

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2015/094017 A1

(43) Дата международной публикации
25 июня 2015 (25.06.2015)

WIPO | РСТ

(51) Международная патентная классификация:
C12N 15/10 (2006.01) C12Q 1/68 (2006.01)

Большая Дорогомиловская, 14, офис 96, Москва, Мо-
scow (RU).

(21) Номер международной заявки: РСТ/RU2014/000941

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны): 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, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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.

(22) Дата международной подачи:
12 декабря 2014 (12.12.2014)

(25) Язык подачи: Русский

(26) Язык публикации: Русский

(30) Данные о приоритете:
2013155716 16 декабря 2013 (16.12.2013) RU

(71) Заявитель: МАМОНТОВА, Марина Васильевна
(MAMONTOVA, Marina Vasilevna) [RU/RU];
Коробейников переулок, 3-5, Москва, 119034, Moscow
(RU).

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), европейский патент (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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Изобретатель; и

(71) Заявитель : ПОСПЕЛОВ, Вадим Игоревич
(POSPELOV, Vadim Igorevich) [RU/RU]; ул. Астахова,
21-10, Коломна, 140407, Kolomna (RU).

(72) Изобретатели: АБРАМОВ, Александр Андреевич
(ABRAMOV, Aleksandr Andreevich); Боровское
шоссе, 39-99, Москва, 119634, Moscow (RU).
МУРАШКО, Дмитрий Александрович (MURAS-
HKO, Dmitrij Aleksandrovich); ул. Твардовского, 5/2-
220, Москва, 123458, Moscow (RU).

Декларации в соответствии с правилом 4.17:

— об авторстве изобретения (правило 4.17 (iv))

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(74) Агент: ЛЕОНОВ, Александр Владимирович (LE-
ONOV, Aleksandr Vladimirovich); ЗАКРЫТОЕ
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО "АЙ ПИ ПРО", ул.

(54) Title: METHOD FOR ISOLATING SEPARATE TYPES OF MICRO-RNA FROM BIOLOGICAL FLUIDS CONTAINING EXOSOMES

(54) Название изобретения : СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ ОТДЕЛЬНЫХ ТИПОВ МИКРОРНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ЭКЗОСОМЫ

(57) Abstract: The invention relates to biotechnology, and specifically to a method for isolating microRNA from biological fluids which contain exosomes. The method involves subsequent centrifugation, ultrafiltration and ultracentrifugation of a condensed culture medium, dissolving the produced precipitate in a phosphate salt buffer and further centrifugation. The produced precipitate is dissolved in water, and the solution is subjected to free flow electrophoresis using an FFE system apparatus. Each produced fraction then undergoes ultracentrifugation. Each fraction is cleaned of cell walls of exosomes by means of filtration and centrifugation, and a reverse transcription reaction is carried out using reverse transcriptase. The reaction is stopped by heating to 95°C over a period of 5 minutes.

(57) Реферат: Изобретение относится к биотехнологии, в частности к способу выделения микроРНК из биологических жидкостей, содержащих экзосомы. Способ включает последовательное центрифугирование, ультрафильтрацию и ультрацентрифугирование культуральной конденсированной среды, растворение полученного осадка в фосфатно-солевом буфере и повторное центрифугирование. Полученный осадок растворяют в воде, и раствор подвергают электрофорезу в свободном потоке на приборе FFE System. Далее проводят ультрацентрифугирование каждой из полученных фракций. Каждую фракцию очищают от клеточных стенок экзосом посредством фильтрации и центрифугирования и проводят реакцию обратной транскрипции при помощи обратной транскриптазы. Реакцию останавливают нагреванием до 95°C в течение 5 минут.



WO 2015/094017 A1