

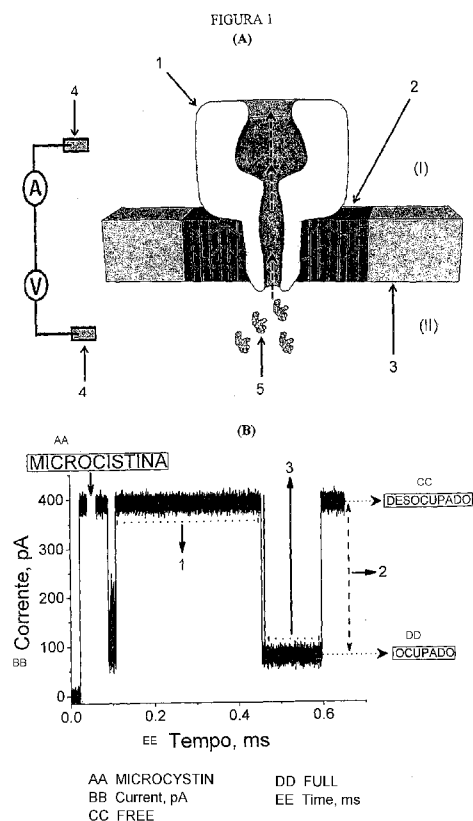


- (51) Classificação Internacional de Patentes :
G01N 27/26 (2006.01) *G01N 33/18* (2006.01)
G01N 27/404 (2006.01) *G01N 33/48* (2006.01)
- (21) Número do Pedido Internacional :
PCT/BR2012/000322
- (22) Data do Depósito Internacional :
29 de Agosto de 2012 (29.08.2012)
- (25) Língua de Depósito Internacional : Português
- (26) Língua de Publicação : Português
- (30) Dados Relativos à Prioridade :
MU9102088-3
25 de Agosto de 2011 (25.08.2011) BR
- (71) Requerente (para todos os Estados designados, exceto US) : **UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE** [BR/BR]; Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP-50670-901 Recife, PE (BR).
- (72) Inventores; e
(75) Inventores/Requerentes (para US unicamente) :
RODRIGUES, Cláudio Gabriel [BR/BR]; Av. Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP-50670-901 Recife, PE (BR). **CHEVTCHEENKO, Sergio Fernandovith** [BR/BR]; Av. Professor Artuir de As, 1168-B, Cidade Universitária, CEP-50740-520 Recife, PE (BR). **KRASILNIKOV, Oleg Vladimirovich** [BR/BR]; Av. Boa Viagem, 3440 - Apto. 1201, CEP-51020-001 Boa Viagem, PE (BR). **MACHADO, Dijannah Cota** [BR/BR]; Rua Estevão de Sá, 390 -Bloco 02 - Apto. 203, Várzea, CEP-50740-270 Recife, PE (BR). **PEREIRA DE AGUIAR, Juliana** [BR/BR]; Rua Rio Novo, 420, Vasco da Gama, CEP-52081-220 Recife, PE (BR). **SILVA JUNIOR, Janilson José da** [BR/BR]; Rua da Hora, 140, Varadouro, CEP-53020-110 Olinda, PE (BR).
- (81) Estados Designados (sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção nacional existentes) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,

(Continua na página seguinte)

(54) Title : USE OF A PROTEIN NANOPORE FOR THE DETECTION, IDENTIFICATION, QUANTIFICATION AND REAL-TIME MONITORING OF MICROCYSTINS IN AQUEOUS SYSTEMS

(54) Título : UTILIZAÇÃO DE UM NANOPORO PROTEICO PARA DETECÇÃO, IDENTIFICAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E MONITORAMENTO EM TEMPO REAL DE MICROCISTINAS EM SISTEMAS AQUOSOS



(57) Abstract : According to the present invention, there are several methods for detecting microcystins, which have a limited capacity to adequately identify and monitor in real time structural variants of said toxins. The present inventive method and inventive device enable the detection, identification, quantification and real-time monitoring of microcystins in aqueous media. The inventive method is based on the fact that the influx and interaction of microcystins in the aqueous opening of a protein nanopore, formed by alpha-toxin incorporated into a resistive matrix, induces discretized events in the ion current that flows through the nanopore. The temporal series of said events is representative of and correlated with the microcystin structural variant present in the solution contained in one of the conductive reservoirs. The segmental statistical analysis of the temporal series, combining the method of least squares and genetic optimization algorithm, allows real-time discrimination of the microcystin variants. The inventive device consists basically of a nanopore incorporated into a lipid bilayer that separates two conductive reservoirs, wherein the microcystins are placed in one of the reservoirs.

(57) Resumo :

(Continua na página seguinte)



DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (*sem indicação contrária, para todos os tipos de proteção regional existentes*) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiático (AM, AZ, BY, KG,

KZ, RU, TJ, TM), Europeu (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, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- *com relatório de pesquisa internacional (Art. 21(3))*
- *a data de depósito do pedido internacional cai dentro do prazo de dois meses a contar da data de expiração do período de prioridade (Regra 26bis.3)*

De acordo com a presente invenção existem diversos processos para detecção de microcistinas, limitados na capacidade de identificação adequada e monitoramento em tempo real de variantes estruturais destas toxinas. No presente processo inventivo e o dispositivo inventivo pode-se realizar a detecção, identificação, quantificação e monitoramento em tempo real de microcistinas em meios aquosos. O processo inventivo é baseado no fato de que a entrada e interação de microcistinas no lume aquoso de um nanoporo protéico formado pela alfatoxina incorporada em um suporte resistivo, provoca eventos discretizados na corrente iônica que flui através do nanoporo. A série temporal destes eventos é representativa e correlacionada com a variante estrutural da microcistina presente na solução contida em um dos reservatórios condutores. A análise estatística segmental da série temporal combinando o método dos mínimos quadrados e algoritmo de otimização genética, permite discriminar em tempo real as variantes de microcistinas. O dispositivo inventivo consiste basicamente em um nanoporo incorporado em uma bicamada lipídica que separa dois reservatórios condutores, onde em um deles se coloca as microcistinas.

“UTILIZAÇÃO DE UM NANOPORO PROTÉICO PARA DETECÇÃO, IDENTIFICAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E MONITORAMENTO EM TEMPO REAL DE MICROCISTINAS EM SISTEMAS AQUOSOS”.

A presente invenção refere-se a um processo baseado na utilização de um nanoporo protéico para detecção, identificação, quantificação e monitoramento em tempo real de toxinas de baixo peso molecular, especificamente, as microcistinas em meios aquosos, bem como a um dispositivo para realização do processo.

Sabe-se que dois principais processos são atualmente empregados para detecção e identificação de microcistinas e outras cianotoxinas em meios aquosos, baseado principalmente em ensaios biológicos, bioquímicos e em suas propriedades físico-químicas. Estes processos diferem em seus princípios de detecção, identificação, complexidade de execução e custos operacionais. Dentre os processos bioquímicos normalmente realiza-se o ensaio imunoenzimático (ELISA) e o ensaio de inibição da proteína fosfatase. O ELISA apesar de apresentar sensibilidade adequada, seu principal empecilho de ordem técnica, consiste nas reações cruzadas que podem levar a subestimação da concentração das cianotoxinas analisadas. Outrossim, o ensaio de inibição da proteína fosfatase é bastante sensível, porém, requer proteínas altamente purificadas de difícil disponibilização no mercado e ainda necessitam da utilização de fosfato radioativo, o que onera consideravelmente sua operacionalização, uma vez que exige o cumprimento das normas de segurança para manipulação de material radioativo. Os processos físico-químicos por sua vez são analíticos, e consideram as propriedades físico-químicas das microcistinas, tais como, a presença de grupos cromóforos sensíveis à radiação ultravioleta (UV) presentes na estrutura molecular destas cianotoxinas, cuja reatividade deve-se a grupos funcionais específicos, e também em sua estrutura ou peso molecular. Dentre os processos físico-químicos utilizam-se: cromatografia líquida de alta performance (HPLC), eletroforese capilar (EC), ressonância magnética nuclear (NMR) e a espectroscopia de massa (MS). A principal desvantagem da HPLC consiste na impossibilidade de identificação de variantes estruturais presentes em amostras de microcistinas, além da ausência de padrões específicos que podem inviabilizar sua ampla utilização, uma vez que, a identificação da amostra se dá pelo tempo de retenção. A EC apresenta baixa sensibilidade e também se faz necessário o pré-processamento da amostra no sentido de produzir produtos fluorescentes capazes de serem sensibilizados por um laser de comprimento de onda específico. Por outro lado a espectroscopia de massa e a ressonância magnética nuclear apesar de serem métodos eficientes para a determinação da estrutura molecular são bastante onerosas; e enquanto que o primeiro é destrutivo (impossibilitando o reaproveitamento da amostra analisada, para realização de contraprovas), no segundo é indispensável uma quantidade razoável (normalmente miligramas) de material de elevado grau de pureza.

Todos estes processos físico-químicos requerem pessoal altamente especializado e são muito onerosos para serem empregados de forma rotineira e em grande escala.

Adicionalmente todos os processos supracitados não permitem o monitoramento em tempo real de microcistinas, uma vez que, se faz necessário a coleta da amostra, na maioria das vezes, seu pré-processamento e finalmente a análise propriamente dita.

Nesta invenção utilizasse os conhecimentos da biomimética e se desenvolveu um processo para detecção, identificação, quantificação e monitoramento em tempo real de microcistinas em meio aquoso. O elemento de reconhecimento molecular é uma nanoestrutura, o nanoporo protéico formado pela alfatoxina nativa, depositada e referenciada no Protein Data Bank sob código - PDB ID 7AHL.

Sabe-se, por exemplo, da patente US2010122907-A1 da utilização do nanoporo da alfatoxina para determinação da massa molecular de polímeros neutros, especificamente o polietilenoglicol, porém, desconhecesse o uso deste nanoporo como elemento de detecção, identificação, quantificação e monitoramento de variantes estruturais de microcistinas.

O nanoporo protéico da alfatoxina (aHL) é uma nanoestrutura formada por sete subunidades monoméricas, que se auto-inserem em uma bicamada lipídica, criando uma via aquosa para a passagem de diferentes partículas, desde, que apresentem diâmetro menor que a região mais estreita do nanoporo. A estrutura cristalina tridimensional e a estequiometria deste nanoporo são conhecidas. A geometria do poro aquoso e seu posicionamento assimétrico em relação ao plano da membrana lipídica, também já foram elucidados em condições dinâmicas empregando substâncias não eletrolíticas. Existem duas regiões do poro, uma com diâmetro de 4,6 nm que fica praticamente fora da membrana, e outra, que fica totalmente inserido na membrana e tem diâmetro de ~2 nm, sendo composto por 14 folhas β -barril. Estes dois domínios estão separados por uma constrição de ~1,4 nm de diâmetro. Adicionalmente o nanoporo formado pela alfatoxina apresenta elevada estabilidade e condutância iônica, facilidade de incorporação em membranas naturais e bicamadas lipídicas planas sintéticas.

Na figura 1, (A), esta representado um esquema do nanoporo protéico (1) inserido na membrana lipídica (2) construída em uma barreira resistiva (3) que separa dois reservatórios condutivos (I e II), e, na (B), o registro da corrente iônica captada por um dos eletrodos (4). O mecanismo de detecção de microcistinas (5) pelo nanoporo da alfatoxina se dá pela alteração transitória discretizada, denominada de agora em diante de evento de bloqueio (figura 1B), na corrente iônica que flui através do lume aquoso do nanoporo, quando da permeação de uma molécula de microcistina por uma das entradas do nanoporo. Na figura 1 B é demonstrado o tempo interbloqueio (1), que corresponde ao nanoporo DESOCUPADO, e, o evento de bloqueio que é caracterizado por amplitude (2) e tempo de duração (3). A amplitude depende do volume relativo ocupado pela microcistina quando presente no nanoporo, e, corresponde a diminuição na condutância do nanoporo, comparativamente a situação em que a microcistina não o ocupa; enquanto que o tempo de duração do evento corresponde ao tempo de residência de uma molécula de microcistina no lume aquoso, ou seja, o tempo em que o nanoporo fica OCUPADO.

A figura 2 representa que a série temporal dos eventos de bloqueios juntamente com os tempos interbloqueios correlacionasse com a variante estrutural da microcistina, portanto, é uma espécie de sua “IMPRESSÃO DIGITAL” (A), e que a análise da série temporal dos eventos de bloqueio relativos a cada valor médio de condutância, é operacionalizada traçando-se um histograma de todos os tempos, gerando uma distribuição de tempos característicos de cada variante da microcistina (B). Igualmente a frequência dos eventos de bloqueio, ou seja, o intervalo de tempo interbloqueios depende da concentração das variantes estruturais da microcistina presente na solução contida no reservatório de onde ela advém.

Na figura 3 representa-se de forma esquemática o diagrama modular do método de análise, e, a diferença entre os valores médios da condutância do nanoporo na ausência e na presença das variantes da microcistina no lume aquoso do nanoporo, de agora em diante denominada, condutância residual, que permite, através de um gráfico bidimensional, a identificação em tempo real das variantes estruturais de microcistinas.

Na figura 4 representasse a análise dos tempos interbloqueios, que representam a ausência de microcistina no interior do nanoporo, denominado de agora em diante, tempo característico de não-ocupação, representado por τ_{on} . A forma inversa, $1/\tau_{on}$, denominado de agora em diante como taxa de transição, é proporcional a concentração da microcistina, o que permite determinar a concentração de microcistina na solução.

A figura 5 ilustra a montagem mecânica do aparato, ou seja, a câmara experimental (1) empregada para realização do processo. Os dois reservatórios (I) e (II) onde se colocam soluções iônicas, são separados por uma barreira resistiva (2) composta por uma película não condutora que apresenta em sua região central, um pequeno orifício circular de 50 μ M de diâmetro. Neste orifício usando lipídeo sintético, constrói-se uma bicamada lipídica (3). Cada um dos reservatórios contendo solução eletrolítica é acoplado eletricamente ao amplificador de alta impedância configurado como conversor corrente-voltagem (não representado na figura), através de eletrodo prata-cloreto de prata (Ag-AgCl) (4) mantidos em pontes salinas do tipo agarose 2% em cloreto de potássio 3M, acomodado em ponteiras plásticas com volume de 200 μ L, não esquematizada na figura. A corrente que flui através do nanoporo é condicionada por meio de filtro passa-baixa do tipo Butterworth, posteriormente digitalizada por um sistema de registro (5) formado por uma placa conversora analógico-digital, e finalmente armazenada diretamente na memória de um microcomputador (não representado na figura).

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para detecção de toxinas de baixo peso molecular, especificamente microcistinas em meio aquoso, caracterizado pelo fato de que a interação de moléculas de microcistinas através do lume aquoso do nanoporo protéico formado pela alfatoxina nativa, gera alterações discretizadas típicas no fluxo da corrente iônica que o permeia e, que estas alterações são dependentes desta classe de toxinas.

2. Processo para identificação de variantes estruturais de microcistinas em meio aquoso, caracterizado pelo fato de que a interação de cada variante estrutural da microcistina através do lume aquoso do nanoporo protéico formado pela alfatoxina nativa, provoca alterações discretizadas específicas no fluxo de corrente iônica que o permeia, e, que estas alterações são dependentes das propriedades estruturais de cada variante da microcistina.

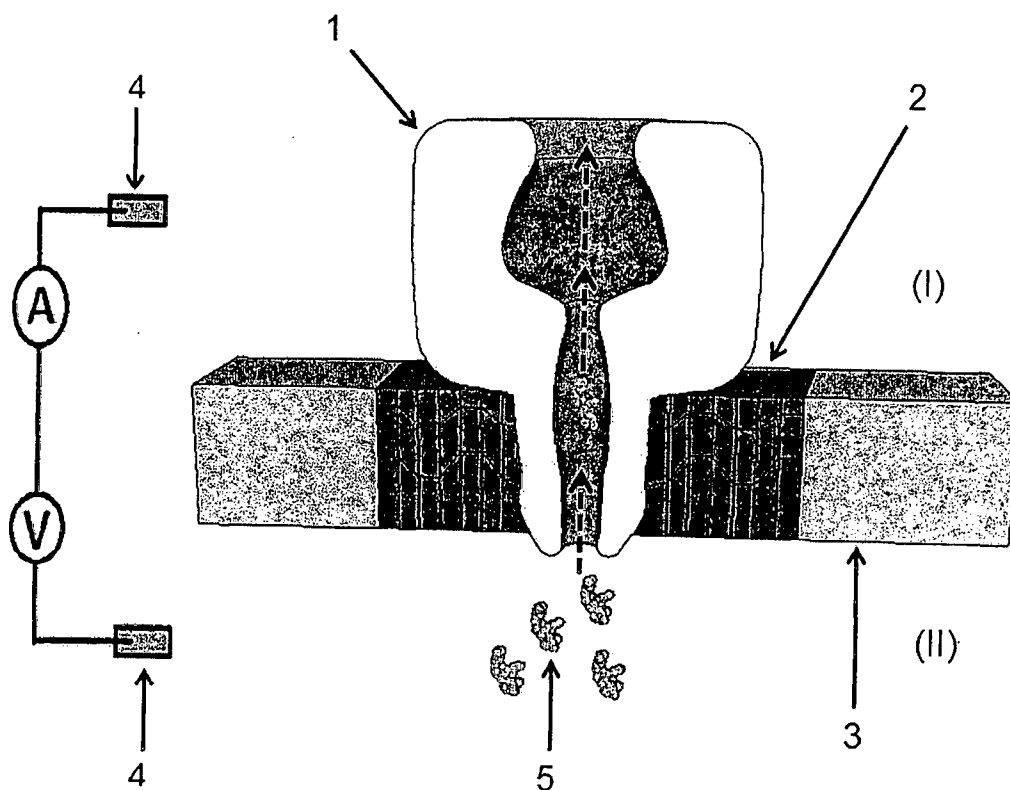
3. Processo para quantificação de microcistinas em meio aquoso, caracterizado pelo fato de que a interação de cada variante estrutural da microcistina através do lume aquoso do nanoporo protéico formado pela alfatoxina nativa, provoca alterações discretizadas específicas no fluxo de corrente iônica que o permeia, e, que a distribuição dos intervalos de tempo entre os eventos sucessivos de bloqueio de corrente iônica provocados por interação de cada variante estrutural da microcistina com o lume aquoso do nanoporo protéico, são dependentes da concentração ou quantidade destas moléculas no reservatório de onde elas advêm.

4. Processo para o monitoramento em tempo real de microcistinas em meio aquoso, caracterizado pelo fato de que a interação de cada variante estrutural da microcistina através do lume aquoso do nanoporo protéico formado pela alfatoxina nativa, provoca alterações discretizadas específicas para cada microcistina e que sua comparação com um banco de dados permite a identificação instantânea de cada molécula de microcistina que interagir com o nanoporo.

5. Dispositivo de acordo com as reivindicações 1, 2, 3 e 4 caracterizado por uma câmara experimental composta por material isolante e inerte, dividida em dois reservatórios condutores separados por uma barreira resistiva, no qual há uma única via de condução elétrica.

FIGURA 1

(A)



(B)

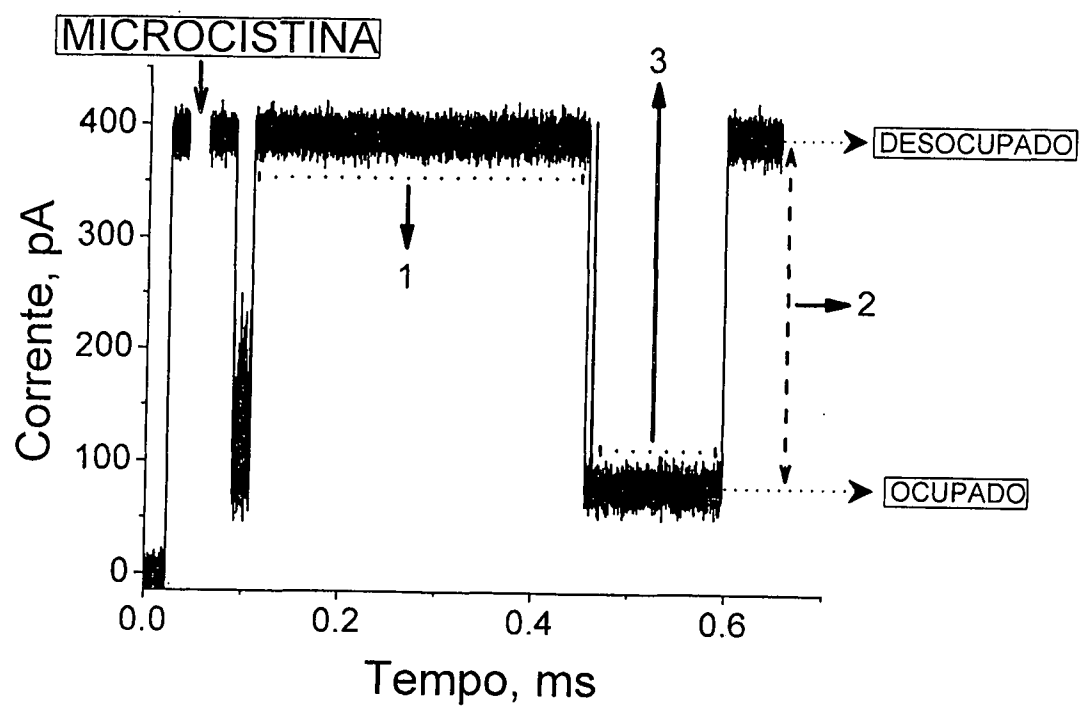


FIGURA 2

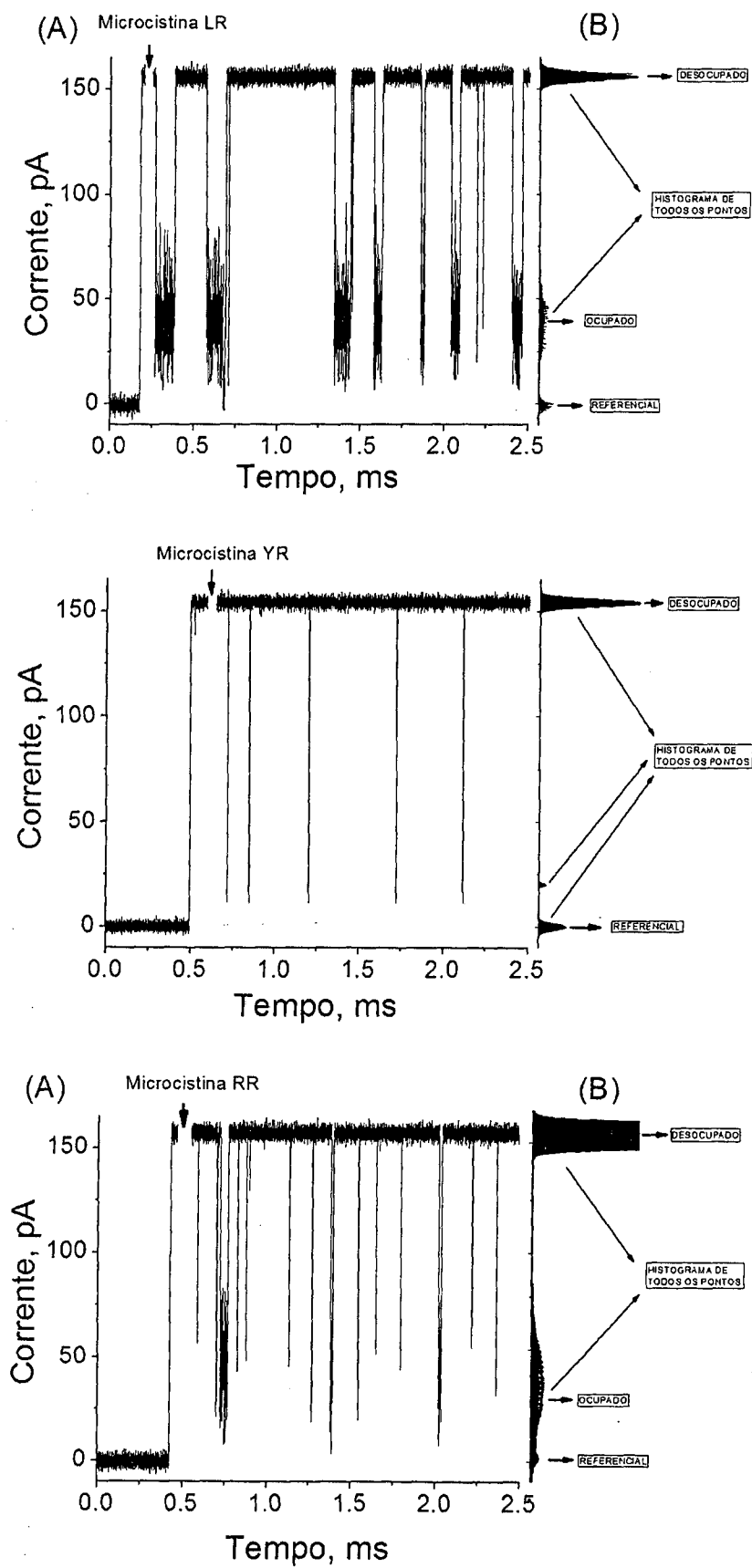
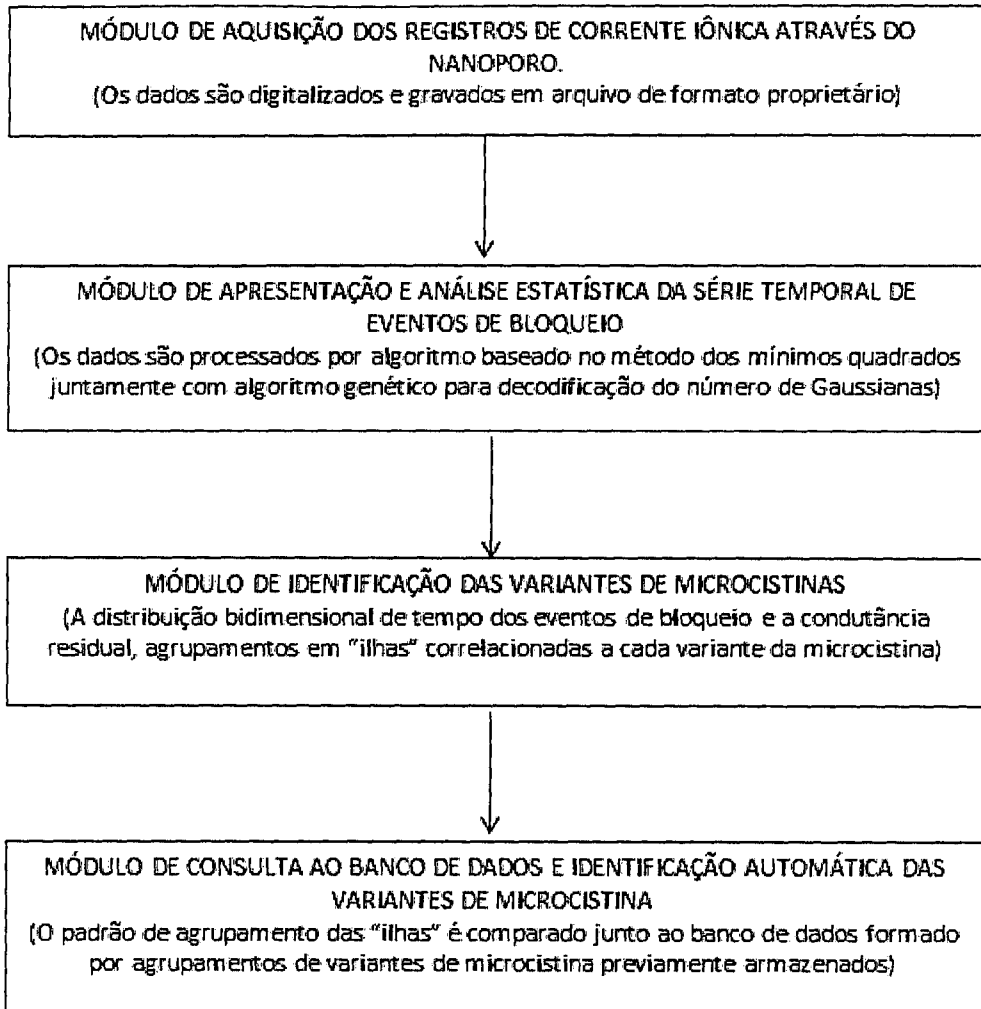


FIGURA 3.

(A)



(B)

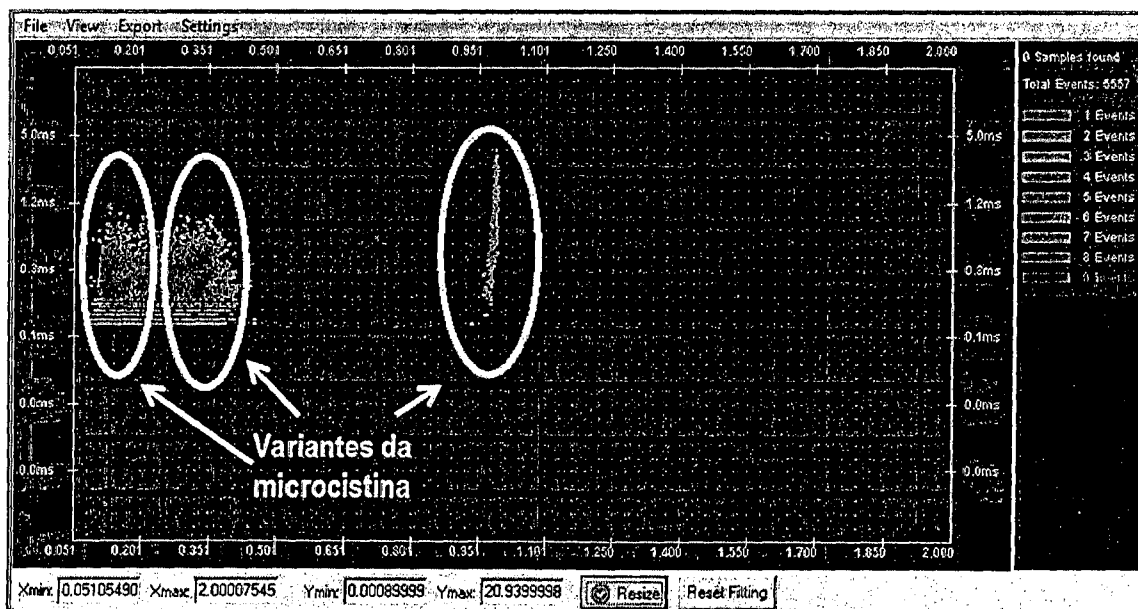


FIGURA 4.

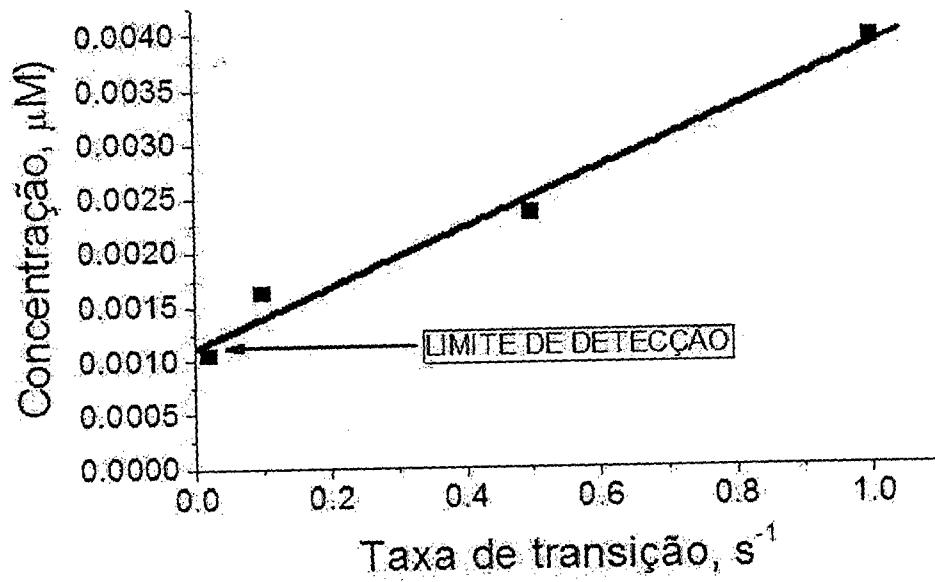
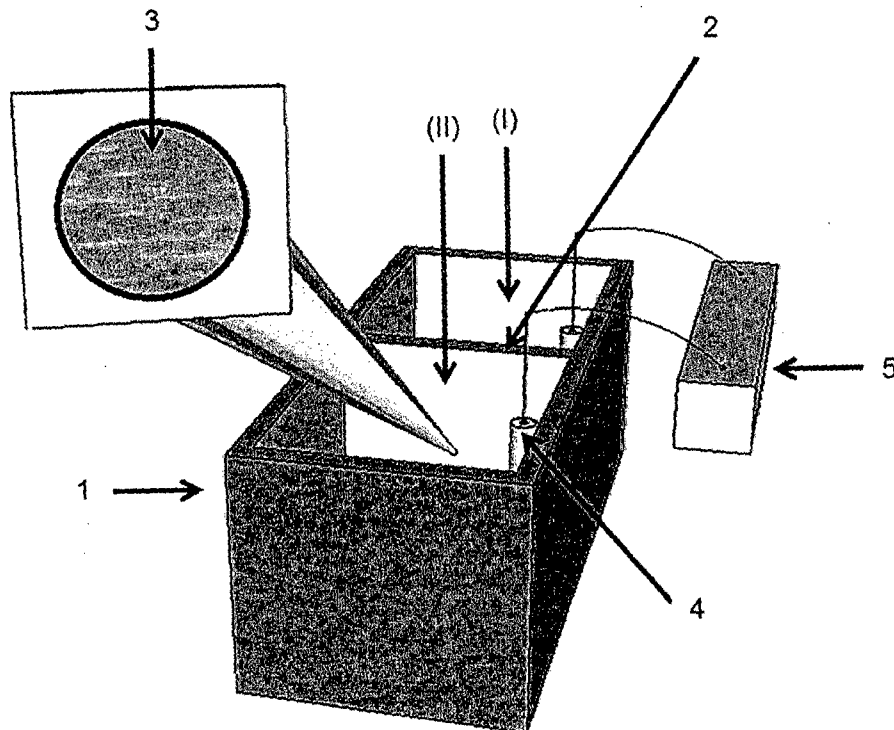


FIGURA 5.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2012/000322

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N27/26 (2006.01), G01N27/404 (2006.01), G01N 33/18 (2006.01), G01N33/48 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N37. G01N33

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Portal Capes (database Banco de Teses e Dominio Público), Portal CNPq (currículo lattes)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Dialog (Database WPI b351, Biósis b5, Embase b73, thesis & dissertations b35), Epodoc, Pubmed

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Janilson José da Silva Junior, Utilização de Nanoporo protéicos no desenvolvimento de Sensores Tese de Mestrado Universidade Federal de Pernambuco Iv. 85P defendida em 01/08/2011 Abstract	1 a 5
X	----- SILVA JÚNIOR, Janilson José da ; KRASILNIKOV, O.V. RODRIGUES C.G. NANOPORO PROTÉICO FORMADO PELA ALFATOXINA COMO BIOSSENSORES DE MOLÉCULAS EM SISTEMAS AQUOSOS. In: 1º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica, 2009, Recife/PE. Anais do 1º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica Abstract	1 a 5
A	----- WO 0159453 A2 (TEXAS A M UNIV SYS [US]) 16 August 2001 (2001-08-16) documento inteiro	1 a 5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

06/11/2012

Date of mailing of the international search report

07/12/2012

Name and mailing address of the ISA/

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/BR2012/000322

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	----- WO 03095669 A1 (TEXAS A M UNIV SYS [US]) 20 novembro 2003 (2003-11-20) documento inteiro	1 a 5
A	----- US 2010072080 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]) 25 março 2010 (2010-03-25) documento inteiro	1 a 5
A	----- WO 2009077734 A2 (SANGHERA GURDIAL SINGH [GB]) 25 junho 2009 (2009-06-25) documento inteiro	1 a 5
A	----- WO 2007084103 A2 (BAYLEY HAGAN [US]) 26 julho 2007 (2007-07-26) documento inteiro	1 a 5
A	----- US 2010122907 A1 (NAT INST OF STANDARDS TECH [US]) 20 maio 2010 (2010-05-20) documento inteiro -----	1 a 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/BR2012/000322

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
WO 0159453 A2	2001-08-16	AU 4147401 A EP 1255772 A2 EP 2083015 A2 EP 2261240 A2 US 2002094526 A1 US 6916665 B2 US 2005208574 A1 WO 0159453 A3	2001-08-20 2002-11-13 2009-07-29 2010-12-15 2002-07-18 2005-07-12 2005-09-22 2002-04-25
WO 03095669 A1	2003-11-20	AU 2003245272 A1 EP 1504114 A1 US 2003215881 A1 US 2009283422 A1	2003-11-11 2005-02-09 2003-11-20 2009-11-19
US 2010072080 A1	2010-03-25	None	
WO 2009077734 A2	2009-06-25	AU 2008337348 A1 CA 2708624 A1 CN 101932933 A EP 2232261 A2 GB 0724736 D0 IL 206196 D0 JP 2011506994 A KR 20100114038 A MX 2010006805 A NZ 586167 A RU 2010129446 A US 2009167288 A1 US 2011120871 A1 WO 2009077734 A3	2009-06-25 2009-06-25 2010-12-29 2010-09-29 2008-01-30 2010-12-30 2011-03-03 2010-10-22 2010-09-09 2012-06-29 2012-01-27 2009-07-02 2011-05-26 2009-10-15
WO 2007084103 A2	2007-07-26	EP 1842061 A2 US 2008101988 A1 US 7867716 B2 WO 2007084103 A3	2007-10-10 2008-05-01 2011-01-11 2007-11-01
US 2010122907 A1	2010-05-20	None	

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional Nº

PCT/BR2012/000322

A. CLASSIFICAÇÃO DO OBJETO

G01N27/26 (2006.01), G01N27/404 (2006.01), G01N 33/18 (2006.01), G01N33/48 (2006.01)

De acordo com a Classificação Internacional de Patentes (IPC) ou conforme a classificação nacional e IPC

B. DOMÍNIOS ABRANGIDOS PELA PESQUISA

Documentação mínima pesquisada (sistema de classificação seguido pelo símbolo da classificação)

G01N37. G01N33

Documentação adicional pesquisada, além da mínima, na medida em que tais documentos estão incluídos nos domínios pesquisados

Portal Capes (database Banco de Teses e Domínio Público), Portal CNPq (currículo lattes)

Base de dados eletrônica consultada durante a pesquisa internacional (nome da base de dados e, se necessário, termos usados na pesquisa)

Dialog (Database WPI b351, Biòsis b5, Embase b73, thesis & dissertations b35), Epodoc, Pubmed

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
X	Janilson José da Silva Junior, Utilização de Nanoporo protéicos no desenvolvimento de Sensores Tese de Mestrado Universidade Federal de Pernambuco 1v. 85P defendida em 01/08/2011 resumo	1 a 5
X	SILVA JÚNIOR, Janilson José da ; KRASILNIKOV, O.V.; RODRIGUES C.G. NANOPORO PROTÉICO FORMADO PELA ALFATOXINA COMO BIOSSENSORES DE MOLÉCULAS EM SISTEMAS AQUOSOS. In: 1º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica, 2009, Recife/PE. Anais do 1º Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica resumo	1 a 5
A	WO 0159453 A2 (TEXAS A M UNIV SYS [US]) 16 agosto 2001 (2001-08-16) documento inteiro	1 a 5

☒ Documentos adicionais estão listados na continuação do quadro C☒ Ver o anexo de famílias das patentes

* Categorias especiais dos documentos citados:

"A" documento que define o estado geral da técnica, mas não é considerado de particular relevância.

"E" pedido ou patente anterior, mas publicada após ou na data do depósito internacional

"L" documento que pode lançar dúvida na(s) reivindicação(ões) de prioridade ou na qual é citado para determinar a data de outra citação ou por outra razão especial

"O" documento referente a uma divulgação oral, uso, exibição ou por outros meios.

"P" documento publicado antes do depósito internacional, porém posterior a data de prioridade reivindicada.

"T" documento publicado depois da data de depósito internacional, ou de prioridade e que não conflita como depósito, porém citado para entender o princípio ou teoria na qual se baseia a invenção.

"X" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada nova e não pode ser considerada envolver uma atividade inventiva quando o documento é considerado isoladamente.

"Y" documento de particular relevância; a invenção reivindicada não pode ser considerada envolver atividade inventiva quando o documento é combinado com outro documento ou mais de um, tal combinação sendo óbvia para um técnico no assunto.

"&" documento membro da mesma família de patentes.

Data da conclusão da pesquisa internacional

06/11/2012

Data do envio do relatório de pesquisa internacional:

071212

Nome e endereço postal da ISA/BR



INSTITUTO NACIONAL DA
PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Rua São Bento nº 1, 17º andar
cep: 20090-010, Centro - Rio de Janeiro/RJ

Nº de fax:

+55 21 3037-3663

Funcionário autorizado

Karla Consort Ribeiro

Nº de telefonê:

+55 21 3037-3493/4169

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL

Depósito internacional Nº

PCT/BR2012/000322

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoria*	Documentos citados, com indicação de partes relevantes, se apropriado	Relevante para as reivindicações Nº
A	----- WO 03095669 A1 (TEXAS A M UNIV SYS [US]) 20 novembro 2003 (2003-11-20) documento inteiro	1 a 5
A	----- US 2010072080 A1 (UNIV CALIFORNIA [US]) 25 março 2010 (2010-03-25) documento inteiro	1 a 5
A	----- WO 2009077734 A2 (SANGHERA GURDIAL SINGH [GB]) 25 junho 2009 (2009-06-25) documento inteiro.	1 a 5
A	----- WO 2007084103 A2 (BAYLEY HAGAN [US]) 26 julho 2007 (2007-07-26) documento inteiro	1 a 5
A	----- US 2010122907 A1 (NAT INST OF STANDARDS TECH [US]) 20 maio 2010 (2010-05-20) documento inteiro -----	1 a 5

RELATÓRIO DE PESQUISA INTERNACIONAL
 Informação relativa a membros da família da patentes

Depósito internacional Nº

PCT/BR2012/000322

Documentos de patente citados no relatório de pesquisa	Data de publicação	Membro(s) da família de patentes	Data de publicação
WO 0159453 A2	2001-08-16	AU 4147401 A EP 1255772 A2 EP 2083015 A2 EP 2261240 A2 US 2002094526 A1 US 6916665 B2 US 2005208574 A1 WO 0159453 A3	2001-08-20 2002-11-13 2009-07-29 2010-12-15 2002-07-18 2005-07-12 2005-09-22 2002-04-25
WO 03095669 A1	2003-11-20	AU 2003245272 A1 EP 1504114 A1 US 2003215881 A1 US 2009283422 A1	2003-11-11 2005-02-09 2003-11-20 2009-11-19
US 2010072080 A1	2010-03-25	Nenhum	
WO 2009077734 A2	2009-06-25	AU 2008337348 A1 CA 2708624 A1 CN 101932933 A EP 2232261 A2 GB 0724736 D0 IL 206196 D0 JP 2011506994 A KR 20100114038 A MX 2010006805 A NZ 586167 A RU 2010129446 A US 2009167288 A1 US 2011120871 A1 WO 2009077734 A3	2009-06-25 2009-06-25 2010-12-29 2010-09-29 2008-01-30 2010-12-30 2011-03-03 2010-10-22 2010-09-09 2012-06-29 2012-01-27 2009-07-02 2011-05-26 2009-10-15
WO 2007084103 A2	2007-07-26	EP 1842061 A2 US 2008101988 A1 US 7867716 B2 WO 2007084103 A3	2007-10-10 2008-05-01 2011-01-11 2007-11-01
US 2010122907 A1	2010-05-20	Nenhum	