(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
24 de enero de 2013 (24.01.2013)

WIPO | PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2013/011178 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes:
C12Q 1/54 (2006.01) *C07K 19/00* (2006.01)
G01N 30/02 (2006.01) *B01D 15/08* (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2012/070501

(22) Fecha de presentación internacional:
5 de julio de 2012 (05.07.2012)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
61/507,643 14 de julio de 2011 (14.07.2011) US

(71) Solicitante *(para todos los Estados designados salvo US)*: **GRIFOLS, S.A.** [ES/ES]; C/ Jesus Y Maria, 6, E-08022 Barcelona (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes *(para US solamente)*: **WANG, Zihao** [CN/US]; 3100 Sentinel Ferry Lane, Cary, North Carolina 27519 (US). **SLOAN, Jessica** [US/US]; 323 Bald Head Island Drive, Garner, NC 27529 (US). **WEE, Kevin** [US/US]; 7017 Kimi Road, Wake Forest, North Carolina 27587 (US).

(74) Mandatarios: **DURAN MOYA, Luis Alfonso** et al.; c/o Duran Corretjer Corsega, 329, E-080037 Barcelona (ES).

(81) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, 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.

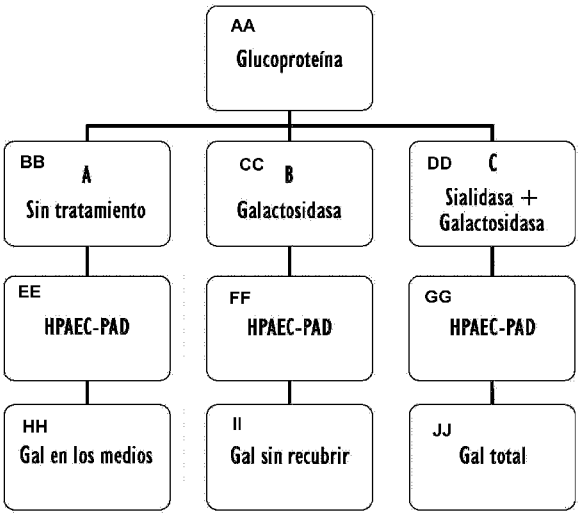
(84) Estados designados *(a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW,

[Continúa en la página siguiente]

(54) **Title**: RAPID AND ACCURATE ANALYSIS OF PROTEIN SIALYLATION

(54) **Título** : ANÁLISIS RÁPIDO Y PRECISO DE LA SIALILACIÓN DE PROTEÍNAS

FIG. 1



AA Gluco-protein
BB No treatment
CC Galactosidase
DD Sialidase + Galactosidase
HH Gal. in media
II Only Gal.
JJ Total Gal.

(57) **Abstract**: The invention relates to methods and kits for the analysis of the sialylation of gluco-proteins. The samples of gluco-protein are incubated separately under three conditions: with beta-galactosidase, with beta-galactosidase + alpha-sialidase, and without an enzyme. After the enzyme treatment, high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC PAD) is used to make a quantitative determination of the total galactose in the sample, the non sialylated galactose and the exogenous galactose in the medium. The determination of said values makes it possible to deduce the percentage of sialylation of the gluco-protein.

(57) **Resumen**: Métodos y kits para el análisis de la sialilación de glucopro teínas. Las muestras de glucoproteína se incuban por separado en tres condiciones: con beta-galactosidasa, con beta-galactosidasa + alfa-sialidasa, y sin enzima. Tras el tratamiento enzimático, se determinan cuantitativamente mediante cromatografía de intercambio aniónico de alta resolución con detección amperométrica pulsada (HPAEC PAD) la galactosa total en la muestra, la galactosa no sialilada y la galactosa exógena del medio. La determinación de estos valores permite deducir el porcentaje de sialilación de la glucoproteína.

WO 2013/011178 A1