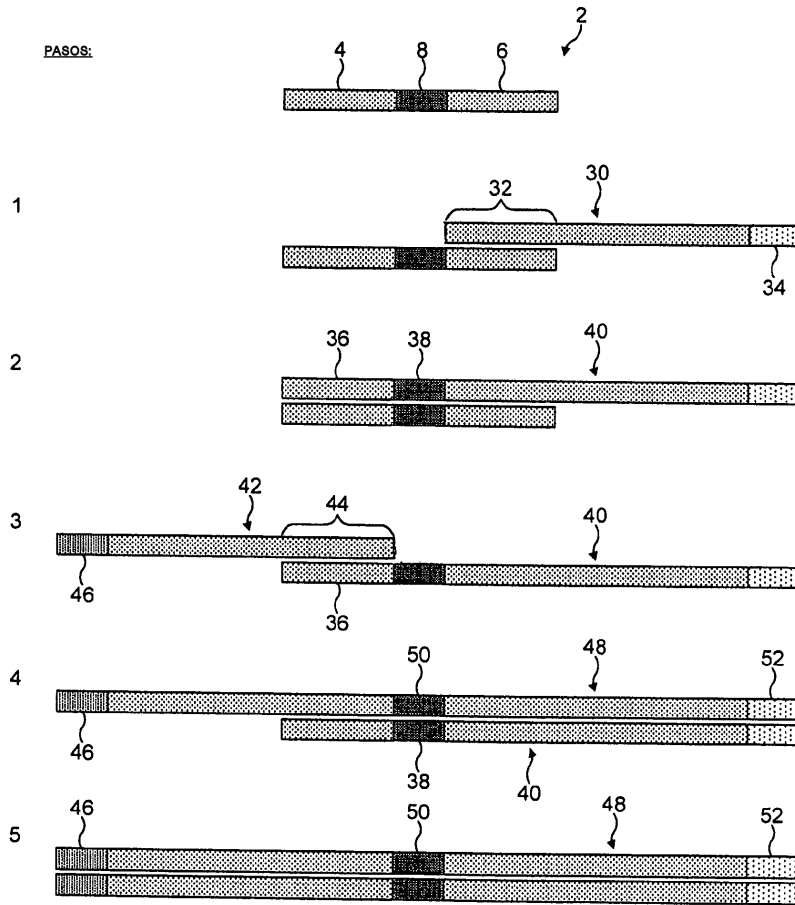


FIG. 3