

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2770892

Тест-система и способ выявления делеций длинного плеча 6 хромосомы

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр гематологии" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НМИЦ гематологии" Минздрава России) (RU)*

Авторы: *Сычевская Ксения Андреевна (RU), Кравченко Сергей Кириллович (RU), Судариков Андрей Борисович (RU)*

Заявка № 2021121807

Приоритет изобретения **22 июля 2021 г.**

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации **25 апреля 2022 г.**

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает **22 июля 2041 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов





(51) МПК
 C12Q 1/68 (2006.01)
 C12Q 1/6806 (2018.01)
 C12Q 1/6844 (2018.01)
 C12Q 1/6886 (2018.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(52) СПК
 C12Q 1/6844 (2021.08); C12Q 2531/113 (2021.08); G01N 33/5017 (2021.08)

(21)(22) Заявка: 2021121807, 22.07.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 22.07.2021

Дата регистрации:
 25.04.2022

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 22.07.2021

(45) Опубликовано: 25.04.2022 Бюл. № 12

Адрес для переписки:
 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4,
 ФГБУ "НМИЦ гематологии" Минздрава
 России, Генеральному директору Е.Н.
 Паровичниковой

(72) Автор(ы):

Сычевская Ксения Андреевна (RU),
 Кравченко Сергей Кириллович (RU),
 Судариков Андрей Борисович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 учреждение "Национальный медицинский
 исследовательский центр гематологии"
 Министерства здравоохранения Российской
 Федерации (ФГБУ "НМИЦ гематологии"
 Минздрава России) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: TAKEUCHI S. et al., Frequent loss of
 heterozygosity on the long arm of chromosome
 6: identification of two distinct regions of deletion
 in childhood acute lymphoblastic leukemia,
 Cancer Res, 1998, Vol. 58, No 12, pp. 2618-23.
 GYAPAY G. et al., The 1993-94 G´n´
 eacute;thon human genetic linkage map, Nat
 Genet, 1994, Vol. 7, No 2 Spec, pp. (см. прод.)

(54) Тест-система и способ выявления делеций длинного плеча 6 хромосомы

(57) Формула изобретения

1. Набор олигонуклеотидных пар праймеров для специфической амплификации двадцати микросателлитных локусов длинного плеча 6 хромосомы человека (6q): D6S430, расположенный в локусе 6q12, D6S1681, расположенный в локусе 6q14, D6S460, расположенный в локусе 6q14-15, D6S1613, расположенный в локусе 6q16, D6S300, расположенный в локусе 6q16-21, D6S434, расположенный в локусе 6q21, D6S447, расположенный в локусе 6q21, D6S1594, расположенный в локусе 6q21, D6S261, расположенный в локусе 6q21-22, D6S287, расположенный в локусе 6q22, D6S407, расположенный в локусе 6q22-23, D6S262, расположенный в локусе 6q23, D6S292, расположенный в локусе 6q23, D6S403, расположенный в локусе 6q23, D6S311, расположенный в локусе 6q24-25, D6S441, расположенный в локусе 6q25, D6S415, расположенный в локусе 6q25.3, D6S305, расположенный в локусе 6q26, D6S1719, расположенный в локусе 6q26-27, D6S446, расположенный в локусе 6q27, имеющих следующие нуклеотидные последовательности SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 40:
 D6S430-F: 5'-CAGCATAGTTCCTTCAAGCACA-3',

RU 2770892 C1

- D6S430-R: 5'-ROX-GGCTTCCCCTTCACTTCTTCA-3',
- D6S1681 -F: 5'-ACACAGGCATTCAAATCAGAGC-3',
- D6S1681 -R: 5'-FAM-CACTCACCACTAAATGTTTCAGT-3',
- D6S434-F: 5'-CAACACACAGGTAGTCCCCC-3',
- D6S434-R: 5'-ROX-AGCTCAGGGCTTATGCCAG-3',
- D6S261 -F: 5'-TGAAACCCTGTCTCACTGC ATA-3',
- D6S261 -R: 5'-FAM-TATAGGACCATGCCATTAGGC-3',
- D6S403-F: 5'-TCTGAAGAAAGAGGCGTTAACCA-3,
- D6S403-R: 5'-FAM-CCGGCCCAAAGTCTTGT-3',
- D6S460-F: 5'-CCCAGGCTTATAAAGGTGGC-3',
- D6S460-R: 5'-ROX-TGGTTCTCTCACCCCTTTTGT-3',
- D6S300-F: 5'-TGCCTTCTTAATGCTGCTCA-3',
- D6S300-R: 5'-F AM- ACTTGCTTCTCTTGCCTC AA-3',
- D6S1594-F: 5'-GCCTGAGACTCTTCAATGCCT-3',
- D6S1594-R: 5'-FAM-AGCTTAAAGTGTAGGACGGT-3',
- D6S287-F: 5'-GCTTCTGTAATTTTCTATAGCCTAC-3',
- D6S287-R: 5'-ROX-GCCTTTGCCCTGAGTATTGG-3',
- D6S292-F: 5'-AATTCACAAGACACAATCTCAG-3',
- D6S292-R: 5'-FAM-AGAАCTAAAGTTGCCTGTTCTTGTA-3,
- D6S311-F: 5'-GGCAGTGGACATGGAACCTT-3',
- D6S311-R: 5'-FAM-TGGATTCAGAGCCCAGGAAG-3',
- D6S447-F: 5'-TTCTCTCGCTCTCTCACAGC-3',
- D6S447-R: 5'-ROX-ATTCCAGAGAGCGGGGCAAA-3',
- D6S262-F: 5'-AGATAGCCGAATATGCAACCA-3',
- D6S262-R: 5'-FAM-GGACTCTCAGTTAACAAGGAGCA-3',
- D6S441-F: 5'-AAC AATATTTGGTGACTGTTAAAGG-3',
- D6S441 -R: 5'-ROX-TGGACAAATTGATTAGGAAGTAAAG-3',
- D6S305-F: 5'-TCCTCTCCACCAGCGTTAGA-3',
- D6S305-R: 5'-FAM-GTTTAGATCCCAGGCCTGCA-3',
- D6S446-F: 5'-AGGGATGTCTACACCTACAC-3',
- D6S446-R: 5'-FAM-GGGAGGACGTTCTGGTTTCA-3',
- D6S415-F: 5'-TCGGCCACCAGAAGTAAAGC-3',
- D6S415-R: 5'-ROX-GGAGGTGCAGCATCTTTCCT-3',
- D6S1719-F: 5'-GGAАCTACTCCCATTCCAACC-3',
- D6S1719-R: 5'-FAM-GAGATACAAGCAGGAGGTAGCA-3,
- D6S407-F: 5'-AAAAGTACCTCCCGCCC-3',
- D6S407-R: 5'-FAM-GGGGACAGTTACCTTTGGAGT-3',
- D6S1613-F: 5'-AGGAAGACTCCACCTCATTTAAA-3',
- D6S1613-R: 5'-ROX-TCAAGATTAAGTTCCTGGCCAT-3'.

2. Тест-система для определения делеций длинного плеча 6 хромосомы (6q) методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), состоящая из набора олигонуклеотидных пар праймеров по п. 1, разделенного на 4 пула-смеси праймеров, исключающих вероятность взаимного отжига и образования димеров, и с учетом лучшей визуализации отдельных ПЦР-продуктов:

1 пул - D6S1681 - 2,5 пмоль/мкл, D6S434 - 10 пмоль/мкл, D6S403 - 5 пмоль/мкл, D6S1613 - 5 пмоль/мкл;

2 пул - D6S292 - 5 пмоль/мкл, D6S460 - 10 пмоль/мкл, D6S287 - 10 пмоль/мкл, D6S300 - 4 пмоль/мкл, D6S311 - 4 пмоль/мкл;

3 пул - D6S447 - 10 пмоль/мкл, D6S262 - 4 пмоль/мкл, D6S441 - 15 пмоль/мкл, D6S305 - 5 пмоль/мкл, D6S446 - 3,75 пмоль/мкл, D6S261 - 5 пмоль/мкл;

RU 2770892 C1

4 пул - D6S1594 - 3,75 пмоль/мкл, D6S1719 - 5 пмоль/мкл, D6S415 - 10 пмоль/мкл, D6S430 - 10 пмоль/мкл, D6S407 - 5 пмоль/мкл;

реактивов для проведения ПЦР: 10x ПЦР-Буфер-Б, смесь dNTP по 25 мМ, 25 мМ раствор MgCl₂, Taq-полимераза, деионизированная вода.

3. Способ выявления пациентов с риском неблагоприятного течения фолликулярной лимфомы по наличию значимых делеций длинного плеча 6 хромосомы (6q) с помощью тест-системы по п. 2, включающий следующие этапы: сбор и подготовка парных образцов опухоли и контрольной ткани, при этом в качестве образца опухолевой ткани допустимо использование фрагментов опухолевого биоптата, срезов с парафиновых блоков с последующей депарафинизацией, клеток периферической крови или аспирата костного мозга, в качестве парного нормального образца используют клетки периферической крови того же пациента, а в случае лейкоемизации - клетки буккального эпителия; выделение ДНК, проведение мультиплексной ПЦР с помощью тест-системы по п. 2 для каждого образца при следующих условиях:

первичная денатурация 95°C 10 минут,

35 циклов денатурации при 95°C 40 секунд, отжига при 57°C 40 секунд,

элонгации при 72°C 30 секунд,

заключительная элонгация при 72°C 5 минут;

продукты амплификации в разведении 1:60-100 смешивают с формамидом в соотношении 1:3 и денатурируют при 95°C в течение 3 минут, после чего проводят фрагментный анализ на основе капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе; интерпретацию полученных данных, при этом наличие делеции региона 6q в случае гетерозиготного наследования на основании отсутствия пиков одного из аллелей или уменьшения интенсивности его флуоресценции по отношению к пику второго аллеля соответствующего микросателлитного локуса в опухолевой ткани при сравнении с контрольным образцом позволяет выделять группу пациентов с риском неблагоприятного течения фолликулярной лимфомы.

(56) (продолжение):

246-339. INOUE M. et al., Chromosome 6 suffers frequent and multiple aberrations in thymoma, Am J Pathol, 2002, Vol. 161, No. 4, pp. 1507-13. US20200255913 A1, 13.08.2020. RU2717309 C2, 20.03.2020.

