



(19) REPUBLIKA HRVATSKA  
DRŽAVNI ZAVOD ZA  
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(10) Identifikator  
dokumenta:



HR P20231232 T1

HR P20231232 T1

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

(51) MKP:

**G01N 33/68** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 25/16** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)

(46) Datum objave prijevoda patentnih zahtjeva: 19.01.2024.

(21) Broj predmeta: P20231232T

(22) Datum podnošenja : 11.09.2015.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US2015049844  
Datum podnošenja međunarodne prijave: 11.09.2015.

(96) Broj europske prijave patenta: EP 15839278.7  
Datum podnošenja europske prijave patenta: 11.09.2015.

(87) Broj međunarodne objave: WO 2016040907  
Datum međunarodne objave: 17.03.2016.

(97) Broj objave europske prijave patenta: EP 3191599 A1  
Datum objave europske prijave patenta: 19.07.2017.

(97) Broj objave europskog patenta: EP 3191599 B1  
Datum objave europskog patenta: 02.08.2023.

(31) Broj prve prijave: 201462049306 P (32) Datum podnošenja prve prijave: 11.09.2014. (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(73) Nositelji patenta:

**Board of Regents of the University of Texas System, 201 West 7th Street,  
Austin, TX 78701, US  
Amprion, Inc., 149 New Montgomery St., Floor 4, San Francisco, CA  
94105, US  
Claudio Soto Jara, 2902 Conway Street, Houston, TX 77025, US  
Mohammad Shahnawaz, 5151 Edloe Street, Apartment 11407, Houston,  
TX 77005, US  
Russell M. Lebovitz, 222 Broadway 1304, Oakland, CA 94607, US  
Benedikt K. Vollrath, 4704 Niagara Avenue, San Diego, CA 92107, US  
Claudio Soto Jara, 2902 Conway Street, Houston, TX 77025, US  
Mohammad Shahnawaz, 5151 Edloe Street, Apartment 11407, Houston,  
TX 77005, US  
Russell M. Lebovitz, 222 Broadway 1304, Oakland, CA 94607, US  
Benedikt K. Vollrath, 4704 Niagara Avenue, San Diego, CA 92107, US**

(72) Izumitelji:

(74) Zastupnik:

Odvjetnica Danija Budimir, 10000 Zagreb, HR

(54) Naziv izuma:

**OTKRIVANJE POGREŠNO SAVIJENIH PROTEINA**

HR P20231232 T1

## PATENTNI ZAHTEJEVI

1. In vitro metoda za otkrivanje prisutnosti topljivog, agregiranog pogrešno savijenog proteina koji sadrži agregate alfa-sinukleina u uzorku koji sadrži biološku tekućinu, metoda koja uključuje:
  - (A) osiguravanje inkubacijske smjese, pri čemu inkubacijska smjesa sadrži:
    - (1) monomerni, presavijeni protein koji sadrži alfa-sinuklein koji nije povezan sa sjemenkama alfa-sinukleina, u rasponu koncentracija od oko 10 nM do oko 200  $\mu$ M;
    - (2) pufer koji ima pH između 6 i 7,4;
    - (3) sastav soli koji sadrži jedan ili više NaCl ili KCl, navedeni sastav soli ima ukupnu koncentraciju od 500 mM  $\pm$ 10%;
    - (4) tioflavin T (ThT); i
    - (5) uzorak;
 gdje je spomenuti monomerni, presavijeni protein koji sadrži alfa-sinuklein u molarnom suvišku u odnosu na tioflavin;
  - (B) provođenje dva ili dva ciklusa inkubacije koji su opetovano učinkoviti za stvaranje amplificiranog dijela pogrešno savijenog proteina, a koji se sastoji od: inkubacije inkubacijske smjese na temperaturi između 15°C i 50°C kako bi se induciralo najmanje agregiranje, i dio monomernog, pogrešno savijenog proteina u prisutnosti topljivog, agregiranog pogrešno savijenog proteina i mućkanja inkubacijske smjese učinkovito da poremeti barem dio bilo kojeg prisutnog proteinskog agregata; i
  - (C) određivanje prisutnosti topljivog, agregiranog pogrešno savijenog proteina u uzorku detekcijom fluorescencije Tht.
2. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što se monomerni, presavijeni protein koji sadrži protein alfa-sinuklein proizvodi jednim od sljedećeg: kemijskom sintezom, rekombinantnom proizvodnjom ili ekstrakcijom iz nerekombinantnih bioloških tekućina.
3. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što korak inkubacije inkubacijske smjese uključuje podvrgavanje inkubacijske smjese cikličkom miješanju.
4. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što korak osvjetljavanja inkubirane smjese valnom duljinom svjetlosti koja pobuđuje ThT uključuje osvjetljavanje na oko 435 nm i praćenje fluorescencije ThT na oko 485 nm.
5. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što se barem jedan od koraka inkubacije inkubacijske smjese s ciklusima miješanja provodi upotrebom čitača mikropločica.
6. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što biološka tekućina sadrži jedno ili više od: amnionske tekućine; žuči; krvi; cerebrospinalne tekućine; cerumena; kože; eksudata; izmeta; želučane tekućine; limfe; mlijeka; sluzi; sluznice; peritonealne tekućine; krvne plazme; pleuralne tekućine; gnoja; sline; sebuma; sjemena; znoja; sinovijalne tekućine; suza; i urina.
7. Metoda sukladno zahtjevu 1, naznačena time što je prisutnost topljivog, agregiranog pogrešno savijenog proteina koji sadrži alfa-sinuklein indikativna za poremećaj pogrešnog savijanja proteina (PMD).