



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator
dokumenta:



HR P20140692 T1

HR P20140692 T1

(12) **PRIJEVOD PATENTNIH ZAHTEJVA
EUROPSKOG PATENTA**

(51) MKP:

C12Q 1/68 (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 26.09.2014.

(21) Broj predmeta: P20140692T

(22) Datum podnošenja zahtjeva: 18.07.2014.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 10156846.7
Datum podnošenja europske prijave patenta: 18.01.2008.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 2258871 A1
Datum objave europske prijave patenta: 08.12.2010.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 2258871 B1
Datum objave europskog patenta: 14.05.2014.

(31) Broj prve prijave: 07100829
07110019
07113449

(32) Datum podnošenja prve prijave: 19.01.2007.
11.06.2007.
30.07.2007.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: EP
EP
EP

(62) Broj i datum prvobitne prijave u slučaju podjele patenta: 08701160.7 18.01.2008.

(73) Nositelj patenta:

**Epigenomics AG, Intellectual Property Kleine Präsidentenstrasse 1,
10178 Berlin, DE**

(72) Izumitelji:

**Volker Liebenberg, Ebereschenallee 39, 14050 Berlin, DE
Jürgen Distler, Herderstrasse 24, 12163 Berlin, DE
Jörn Lewin, Schwartzkopfstrasse 10, 10115 Berlin, DE
Fabian Model, Debenzerstrasse 73, 12683 Berlin, DE
Reimo Tetzner, Kuglerstrasse 33, 10439 Berlin, DE
Rene Cortese, 224 St George Street, apt. 405, Toronto, M5R 2N9 ON, CA**

(74) Zastupnik:

ZMP IP d.o.o., 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

POSTUPCI I NUKLEINSKE KISELINE ZA ANALIZU POREMEĆAJA PROLIFERACIJE STANICA

HR P20140692 T1

PATENTNI ZAHTEJEVI

- 5 1. Postupak otkrivanja raka pluća, dojke ili mjehura u ispitanika, obuhvaća utvrđivanje razine metilacije gena SHOX2 u biološkom uzorku izoliranom iz tog ispitanika pri čemu hiper-metilacija upućuje na prisutnost takvog raka.
2. Postupak otkrivanja raka pluća, dojke ili mjehura prema zahtjevu 1, obuhvaća dovođenje genomske DNA, izolirane iz biološkog uzorka dobivenog od ispitanika, u doticaj s barem jednim reagensom, ili serijom reagenasa koji razlikuju metilirane i ne-metilirane CpG dinukleotide unutar barem jedne ciljane regije genomske DNA, pri čemu ciljna regija obuhvaća, ili se hibridizira pod strogim uvjetima u sekvencu od barem 16 dodirnih nukleotida u SEQ ID NO: 5, i gdje ti dodirni nukleotidi obuhvaćaju barem jednu CpG dinukleotidnu sekvencu.
- 10 3. Postupak otkrivanja raka pluća, dojke ili mjehura prema zahtjevu 1 ili 2, obuhvaća:
 - a) ekstrakciju ili drugačiju izolaciju genomske DNA iz biološkog uzorka dobivenog od ispitanika,
 - b) obradu genomske DNA iz a), ili njezinog fragmenta, s jednim ili više reagenasa radi pretvorbe citozin baza koje nisu metilirane na svom položaju 5 u uracil ili drugu bazu koja za otkrivanje nije slična citozinu u vidu svojstava hibridizacije;
 - c) dovođenje obrađene genomske DNA, ili njezinog obrađenog fragmenta, u doticaj s enzimom za umnožavanje i barem jednom početnicom koja obuhvaća dodirnu sekvencu od barem 9 nukleotida koja je komplementarna, ili se hibridizira pod umjereno strogim ili strogim uvjetima u sekvencu izabranu iz grupe koja obuhvaća SEQ ID NOs: 21, 22, 45 i 46, i njihove komplemente, pri čemu se ciljna genomska DNA ili njezin fragment umnožava radi dobivanja barem jedne kopije, ili se ne umnožava; i
 - d) utvrđivanje, na temelju prisutnosti ili odsutnosti, ili svojstva te kopije, stanja ili razine metilacije barem jednog CpG dinukleotida u SEQ ID NO: 5, ili prosjeka, ili vrijednosti koja pokazuje srednje stanje ili razinu metilacije više CpG dinukleotida u SEQ ID NO: 5.
- 25 4. Postupak prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 3, gdje se biološki uzorak dobiven od ispitanika izabire iz grupe koja obuhvaća stanice ili stanične linije, histološka stakalca, biopsije, tkiva fiksirana parafinom, tjelesne tekućine, ejakulat, urin, krvnu plazmu, krvni serum, punu krv, izolirane krvne stanice, sputum i biološku tvar dobivenu bronhoskopijom (uključujući, ali bez ograničavanja, ispiranje bronhija, ispiranje bronhijalnih alveola, čišćenje bronhija, abraziju bronhija i kombinacije).
- 30 5. Postupak otkrivanja raka pluća, dojke ili mjehura prema zahtjevu 1, obuhvaća:
 - a) ekstrakciju ili drugačiju izolaciju genomske DNA iz biološkog uzorka dobivenog od ispitanika,
 - b) razgradnju genomske DNA iz a), ili njezinog fragmenta, s jednim ili više restriktivnih enzima osjetljivih na metilaciju;
 - c) dovođenje razgradnog produkta DNA od restriktivnog enzima iz b) u doticaj s enzimom za umnožavanje i barem dvije početnice prikladne za umnožavanje sekvence koja obuhvaća barem jedan CpG nukleotid u SEQ ID NO: 5,
 - d) utvrđivanje, na temelju prisutnosti ili odsutnosti kopije, stanja ili razine metilacije barem jednog CpG dinukleotida u SEQ ID NO: 5.
- 40 6. Uporaba nukleinske kiseline koja obuhvaća barem 16 dodirnih nukleotida obrađene genomske DNA sekvence izabrane iz grupe koja obuhvaća SEQ ID NOs: 21, 22, 45, 46, i njima komplementarne sekvence za otkrivanje raka pluća, dojke ili mjehura postupkom prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 5.
7. Uporaba prema zahtjevu 6, gdje ta nukleinska kiselina obuhvaća barem 50 dodirnih nukleotida.
8. Uporaba kita za provođenje postupka prema bilo kojem od zahtjeva 1 do 4, kit sadrži (a) bisulfit reagens; (b) spremnik prikladan za držanje tog bisulfit reagensa i biološkog uzorka bolesnika; (c) barem jedan set oligonukleotida koji sadrži dva oligonukleotida čije su sekvence u svakom slučaju identične, komplementarne ili hibridiziraju pod strogim ili iznimno strogim uvjetima u segment dužine 9 ili poželjnije 18 baza sekvence izabrane između SEQ ID NOs: 21, 22, 45 i 46.
- 45