



No. 09-121156- -00006-0000

Fecha: 2012-12-27 17:32:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 77

Señor Director
DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Trámite : 011
Evento : 378
Actuación : 519

Referencia : Expediente No. 09.121.156
Asunto : Solicitud de patente para: **LÍNEAS CELULARES, COMPOSICIONES PARA EL TRATAMIENTO DE MELANOMAS QUE LAS COMPRENDEN PROCEDIMIENTOS PARA PREPARAR LAS COMPOSICIONES MÉTODOS DE TRATAMIENTO.**
Solicitante : **CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TÉCNICAS (CONICET); FUNDACIÓN SALES AND INIS BIOTECH LLC**
Fecha de Solicitud : 28 de octubre de 2009

1. Yo, Luz Clemencia DE PÁEZ, en mi condición de apoderada de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, me refiero al oficio No. **17303** notificado por fijación en lista del 2 de octubre de 2012.

2. Mediante oficio No. **17303** se puso en conocimiento del solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente. Las observaciones realizadas en el oficio son las siguientes:

2.1 Reivindicaciones

"Las reivindicaciones 59-77 fueron objetadas por reclamar métodos o tratamientos aplicados en humanos y/o animales, lo cual no se considera materia patentable, según el artículo 20-numeral (d).

"Las reivindicaciones 38 y 47 que hacen referencia a usos de la invención, tampoco son materia patentable, según el artículo 14 de la legislación colombiana.

"El artículo 30 se ve violado por falta de claridad en el pliego reivindicatorio. Principalmente se evidenció falta de exactitud en la descripción de cada una de las líneas

"EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS"

BOGOTÁ - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72 - 35 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax in U.S.A: (1-305) 675 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección, Oficina 652 - Tel: (57-4) 604 4794 Ext. 6729 / 6731 - Fax: (57-4) 604 4731- COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

celulares, pues de la forma en la que se encontraba, resultaba imposible diferenciarlas. Se recomendó emplear en dicha descripción ítems característicos de estos elementos, tales como tipo de célula, condición fisiológica de la célula, porcentaje de los tipos de células (apoptóticas, necróticas) entre otros.

“Las reivindicaciones 1 y 12, no se diferencian entre sí ya que ambas reclaman lo mismo. Así mismo, se encuentran muchas reivindicaciones a lo largo del pliego reivindicatorio que reclaman la misma materia. Ejemplo de ello las reivindicaciones 12, 25, 40 y 44 en relación a la composición, o las reivindicaciones 39 y 43 en referencia al tipo de células, o las reivindicaciones 48 y 54 en relación al procedimiento de obtención. Dicha situación no permite que sea clara y concisa la materia a proteger en la presente solicitud.

2.2 Novedad

“Las reivindicación 39 y 43, reclaman una composición para el tratamiento y tratamiento adyuvante, respectivamente, de melanomas humanos caracterizada porque comprende células dendríticas autólogas maduras, células dendríticas autólogas cargadas con células de al menos una línea celular de melanoma humano heterólogo, células apoptóticas de dicha al menos una célula de melanoma humano heterólogo y células necróticas de dicha al menos una línea celular de melanoma humano heterólogo.

“Los documentos D1: (Thumann P. et al., Journal of Immunological Methods, 2003), D2: (Longhi. P et. al., Proc. American Association Cancer, 2004) y D3: (Goldszmit, et. Al., J. Immunol, 2003), divulgan composiciones elaboradas con este tipo de células. D1 enseña un protocolo para la carga de células dendríticas con preparaciones de células tumorales, tanto necróticas como apoptóticas lisados tumorales, usando células de melanoma (Pág. 3, Col-izq. Párrf. 1). Usa la línea celular de melanoma MEL-526. Aquí se menciona que le material necrótico tiene la capacidad de inducir la maduración de las células dendríticas (Pág. 2, col-der. Párrf. 2), por lo que las células DC usadas, también son maduras. Además se utilizaron células apoptóticas irradiadas con 1.0 J/cm^2 UV-B y células necróticas de melanoma sometidas a ciclos de calentamiento y enfriamiento. De esta manera D1, divulga todas las características esenciales de la invención reclamada en las reivindicaciones 39 y 43.

“D2 reporta una composición usada para vacunación de sujetos que sufren de melanoma. Dicha composición comprende células dendríticas con una mezcla de células de melanoma apoptóticas y necróticas. De nuevo se identifica el efecto de las células necróticas en la maduración de las DC y el efecto de las células apoptóticas en la activación de células T.

Con lo anterior, se evidencia como D2 divulga todas las características de las reivindicaciones 39 y 43 de la presente solicitud.

“De por su parte, enseña una composición que comprende células dendríticas cargadas con células de melanoma de la línea B16-F1, células apoptóticas que fueron irradiadas y células necróticas que habían sido sometidas a ciclos de calentamiento y enfriamiento. Es así como se demuestra que D3 contiene las mismas características que las de la invención, definida por las reivindicaciones 39 y 43.

2.3 Nivel Inventivo

“La reivindicación 1, reclama una línea celular de melanoma humano para el tratamiento de enfermedades malignas, caracterizada porque dicha línea celular es seleccionada del grupo: a) MEL-XY1, b) MEL-XY2, c) MEI-XY3, d) MEL-XX4 y e) subpoblaciones de las mismas. La reivindicación 12 por su parte, reclama una composición para el tratamiento del melanoma comprendiendo al menos una línea celular alogénica, comprendiendo los grupos de (a-d) y la posible combinación entre estas. Dichas líneas celulares son incapaces de proliferar. La reivindicación 25 es similar a la 12 y la 48, reclama el procedimiento para la preparación de la composición de la reivindicación 12.

“Las reivindicaciones dependientes señalan los tipos de células (apoptóticas y necróticas) de las células de melanoma, las proporciones existentes entre éstas y la forma de inactivación de las mismas.

“Así como lo divulgan los documentos D1-D3, estos trabajan con líneas celulares de melanoma, como se indicó detalladamente en la sección 2.2 y donde sólo faltó mencionar, que D1, además divulga que la composición tiene una proporción de células apoptóticas/ necróticas y células idénticas de 1:1.

“De este modo, la diferencia existente entre la invención y D1, puede estar dada en la línea celular de melanoma específica, que emplea la solicitud. El efecto que produce esta diferencia, no resulta aparente, puesto que ambos documentos indican que se trata de líneas celulares de melanoma con células apoptóticas y necróticas.

“El problema técnico objetivo que pretende resolverla presente solitud, es proveer líneas celulares de melanoma alternativas. Sin embargo, las modificaciones planteadas en la solicitud, como el porcentaje de células apoptóticas/necróticas, corresponde a las modificaciones que puede realizar una persona normalmente versada en la materia, en sus pruebas experimentales de cultivo celular y formulación de composiciones. Además de eso, las líneas celulares

reclamadas en las reivindicaciones, no parecen tener ningún efecto sorprendente sobre la respuesta inmune generada por la composición. De esta manera resulta obvio lo postulado por la solicitud frente a lo divulgado por D1.

“Complementariamente, la información publicada por D2 y D3 podía ser aprovechada por una persona del oficio para conocer la composición de células dendríticas y células de melanoma para ser usadas como composición de vacuna.

“D4: WO02053176, por su parte, también divulga composiciones de células dendríticas, que incluye el uso de células autólogas para mejorar la respuesta inmune generada por la composición. También revela el uso de células de melanoma en estado apoptótico, así como las células dendríticas maduras incluyen los fenotipos CD14+ y CD83.

“Las reivindicaciones 2-77 no reclaman características esenciales que le den un diferencial a la invención, por consecuente no son inventivas.

“En conclusión, a partir de la información divulgada por los documentos D2 y D4 ó D3 y D4, una persona normalmente versada en la materia, podría deducir fácilmente la invención de la solicitud, razón por la cual ésta carece de nivel inventivo.

3. Respuesta a las objeciones

De este modo y con el objeto de atender las objeciones arriba mencionadas, se desea presentar las siguientes modificaciones, aclaraciones y argumentos.

3.1 Modificación de una solicitud en trámite

De acuerdo con el artículo 34 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, donde se establece que la modificación de una solicitud es posible en cualquier momento del trámite mientras no implique una ampliación de la solicitud inicial, me permito presentar un nuevo pliego reivindicatorio conformado por 20 reivindicaciones.

El nuevo pliego reivindicatorio sufrió las siguientes modificaciones:

- Fueron eliminadas las reivindicaciones 38 y 47 y las reivindicaciones 59-77, en respuesta a las objeciones.

- Se eliminaron las reivindicaciones: 2-5, 12-16, 18-37, 42 y 43, 45-47, 53, 55-58, en respuesta a la sugerencia del examinador.
- La reivindicación 2 (anterior reivindicación 6), hace referencia a las líneas celulares irradiadas y sin posibilidad de proliferar.
- La reivindicación 3 (anterior reivindicación 7), hace referencia a los diferentes tipos de líneas celulares, que en conjunto son una población de fenotipo apoptótico.
- La reivindicación 4 (anterior reivindicación 8), señala la proporción de células apoptóticas en el sistema.
- La reivindicación 5 (anterior reivindicación 9), indica que las diferentes líneas celulares en conjunto, conforman una población de células con fenotipo necrótico.
- La reivindicación 6 (anterior reivindicación 10), indica la proporción de células necróticas en el sistema.
- La reivindicación 7 (anterior reivindicación 11), hace referencia a la reivindicación 1, donde la subpoblación son células de melanoma humano capaces de formar colonias en agar blando.
- La reivindicación 8 (anterior reivindicación 17), define otra composición para el tratamiento del melanoma.
- La reivindicación 9 (es la combinación de las reivindicaciones 39, 40, 44), define otra composición para el tratamiento del melanoma con células dendríticas autólogas.
- La reivindicación 10 (anterior reivindicación 41), hace referencia al tipo de fenotipo de las células dendríticas.
- La reivindicación 11 (anterior reivindicación 48), hace referencia al procedimiento de la composición de la reivindicación 9.
- La reivindicación 12 (anterior reivindicación 49), señala el rango de irradiación de las células dendríticas.

- La reivindicación 13 (anterior reivindicación 50), especifica el adyuvante de la reivindicación 11.
- La reivindicación 14 (siendo la combinación de las reivindicaciones 51 y 52), que indica la selección de agente inmunomodificador, dentro de un grupo de compuestos.
- La reivindicación 15 (anterior reivindicación 54), hace referencia al procedimiento de obtención de la composición de la reivindicación 9.
- La reivindicación 16 (anterior reivindicación 55), hace referencia al rango de irradiación de las células de la reivindicación 9.
- La reivindicación 17 (anterior reivindicación 56), indica las condiciones del co-cultivo del procedimiento de la reivindicación 15.
- La reivindicación 18 (anterior reivindicación 57), entra en detalle en la etapa (e) del procedimiento de la reivindicación 15.
- La reivindicación 19 (anterior reivindicación 58), clasifica las células dendríticas de la etapa (d) de la reivindicación 15.
- La reivindicación 20 (reforma de la anterior reivindicación 75), menciona la etapa de mezcla en los procedimientos de obtención de las reivindicaciones 11 y 15.

A partir de las anteriores modificaciones y con el nuevo pliego reivindicatorio, se espera haber superado las objeciones con respecto a claridad y concisión de la materia a reclamar por la presente solicitud. Los autores de dicha invención, argumentan la anterior modificación como se muestra a continuación:

- El nuevo pliego de reivindicaciones presenta dos reivindicaciones independientes referidas a composiciones. Tal como el Examinador podrá observar las mismas hacen referencia a dos composiciones diferentes que se divulgan en la solicitud de patente. La reivindicación 8 comprende la composición de la invención denominada como Apo-Nec. En la página 19 de la solicitud de patente originalmente presentada se dice: *“Por lo tanto, a los efectos de la presente solicitud de patente las células de melanoma irradiadas de la invención se denominan células Apo-Nec y la composición que*

comprende una o más de cualquiera de las líneas celulares Apo-Nec (Mel-XY1, Mel-XY2, Mel-XY3 y/o Mel-XX4) se denomina composición Apo-Nec”.

- Respecto de la reivindicación 9, la composición reivindicada corresponde a la composición denominada CD/Apo-Nec. La página 20 de la memoria descriptiva dice: *“Las líneas de la invención se utilizaron también para preparar la composición de la invención denominada CD/Apo-Nec que comprende al menos una de las líneas celulares de la invención y células dendríticas autólogas”.*

- Por otra parte, el nuevo pliego de reivindicaciones comprende dos reivindicaciones independientes de procedimiento, que corresponden a los procedimientos para preparar las diferentes composiciones de las reivindicaciones 8 y 9.

- La reivindicación de la combinación de las líneas celulares y las composiciones que comprenden a dicha combinación se basan en información divulgada en las páginas 5, 6, 7, 20, 21 y Ejemplo 4 de la solicitud de patente originalmente presentada.

- Las condiciones y características de las irradiaciones de las células se muestran en los ejemplos y además están reivindicadas en las reivindicaciones referidas a procedimientos. En las reivindicaciones 8 y 9 referidas composiciones se puede observar que se caracterizan a las células por haber sido irradiadas, y por lo tanto se convierten en células incapaces de proliferar. Se considera que cualquier experto está en condiciones de conocer el tipo y forma de irradiación para que una línea celular sea incapaz de proliferar.

- Las actuales reivindicaciones 8 y 9 se diferencian de la reivindicación 1 porque las mismas no son sólo una combinación de líneas celulares (como la reivindicación 1), sino que además las células de la composición son incapaces de proliferar, comprendiendo además adyuvantes y/o excipientes.

- Se adjunta copia del Certificado de Depósito bajo Tratado de Budapest de cada una de las líneas celulares, dando por cumplida la objeción y la caracterización de las líneas celulares. La información de los tipos celulares y de cómo llevar a cabo el

descongelamiento y cultivo de las líneas celulares se muestra en los ejemplos 1 y 2 y cualquier experto está capacitado para llevarlo a cabo.

3.2 Observaciones con respecto a novedad

Con respecto a las objeciones planteadas por falta de novedad de la invención, al ser comparada con los documentos del estado de la técnica, el solicitante presenta los siguientes argumentos, a partir de un detallado análisis de cada uno de ellos: D1, D2, D3 y hasta D4, con los cuales fue posible establecer y resaltar las diferencias existentes de cada uno de estos con la invención.

Analizando D1 de Thumann y colaboradores, se sabe que éste divulga procedimientos para la carga de células dendríticas con células tumorales, y la maduración de dichas células dendríticas. En D1 las células dendríticas son estimuladas para madurar mediante el agregado de un cocktail de citoquinas (GM-CSF, IL-4) durante 5 días, siendo luego cargadas con las células tumorales. En este caso se muestra la necesidad de hacer madurar a las células dendríticas con citoquinas (ver resumen e ítem 2.4 de D1), previo a la carga con células tumorales.

La composición de la reivindicación 9 no comprende células dendríticas que han sido previamente maduras con citoquinas, sino que se utilizan las células dendríticas autólogas que maduran sólo en presencia de la combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas como (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829).

El documento de la presente solicitud originalmente presentada dice en la página 20-21: "La particular combinación de las cuatro líneas celulares de la invención provee una fuente

única de antígenos nativos para cargar células dendríticas, proveyendo además antígenos de células clonogénicas. Debe considerarse que la combinación de las cuatro líneas celulares irradiadas de la invención no solo provee una particular combinación de antígenos nativos sino también comprenden una particular combinación de poblaciones de células en donde están presentes alrededor de un 50% de células apoptóticas y alrededor de un 15% de células necróticas. Esta combinación de poblaciones induce la maduración de las CD”.

Dice en la página 30: “Es importante destacar que la combinación de células Apo-Nec de la invención inducen la maduración de las células CD autólogas. La mezcla o combinación de las células Apo-Nec de la invención son una buena fuente de antígenos de melanoma para cargar a las células dendríticas. Nótese que las células dendríticas maduran sólo mediante contactar y fagocitar a la combinación de células Apo-Nec de la invención, sin el agregado de un estímulo extra tal como por ejemplo Interleukina 1, Factor de Necrosis Tumoral α , CD40 ligando o Prostaglandina E, los cuales son usados comúnmente como un cocktail de maduración. Las CDs que fagocitan a las células Apo-Nec de la invención incrementan la migración in vitro en respuesta a la quemoquina MIP-3 β y la producción intracelular de IL-12. Las células CD/Apo-Nec de la invención tienen capacidad para presentar en forma cruzada antígenos tumorales nativos a antígenos CTL específicos”.

La ausencia de estímulo madurativo se muestra también en el ejemplo 4 de la presente solicitud de patente, referido a la preparación de la composición reivindicada.

Por otra parte **D1 no muestra ni enseña la preparación de una composición para el tratamiento de melanomas humanos,** solo muestra que las células dendríticas pueden cargarse con células tumorales, previa maduración de las mismas con citoquinas. D1 no muestra una composición que comprenda una combinación de células tumorales de melanoma humanos como las reivindicadas en la reivindicación 9 de la presente solicitud, y menos aún una composición que comprenda a las células depositadas. **Tampoco se enseña que las células dendríticas de D1 puedan ser utilizadas para el tratamiento de los melanomas, solo se menciona en forma hipotética que las mismas podrían ser de aplicación clínica. El objeto del documento D1 es mostrar que las células dendríticas pueden ser cargadas con varias formas de células tumorales.**

El solicitante también resalta las dificultades que presenta la aplicación clínica de las células tumorales enteras que mencionan los autores de D1 (Gilboa y colaboradores, Nat. Immunol, 2, 789; 2001) quienes puntualizan las desventajas de emplear como vacunas preparaciones de células tumorales totales, debido a la potencial capacidad de dichas células de inducir autoinmunidad vinculada a la presentación de antígenos no tumorales. En contraste, la invención acá presente, ha demostrado que la composición reivindicada no induce autoinmunidad, no se observan efectos secundarios relevantes y se mantiene al 85% de los paciente libres de enfermedad por al menos 41 meses (primer párrafo de la página 25, tabla 3 y figura 2 de la solicitud de patente originalmente presentada).

Con lo anterior, queda claramente demostrado, la diferencia existente entre el presente documento del estado de la técnica y la materia a patentar por la presente solicitud.

Con respecto al documento D2, éste divulga que las células dendríticas pueden cargarse y madurar en presencia de células de melanoma necróticas y apoptóticas, en forma separada. No se muestra que las células dendríticas puedan madurar en presencia de ambos fenotipos. **Es más, en D2 se menciona que la maduración de las células dendríticas durante la co-incubación con las células tumorales se mejora en presencia LPS, TNF- α , IL-1b y de un medio condicionado de monocitos.** De lo que se deduce la necesidad de incorporar estos factores durante la co-incubación. Por otro lado, la combinación de antígenos que presentan la combinación de las líneas celulares de melanoma humano de la invención permite la maduración de las células dendríticas autólogas sin el agregado extra de factores o citoquinas.

En D2 no se divulga ni se enseña composición alguna, menos aún una composición tal como la reivindicada en la actual reivindicación 9. D2 solo muestra las características y las diferencias en la maduración de las células dendríticas en presencia de células tumorales necróticas o apoptóticas. **D2 tampoco muestra que las células dendríticas cargadas puedan ser utilizadas para el tratamiento de pacientes portadores de melanoma.** Estas diferencias, crean una brecha significativa entre la presente referencia y la materia a patentar.

D3 por su parte, divulga que las células dendríticas cargadas con células tumorales apoptóticas (línea celular B16) inducen inmunidad celular de células T CD4+ y CD8+ contra un melanoma de ratón. Las células apoptóticas se indujeron por radiación y y las células tumorales necróticas fueron obtenidas por procesos de congelamiento y descongelamiento sucesivo. Las células dendríticas fueron inducidas a madurar cultivándolas en un medio que contenía GM-CSF (ver página 5941 del documento citado, *Generation of bonemarrow-derivedDCs and culture withapoptoticcells*). Estos resultados confirman aún más que cuando se cargan células dendríticas con ciertas líneas celulares tumorales se necesita del agregado de factores para inducir la maduración de dichas células dendríticas.

En D3 se muestra un modelo animal y al final de la discusión se propone el uso hipotético de las células dendríticas cargadas con células tumorales apoptóticas como adyuvante o para inmunización activa contra el cáncer. **D3 no muestra ejemplo alguno de una composición ni resultados en pacientes.**

Las células dendríticas de D3 incrementan la inmunidad en un modelo de ratón, y ejercen protección contra un melanoma implantado. Este hecho no se puede extrapolar directamente al uso de dichas células en el tratamiento de seres humanos. Voskoglou-Nomikos (ClinicalCancerResearc, 2003, 9, 4227-4239), entre otros autores, muestran que existen importantes dificultades para extrapolar a seres humanos la información obtenida en un modelo de ratón, particularmente el caso de enfermedades tumorales malignas o cáncer.

Por otra parte, en D3 las células dendríticas cargadas se emplean como vacuna **previamente** a la implantación del tumor. Este diseño experimental coincide con el propósito del trabajo que es estudiar la respuesta inmune anti tumoral. En D3 no se divulga ni se enseña que las células dendríticas cargadas puedan emplearse en el **tratamiento** de seres humanos portadores de melanoma, en donde el tumor se encuentra presente o ha sido retirado por cirugía. No es lo mismo inmunizar previamente al implante del tumor que tratar a un paciente humano portador de un tumor.

Ninguno de los documentos D1 a D3 citados anticipan una composición para el tratamiento de melanomas humanos que comprende células dendríticas autólogas maduras, células dendríticas autólogas cargadas con una combinación de líneas celulares de melanoma

humano heterólogas, células apoptóticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas y células necróticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas, en donde la combinación de líneas celulares consiste en las líneas (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), y (e) subpoblaciones de las mismas.

A pesar de no haber sido citado el documento D4: WO 02/053176, para objetar la novedad de la invención, el solicitante igualmente realizó el debido análisis, para así descartar cualquier inquietud de posible objeción. D4 divulga composiciones para inducir respuesta inmune contra enfermedades malignas, no se divulga ni enseñan composiciones que puedan emplearse para el tratamiento de tumores. Las células dendríticas mostradas de D4 son previamente maduras con citoquinas, ver ejemplo de la página 40 de D4, las cuales son luego empleadas para ser cargadas con células tumorales lisadas. La composición de D4 contiene además IL-2.

Con base en el anterior y completo análisis, se pudo defender con argumentos, el carácter novedoso de la invención con respecto al estado de la técnica más cercano, consiguiendo diferenciarse en todos sus aspectos que la comprenden. De esta forma se espera haberle aclarado al señor Examinador el grado de novedad con el que cuneta la invención y por ende, se espera sean reevaluadas, las objeciones aquí presentadas.

3.3 Observaciones con respecto al nivel inventivo

En respuesta a las objeciones de nivel inventivo de la presente invención, el solicitante presenta los siguientes argumentos:

Del análisis combinado de los documentos D1 a D4 no surge enseñanza alguna referida a composiciones y procedimientos de elaboración de composiciones para el tratamiento de pacientes portadores de melanoma.

A partir de las divulgaciones realizadas en D1 a D4 **no resulta obvio** para un experto el uso de la combinación de las líneas celulares heterólogas) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), y (e) subpoblaciones de las mismas. Esta combinación de líneas celulares permite la maduración de las células dendríticas autólogas, en ausencia de citoquinas que en la actualidad son ampliamente utilizadas por los expertos para tal fin. En donde además dichas líneas cuando son irradiadas pueden ser utilizadas como tratamiento de pacientes portadores de melanoma. Las líneas celulares son irradiadas a un valor entre 50 y 100 Gy, obteniéndose una mezcla células apoptóticas y necróticas en una única etapa y a una proporción entre ambas que permite la adecuada maduración de las células dendríticas autólogas.

Tampoco resulta obvia una composición para el tratamiento de seres humanos portadores de melanomas que comprende:

1. células dendríticas autólogas maduras;
2. células dendríticas autólogas cargadas con una combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas;
3. células apoptóticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas; y
4. células necróticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas, en donde la combinación de líneas celulares consiste en (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German

Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), y (e) subpoblaciones de las mismas.

El solicitante ha realizado actividad inventiva para obtener y seleccionar las líneas celulares de melanoma que combinadas permitan la maduración de las células dendríticas, muestren actividad inmunológica antitumoral en los pacientes tratados y mantengan libre de enfermedad a los pacientes durante al menos 41 meses, no observándose reacciones de autoinmunidad o efectos colaterales.

Se sabe que existe una multiplicidad de factores que afectan la respuesta de los pacientes a composiciones antitumorales celulares como las reivindicadas en la presente solicitud de patente, y que la respuesta de los pacientes es impredecible en base a estudios *in vitro*. En este caso la solicitud de patente muestra una clara guía de cómo elaborar la composición, disponibilidad de las líneas celulares a partir de su depósito, y de cómo llevar a cabo el tratamiento (dosis, sitio de aplicación etc.).

La presente solicitud de patente provee una composición que comprende líneas celulares en donde la fuente de antígenos no es variable, siendo las células genéticamente estables. De esta manera se superan las dificultades e inconvenientes que presentan las composiciones que emplean cultivos de tumores primarios, las cuales son heterogéneas y variables en el tiempo debido a la generación de nuevos clones que expresan o no diferentes antígenos.

El examinador podrá apreciar que la presente solicitud de patente menciona en una realización preferida que la composición Apo-Nec de la invención comprende una mezcla o combinación de las líneas celulares Mel-XY1, Mel-XY2 y Mel-XY3. En otra realización preferida la composición Apo-Nec de la invención comprende una mezcla o combinación de las líneas celulares Mel-XY1, Mel-XY2, Mel-XY3 y Mel-XX4.

Sorprendentemente la combinación de antígenos tumorales presentados por la mezcla de las cuatro líneas celulares Apo-Nec de la invención inducen una respuesta inmune de

células T específica contra el tumor, y permite obtener más de un 80% de pacientes libre de enfermedad cuando son tratados con la composición Apo-Nec de la invención (ver figura 8).

Las líneas celulares de la invención se utilizaron también para preparar la composición de la invención denominada CD/Apo-Nec que comprende, por ejemplo células dendríticas autólogas maduras, células dendríticas autólogas cargadas con una combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas, células apoptóticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas y células necróticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas, en donde la combinación de líneas celulares consiste en (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), (e) subpoblaciones de las mismas.

La particular combinación de las cuatro líneas celulares de la invención provee una fuente única de antígenos nativos para cargar células dendríticas, proveyendo además antígenos de células clonogénicas. Debe considerarse que la combinación de las cuatro líneas celulares irradiadas de la invención no solo provee una particular combinación de antígenos nativos sino también comprenden una particular combinación de poblaciones de células en donde están presentes alrededor de un 50% de células apoptóticas y alrededor de un 15% de células necróticas. Esta combinación de poblaciones induce la maduración de las CD (ver página 19 de la solicitud de patente originalmente presentada).

La mezcla de las líneas celulares preferidas Apo-Nec de la invención proveen una combinación de múltiples antígenos que inducen una excelente respuesta inmune antitumoral (ver página 18 y 19).

La capacidad de las células Apo-Nec de la invención, para influir en el proceso de maduración de las células CD derivadas de monocitos, se examinó mediante mediciones de marcadores específicos para células CD por citometría de flujo (FACS) (FACSCalibur, BD

Biosciences, San José, CA). La fagocitosis de las células Apo-Nec de la invención dio como resultado un fenotipo maduro de las células CD en comparación con los controles incubados con LPS. La maduración de las células CD se evidenció por el incremento en la expresión de CD83, CD80, CD86, HLA clase I, y II y CD40. Luego de la fagocitosis se observó un $75.2 \% \pm 16$ de reducción en la endocitosis FITC-Dx en comparación con las CDin (ver página 21 de la presente solicitud de patente). Se muestra que la combinación de líneas celulares heterólogas de la invención es capaz de inducir la maduración de las células dendríticas autólogas, y la presentación adecuada de antígenos.

La composición reivindicada en la presente solicitud de patente solo genera, en los pacientes, reacciones locales débiles en los sitios de aplicación, y DTH que consistieron en eritema y pápula. Ninguno de los pacientes desarrolló manifestaciones de enfermedades autoinmunes (ver Tabla 3).

La composición reivindicada en la presente solicitud de patente no indujo respuesta humoral contra las células vivas de melanoma comprendidas en la composición de la invención antes después de su aplicación, y evaluada mediante análisis por FACS. También se analizó la presencia de anticuerpos reactivos contra las células Apo-Nec en sueros pre y post aplicación mediante la técnica de Western blot. En cuatro pacientes (#3, #4, # y #16) se observó solo una tenue banda de proteínas de melanoma (>200 kDa) detectada en el suero post aplicación (ver página 26 de la presente solicitud de patente).

El 85% de los pacientes (estadio IIC y III) tratados con la composición CD/Apo-Nec reivindicada se encuentran libres de enfermedad, luego de un seguimiento promedio de 41,5 meses cuando se los trató después de realizada la cirugía (ver figura 2). La composición CD/Apo-Nec de la invención es útil per se para el tratamiento de los pacientes con melanoma, siendo además útil como adyuvante luego de tratamientos radicales ya que estimula en el paciente una respuesta inmune, en donde el sistema inmune elimina a las células tumorales residuales, protegiendo al paciente de posibles recaídas. Más específicamente la composición CD/Apo-Nec de la invención es útil para el tratamiento de pacientes en estadio IIB, IIC y III, los cuales contienen menor masa tumoral y es útil como adyuvante luego de terapias radicales para los pacientes en estadio IV.

La heterogeneidad de los tumores de melanoma es elevada, de allí que sea fundamental para la inmunoterapia emplear mezclas complejas de antígenos provistas por la mezcla o combinación de líneas celulares y sus sub-poblaciones. A modo de ejemplo se muestra en la figura 7 una biopsia de melanoma primario que evidencia la heterogeneidad de dichos tumores en relación a la expresión de antígenos de diferenciación melanocítica.

El Sr. Examinador podrá observar que combinando las enseñanzas de los documentos D1 a D4 no es obvia una composición como la reivindicada, ni surge que puedan obtenerse composiciones efectivas para el tratamiento de pacientes portadores de melanoma. Tal como se explicó en los párrafos anteriores **las líneas celulares no son una selección al azar sino que muestran ventajas y efectos sorprendentes** respecto las líneas celulares conocidas que las hace particularmente útiles como fuente de antígenos y como inductoras de la maduración de células dendríticas para la preparación de composiciones para el tratamiento de melanomas.

Los documentos citados **no enseñan composiciones que comprenden una combinación de las líneas celulares** (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829) y (e) sub-poblaciones de las mismas.

Los documentos citados **tampoco enseñan composiciones para el tratamiento de melanomas humanos** que comprenden **células dendríticas autólogas maduras, células dendríticas autólogas cargadas con una combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas, células apoptóticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas y células necróticas de dicha combinación de líneas celulares de melanoma humano heterólogas**, en donde la combinación d líneas celulares consiste en (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German

Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), (e) subpoblaciones de las mismas.

Bajo éste contexto, queda fácil entender como una persona normalmente versada en la materia NO podría llegar de forma obvia, sin mayor esfuerzo y partiendo de la información divulgada por los documentos del estado de la técnica (D1-D4) al objeto de la presente invención. Se pudo demostrar cómo dicha composición de líneas celulares, resultó de estudios investigativos, múltiples experimentos y con resultados tanto inesperados como sinérgicos, ante los cuales ninguna posible combinación de dichos documentos hubiera podido alcanzar.

A parte de los argumentos expuestos por el solicitante en defensa de los requisitos de patentabilidad de su invención, también se pudo detectar que el análisis realizado por el señor Examinador con respecto al nivel inventivo, no cuenta con total congruencia, debido a que todo el análisis y el planteamiento de las diferencias están hechas con respecto a D1 y al final se concluye que las combinaciones de D2 y D4 y D3 y D4, cada pareja en conjunto, conllevan a la deducción obvia de la invención. Lo anterior no es válido, ya que dichas combinaciones no fueron demostradas a partir del análisis de método-solución.

Por todo lo anterior, se espera una reevaluación de las objeciones aquí planteadas, y se reconozca este otro requisito de patentabilidad con el que la invención cuenta.

3.5 Conclusiones

A partir de la modificación del pliego reivindicatorio y con el detallado análisis y argumentación de los requisitos de novedad y nivel inventivo frente al estado de la técnica, se espera haber superado todas las objeciones interpuestas a la presente solicitud, y por ende sea reconsiderada la viabilidad para la concesión de su patentabilidad.

4. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por el Examinador, se solicita atentamente proceder al otorgamiento de la solicitud de patente. En este sentido, respetuosamente recordamos al Examinador que la patente no podrá ser negada con base en las objeciones diferentes a las expuestas en la acción oficial No. 17303, toda vez que al no haber sido trasladadas a mi representada, dicha decisión violaría tanto el tenor literal del

CAVELIER

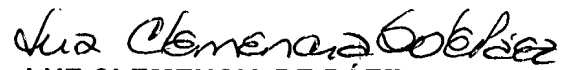
ABOGADOS

artículo 45 de la Decisión 486 como el derecho constitucional al debido proceso. En este evento, y con base en el inciso 2 del artículo 45, respetuosamente solicitamos al Examinador expedir una nueva acción oficial que permita a mi representada contra argumentar las mismas o modificar la solicitud con el fin de cumplir los requisitos de patentabilidad.

ANEXOS

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 20 reivindicaciones.
- Copia de los 2 certificados de Depósito expedidos bajo el Tratado de Budapest de cada una de las líneas celulares
- Formulario de modificaciones en solicitud pendiente.

Señor Director,


LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén
T.P.A. No. 23.555

COLO-17293-0841-001-3
AHAAHAID-233156\WPC17293
No. M-2012-233156\AHA

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	Espacio reservado para el adhesivo de radicación
---	--

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
MODIFICACIONES Y/O CORRECCIONES

1. Identificación del Trámite

☐ Error material	☒ Modificación a una Solicitud en trámite
☒ Patente de Invención	
☐ Patente de Modelo de Utilidad	
☐ Registro de Diseño Industrial	
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados	

2. Datos del solicitante

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TÉCNICAS (CONICET);
FUNDACIÓN SALES e INIS BIOTECH LLC

Nombre o denominación / Nombre o razón social completa

Nombre representante legal

Tipo de empresa Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☐

Documento de identificación: ☐ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número _____

Nacionalidad/País de constitución	Dirección y domicilio del titular	Ciudad
Argentina,	Av. Rivadavia 1906 3 "F",	Buenos Aires, C1033AAJ,
Argentina	Viamonte 2043 piso 6 A°,	Buenos Aires C1056ABE
Y	Y	Y
Estados Unidos de América	203 NE Front Street, Suite 101, Milford, Kent County, Delaware 19963	Milford,
Respectivamente	Respectivamente	Respectivamente
Dirección electrónica		No. Fax
clientes@cavelier.com		2 11 86 50
		Número telefónico
		3 47 36 11

☐ Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

3.

Datos del apoderado:

Apellidos y Nombre
De Páez Luz Clemencia

Documento de identificación
C.C. 35.456.344

Tarjeta profesional
T.P.A. 23.555

Dirección y domicilio		Ciudad
Carrera 4ª No. 72 –35		Bogotá
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
cavelier@cavelier.com	2 11 86 50	3 47 36 11

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4.

Datos del trámite

Corrección:

Expediente No 09.121.156

Aparece

Debe ser

Modificación:

☒ Modificación al capítulo reivindicatorio.
Presento nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por 20 reivindicaciones y pido respetuosamente que el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas. Respetuosamente manifiesto que a pesar de eliminar materia del pliego reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud, beneficiándose de la fecha de prioridad inicialmente reivindicada.

☐ Modificación al capítulo descriptivo.

☐ Modificación al resumen.

☐ Modificación a los dibujos.

☐ Modificación al solicitante.



5. Anexos

- ☐ Poder, si fuere el caso.
- ☒ Documento que contiene las modificaciones o correcciones.

6. Firma		
Nombre y apellidos	Firma	
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	<i>Luз Clemencia Sobrер</i>	
C.C. 35.456.344 DE Usaquén	Tarjeta Profesional 23.555	

AHAINCA\WPC17293\ID-233244

- REIVINDICACIONES -

1. Una combinación de líneas celulares de melanoma humano para el tratamiento de enfermedades malignas, caracterizada porque dicha combinación comprende la línea celular (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829) y (e) sub-poblaciones de las mismas.

2. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque dichas líneas celulares han sido irradiadas y son incapaces de proliferar.

3. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque las líneas celulares (a), (b), (c) y (d) comprenden una población de células con fenotipo apoptótico.

4. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizada porque la población de células apoptóticas comprende una cantidad entre un 35% y 60% de dichas células.

5. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizada porque las líneas celulares (a), (b), (c) y (d) comprenden una población de células con fenotipo necrótico.

6. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada porque la población de células necróticas comprende una cantidad de entre 10% y 25% de dichas células.

7. La combinación de líneas celulares de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la subpoblación comprende células de melanoma humano capaces de formar colonias en agar blando.

8. Una composición para el tratamiento del melanoma, caracterizada porque comprende una combinación de las líneas celulares de melanoma alogeneicas (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829), en donde dichas líneas celulares han sido irradiadas y son incapaces de proliferar; y adyuvantes y/o excipientes.

9. Una composición para el tratamiento del melanomas humanos, caracterizada porque comprende células dendríticas autólogas, maduras, células dendríticas, autólogas cargadas con una combinación una combinación de líneas

celulares de melanoma humano heterólogas, en donde la combinación de líneas celulares consiste en: (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829) y (e) subpoblaciones de las mismas, en donde dichas líneas celulares han sido irradiadas y son incapaces de proliferar; y adyuvantes y/o excipientes.

10. La composición de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizada porque las células dendríticas maduras tienen el fenotipo CD14⁻, CD11c⁺, CD1a⁺ y CD83^{alto}.

11. Un procedimiento para la preparación de la composición de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado por las etapas de:

- a) descongelar y cultivar las líneas celulares (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829);
- b) Irradiar dichas tres líneas;

c) Agregar la mezcla de líneas celulares adyuvantes y/o excipientes.

12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque las células son irradiadas a un valor entre 50 y 100 Gy.

13. El procedimiento de la reivindicación 11, caracterizado porque el adyuvante es BCG.

14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque el inmunomodificador es seleccionado del grupo comprendido por GM-CSF, G-CSF, IFN α , ciclofosfamida y mezclas de los mismos.

15. Un procedimiento para preparar la composición de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque comprende las etapas:

a) Descongelar y cultivar las líneas celulares (a) Mel-XY1 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2830), (b) Mel-XY2 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2831), (c) Mel-XY3 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2832), (d) Mel-XX4 (depositada en German Collection of Microorganisms and Cell Cultures DSMZ bajo el número de acceso DSM ACC2829);

b) Irradiar dichas tres líneas;

c) Obtener células dendríticas autólogas; y

d) Co-cultivar durante un tiempo las células dendríticas autólogas con las líneas celulares irradiadas de la etapa (b).

16. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado porque las células son irradiadas a un valor entre 50 y 100 Gy.

17. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado porque el co-cultivo se lleva a cabo a una temperatura entre 35 y 39 °C y durante un tiempo de entre 6 y 72 horas.

18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado porque en la etapa (e) la relación entre las células dendríticas autólogas y las líneas celulares es desde 1:1 a 3:1.

19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, caracterizado porque las células dendríticas de la etapa (d) comprenden células dendríticas inmaduras.

20. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11 o 15, caracterizado porque comprende una etapa de mezcla de las líneas celulares.



DSMZ GmbH · Mascheroder Weg 1b · 38124 Braunschweig

CONICET
Alejandra Cancio
Av. Rivadavia 1906
3° piso "F"
1033 Ciudad de Buenos Aires
Argentina

DSMZ GmbH
Mascheroder Weg 1b
38124 Braunschweig
GERMANY

Tel.: +49(0)531 26 16-0
Fax: +49(0)531 26 16-418
E-mail: contact@dsmz.de
Internet: www.dsmz.de

DIN EN ISO 9001:2000

Ihr Zeichen/Your ref.

Unser Zeichen/Our ref.

Tel:
0531 26 16-

Datum/Date

P054 07

254
vew@dsmz.de

2007-04-16

Re.: Deposit of microorganisms according to the Budapest Treaty

Enclosed please find our Statements of Receipt and Viability for the strains

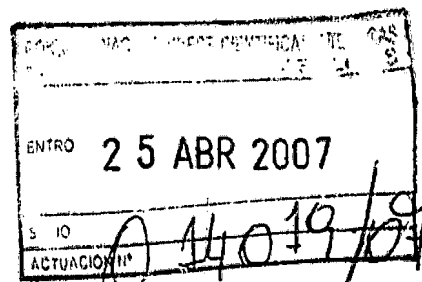
Cell culture MEL-XX4 – DSM ACC2829
Cell culture MEL-XY1 – DSM ACC2830
Cell culture MEL-XY2 – DSM ACC2831
Cell culture MEL-XY3 – DSM ACC2832

Sincerely yours,

V. Weihs

Dr. Vera Weihs

DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikro-
organismen und Zellkulturen GmbH



Geschäftsführer/
Managing Director:
Prof. Dr. Erko Stackebrandt
Aufsichtsratsvorsitzender/Head of
Managing Board: MR Dr. Axel Kollatschny

NORD/LB Braunschweig
Kto.-Nr./Account: 2 039 220
BLZ/Bank Code: 250 500 00
IBAN DE22 2505 0000 0002 0392 20
SWIFT (BIC) NOLADE 2 H

BBk Braunschweig
Kto.-Nr./Account: 27.007 326
BLZ/Bank Code 270 000 00
IBAN DE29 2700 0000 0027 0073 26
SWIFT (BIC) MARKDEF 1270

Handelsregister/
Commercial Register:
Amtsgericht Braunschweig
HRB 2570
Steuer-Nr. 13/200/24030

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugeteiltes Bezugszeichen: MEL-XX4	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2829
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde (X) eine wissenschaftliche Beschreibung () eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung) ¹ eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapest Vertrag ist am eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befügten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: V. Weh Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugewiesenes Bezugszeichen: MEL-XY2	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugewiesene EINGANGSNUMMER: DSM ACC2831
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG:	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde (X) eine wissenschaftliche Beschreibung () eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung) eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am _____ eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapest Vertrag ist am _____ eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugewiesenes Bezugszeichen: MEL-XY3	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugewiesene EINGANGSNUMMER: DSM ACC2832
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde (X) eine wissenschaftliche Beschreibung () eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung)¹ eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am _____ eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapester Vertrag ist am _____ eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der Internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:  Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depositary Authority:

DSMZ-Accession Number

Date culture received:

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1. THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY2

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

()³

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM/F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere.

Plate 2 x10E6 cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 150 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

()³

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% Fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x 10⁶ cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

()³

Mycoplasma:	Yes ()	No (x)	Unknown ()
-------------	---------	--------	-------------

Viruses:	Herpes	Yes ()	No ()	Unknown (x)
----------	--------	---------	--------	-------------

	Hepatitis B	Yes ()	No (x)	Unknown ()
--	-------------	---------	--------	-------------

	Hepatitis C	Yes ()	No (x)	Unknown ()
--	-------------	---------	--------	-------------

	HIV	Yes ()	No (x)	Unknown ()
--	-----	---------	--------	-------------

Other contaminants:	Yes ()	No ()	Unknown (x)
---------------------	---------	--------	-------------

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals:	Yes (x)	No ()	Unknown ()
---	---------	--------	-------------

If yes, please specify:

() pathogenic	() allergenic
() toxigenic	(x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture ⁴	(x) risk group 1	() risk group 2
--	------------------	------------------

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered ⁴ :	() Class 1/S1	(x) Class 2/S2
---	----------------	----------------

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁴

() L1	(x) L2
--------	--------

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G.v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

()³

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group⁴: () risk group 1

() risk group 2

sensitivities:
resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group⁴: () risk group 1

() risk group 2 () risk group 3

description of the cloned DNA fragment
cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome
() subgenomic
() subgenic

() cDNA
() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic
() toxigenic

() tumorigenic
() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectiosity: () yes
mobilisable plasmid: () yes
own transfer system: () yes
transfer by endogenous helper viruses: () yes

() no
() no
() no
() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM⁵

special properties:
(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA: () episomal

() chromosomally integrated

potential risk: () pathogenic
() toxigenic
() no potential risk

() tumorigenic
() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G.v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

Patent deposit; form DSMZ-BP/1-Animal and Human Cell Culture (third page) 08/2006

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

()³

VII. ADDITIONAL DATA⁶

MALE ORIGIN

()⁷

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE

a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ

() yes

(x) no

b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee

() yes

(x) no

c) The culture is to be destroyed by the DSMZ

(x) yes

() no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):

JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917

BUENOS AIRES (1033)

ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

3 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

5 It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see 1.) of the organism.

6 If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.

7 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited (The supplying of such information is optional).

8 The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.

9 This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION

OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS

FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1



To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depositary Authority:

DSMZ-Accession Number

Date culture received

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1. THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XX4

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

()³

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere.

Plate 2 x 10⁶ cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 150 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

()³

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% Fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x10E6 cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

()³

Mycoplasma: Yes () No (x) Unknown ()

Viruses: Herpes Yes () No () Unknown (x)

Hepatitis B Yes () No (x) Unknown ()

Hepatitis C Yes () No (x) Unknown ()

HIV Yes () No (x) Unknown ()

Other contaminants: Yes () No () Unknown (x)

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals: Yes (x) No () Unknown ()

If yes, please specify:

() pathogenic

() allergenic

() toxigenic

(x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴: (x) risk group 1 () risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴: () Class 1/S1 (x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁴

() L1

(x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

()⁷

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

VII. ADDITIONAL DATA⁶

()⁷

FEMALE ORIGIN

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE

a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ

() yes

(x) no

b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee

() yes

(x) no

c) The culture is to be destroyed by the DSMZ

(x) yes

() no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):

JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917

BUENOS AIRES (1033)

ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁵ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see I.) of the organism

⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.

⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited. (The supplying of such information is optional).

⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.

⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depositary Authority:

DSMZ-Accession Number

Date culture received

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1. THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY3

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere,

Plate 2 x10E6 cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 50 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

()³

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:

resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment:
cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome
() subgenomic
() subgenic

() cDNA
() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic
() toxigenic

() tumorigenic
() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectiosity:

mobilisable plasmid:

own transfer system:

transfer by endogenous helper viruses:

() yes
() yes
() yes
() yes

() no
() no
() no
() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM⁵

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic
() toxigenic
() no potential risk

() tumorigenic
() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

³

Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴

The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

()³

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% Fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x10E6 cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

()³

Mycoplasma: Yes () No (x) Unknown ()

Viruses: Herpes Yes () No () Unknown (x)

Hepatitis B Yes () No (x) Unknown ()

Hepatitis C Yes () No (x) Unknown ()

HIV Yes () No (x) Unknown ()

Other contaminants: Yes () No () Unknown (x)

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals: Yes (x) No () Unknown ()

If yes, please specify: () pathogenic () allergenic () toxigenic (x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴: (x) risk group 1 () risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴: () Class 1/S1 (x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL³

() L1 (x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

()⁷

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

VII. ADDITIONAL DATA⁶

()⁷

MALE ORIGIN

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁸

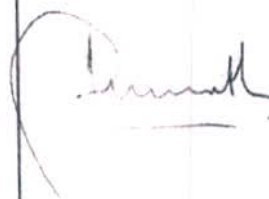
- a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ ☐ yes ☒ no
- b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee ☐ yes ☒ no
- c) The culture is to be destroyed by the DSMZ ☒ yes ☐ no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):

JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):



Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917
BUENOS AIRES (1033)
ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

¹ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁵ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see I.) of the organism

⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.

⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited. (The supplying of such information is optional).

⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.

⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depository Authority:

DSMZ-Accession Number

Date culture received

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1¹ THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY1

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere.

Plate 2 x 10E6 cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days.

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium seletin, 150ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 10 ug/ml streptomycin.

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depository institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depository Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

()³

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% Fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x 10E6 cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

()²

Mycoplasma:	Yes ()	No (x)	Unknown ()
Viruses:			
Herpes	Yes ()	No ()	Unknown (x)
Hepatitis B	Yes ()	No (x)	Unknown ()
Hepatitis C	Yes ()	No (x)	Unknown ()
HIV	Yes ()	No (x)	Unknown ()
Other contaminants:	Yes ()	No ()	Unknown (x)

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals: Yes (x) No () Unknown ()

If yes, please specify:

() pathogenic () allergenic
() toxigenic (x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴:

(x) risk group 1 () risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴:

() Class 1/S1 (x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁵

() L1 (x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G.v. 17.3.2006 1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

()³

DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:
resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment
cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome
() subgenomic
() subgenic

() cDNA
() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic
() toxigenic

() tumorigenic
() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectiosity:

() yes

() no

mobilisable plasmid:

() yes

() no

own transfer system:

() yes

() no

transfer by endogenous helper viruses:

() yes

() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM⁵

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic
() toxigenic
() no potential risk

() tumorigenic
() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006/534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

Patent deposit: form DSMZ-BP/1-Animal and Human Cell Culture (third page) 08/2006

SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTATIC LESION TO THE LUNG

()³

VII. ADDITIONAL DATA⁶

MALE ORIGIN

()⁷

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁸

a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ

() yes

(x) no

b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee

() yes

(x) no

c) The culture is to be destroyed by the DSMZ

(x) yes

() no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):

JOSE MORDOCH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917

BUENOS AIRES (1033)

ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁵ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see I.) of the organism.

⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.

⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited. (The supplying of such information is optional).

⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.

⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER		II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Anschrift: Buenos Aires (1033) Argentina		Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2830 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung ¹ : 2007-03-23	
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG			
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 2007-03-26 ² geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (x) ³ lebensfähig () ³ nicht mehr lebensfähig			
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST ⁴			
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: V. Wehs Datum: 2007-04-16	

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.
² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.
³ Zutreffendes ankreuzen.
⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: MEL-XY1	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2830
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: (X) a scientific description () a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 2007-03-23 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): V. Wehs Date: 2007-04-16

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugeteiltes Bezugszeichen: MEL-XY1	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2830
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde ☒ eine wissenschaftliche Beschreibung ☐ eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung) ¹ eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am _____ eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapest Vertrag ist am _____ eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!

Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION

OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS

FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE

STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

DSMZ

Deutsche
Sammlung von
Mikroorganismen
und Zellkulturen GmbH

To:
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filed in by the Depositary Authority:

DSMZ Accession Number:

Date culture received:

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1¹. THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I: IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY1

Species of origin:

HUMAN

Hybridoma:

NO

II: CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere.

Plate 2 x 10⁶ cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days.

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 150ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 10 ug/ml streptomycin.

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

Patent Deposit; form DSMZ-BF/1-Animal and Human Cell Cultures (first page) 08/2006

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:

resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment:

cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome

() subgenomic

() subgenic

() cDNA

() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic

() toxigenic

() tumorigenic

() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectivity:

() yes

() no

mobilisable plasmid:

() yes

() no

own transfer system:

() yes

() no

transfer by endogenous helper viruses:

() yes

() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic

() toxigenic

() no potential risk

() tumorigenic

() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

3 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

4 The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G.v. 17.3.2008/1534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

Patent deposit; form DSMZ-BP/1-Animal and Human Cell Culture (third page) 08/2006

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTATIC LESION TO THE LUNG

VII. ADDITIONAL DATA⁶

MALE ORIGIN

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁷

- a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ ☐ yes ☒ no
- b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee ☐ yes ☒ no
- c) The culture is to be destroyed by the DSMZ ☒ yes ☐ no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):

JOSE MORDOH, MD, PhD

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917
BUENOS AIRES (1033)
ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Signature(s):

Date:

- ⁵ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.
- ⁶ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see 1.) of the organism.
- ⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.
- ⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited. (The supplying of such information is optional).
- ⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.
- ⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. When the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

VIABILITY STATEMENT
issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR		II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Address: Buenos Aires (1033) Argentina		Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2831 Date of the deposit or the transfer ¹ : 2007-03-23	
III. VIABILITY STATEMENT			
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 2007-03-26 ² . On that date, the said microorganism was ☒ viable ☐ no longer viable			
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED ⁴			
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): Date: 2007-04-16	

¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).
² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.
³ Mark with a cross the applicable box.
⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER		II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Name:	CONICET Rivadavia 1917	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER:	
Anschrift:	Buenos Aires (1033) Argentina	DSM ACC2831	
		Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung ¹ :	
		2007-03-23	
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG			
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 2007-03-26 ² geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus			
(X) ³ lebensfähig			
() ³ nicht mehr lebensfähig			
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST ⁴			
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE			
Name:	DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON: MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten:	
Anschrift:	Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		
		Datum: 2007-04-16	

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.
² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.
³ Zutreffendes ankreuzen.
⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: MEL-XY2	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2831
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: (x) a scientific description () a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 2007-03-23 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): V. We-Is Date: 2007-04-16

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.
Form DSMZ-BP/4 (sole page) 08/2006

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugeteiltes Bezugszeichen: MEL-XY2	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2831
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I bezeichneten Mikroorganismus wurde (X) eine wissenschaftliche Beschreibung () eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese Internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung) eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapester Vertrag ist am eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: V. Wechs Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.

To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filed in by the Depositary Authority:

DSMZ-Accession Number:

Date culture received:

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1 THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY2

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere.

Plate 2 x 10⁶ cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 150 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x10⁶ cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

Mycoplasma:

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Viruses:

Herpes

Yes ()

No ()

Unknown (x)

Hepatitis B

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Hepatitis C

Yes ()

No (x)

Unknown ()

HIV

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Other contaminants:

Yes ()

No ()

Unknown (x)

If yes, please specify:

Is this material pathogenic to man or animals:

Yes (x)

No ()

Unknown ()

If yes, please specify:

() pathogenic

() allergenic

() toxicogenic

(x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴:

(x) risk group 1 () risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴:

() Class 1/S1 (x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁴:

() L1

(x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2000 (EGG) or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

()³

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:

resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment:

cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome

() cDNA

() subgenomic

() synthetic

() subgenic

potential risk of the DNA:

() pathogenic

() tumorigenic

() toxigenic

() allergenic

() no potential risk

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host-specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectivity:

() yes

() no

mobile plasmid:

() yes

() no

own transfer system:

() yes

() no

transfer by endogenous helper viruses:

() yes

() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM⁵

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic

() tumorigenic

() toxigenic

() allergenic

() no potential risk

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art 1 G v. 17.3.2006 1524 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 88/31/EEC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

Patent deposit: form DSMZ-BP/1-Animal and Human Cell Culture (third page) 08/2006

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁷

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

VII. ADDITIONAL DATA⁶

MALE ORIGIN

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁸

- a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ ☐ yes ☒ no
- b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee ☐ yes ☒ no
- c) The culture is to be destroyed by the DSMZ ☒ yes ☐ no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s):
JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917
BUENOS AIRES (1033)
ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

- 3 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.
- 5 It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see 1.) of the organism.
- 6 If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.
- 7 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited (The supplying of such information is optional).
- 8 The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.
- 9 This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

VIABILITY STATEMENT
issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR		II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Address: Buenos Aires (1033) Argentina		Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2832 Date of the deposit or the transfer ¹ : 2007-03-23	
III. VIABILITY STATEMENT			
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 2007-03-26 ² . On that date, the said microorganism was (X) ³ viable () ³ no longer viable			
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED⁴			
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): V. Wechs Date: 2007-04-16	

- ¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).
² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.
³ Mark with a cross the applicable box.
⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER		II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Anschrift: Buenos Aires (1033) Argentina		Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2832 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung: 2007-03-23	
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG			
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 2007-03-26 ¹ geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (x) ¹ lebensfähig () ¹ nicht mehr lebensfähig			
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST ²			
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: <i>V. We-ko</i> Datum: 2007-04-16	

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.
² In den in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.
³ Zutreffendes ankreuzen.
⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: MEL-XY3	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2832
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: (X) a scientific description () a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 2007-03-23 . (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on _____ (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on _____ (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): V. Wechs Date: 2007-04-16

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugeteiltes Bezugszeichen: MEL-XY3	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2832
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde ☒ eine wissenschaftliche Beschreibung ☐ eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst-hinterlegung) eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am _____ eingegangen (Datum der Erst-hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapest Vertrag ist am _____ eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: Datum: 2007-04-16

¹ Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.
Formblatt DSMZ-BP/4 (einzige Seite) 08/2006

66

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

To
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depositary Authority:

DSMZ Accession Number

Date culture received:

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND
UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1¹ THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE
CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XY3

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio,
etc.

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere;

Plate 2 x 10⁶ cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 50 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml
galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism
that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either
before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:

resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group⁴:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment:

cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome
() subgenomic
() subgenic

() cDNA
() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic
() toxigenic

() tumorigenic
() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. Insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectivity:

mobilisable plasmid:

own transfer system:

transfer by endogenous helper viruses:

() yes
() yes
() yes
() yes

() no
() no
() no
() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic
() toxigenic
() no potential risk

() tumorigenic
() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2003 (594) or Class 1 or 2, according to EEC Council Directive 93/81/EC amending Directive 90/269/EC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% fetal bovine serum (heat inactivated) ()³

Cell concentration: 3-5 x 10⁶ cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

Mycoplasma:

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Viruses:

Herpes

Yes ()

No ()

Unknown (x)

Hepatitis B

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Hepatitis C

Yes ()

No (x)

Unknown ()

HIV

Yes ()

No (x)

Unknown ()

Other contaminants:

Yes ()

No ()

Unknown (x)

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals:

Yes (x)

No ()

Unknown ()

If yes, please specify:

() pathogenic

() toxigenic

() allergenic

(x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴:

(x) risk group 1

() risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴:

() Class 1/S1

(x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁴:

() L1

(x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2008 (531) or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/269/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

()⁶

VII. ADDITIONAL DATA⁶

MALE ORIGIN

()⁷

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁸

- a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ () yes (x) no
- b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee () yes (x) no
- c) The culture is to be destroyed by the DSMZ (x) yes () no

IX. DEPOSITOR⁹

Name(s): JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917
BUENOS AIRES (1033)
ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

- ³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.
- ⁵ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see I.) of the organism.
- ⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.
- ⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited (The supplying of such information is optional).
- ⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.
- ⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

VIABILITY STATEMENT
issued pursuant to Rule 10.2 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. DEPOSITOR		II. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Address: Buenos Aires (1033) Argentina		Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2829 Date of the deposit or the transfer ¹ : 2007-03-23	
III. VIABILITY STATEMENT			
The viability of the microorganism identified under II above was tested on 2007-03-26 ¹ . On that date, the said microorganism was ☒ viable ☐ no longer viable			
IV. CONDITIONS UNDER WHICH THE VIABILITY TEST HAS BEEN PERFORMED ⁴			
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): Date: 2007-04-16	

- ¹ Indicate the date of original deposit or, where a new deposit or a transfer has been made, the most recent relevant date (date of the new deposit or date of the transfer).
² In the cases referred to in Rule 10.2(a) (ii) and (iii), refer to the most recent viability test.
³ Mark with a cross the applicable box.
⁴ Fill in if the information has been requested and if the results of the test were negative.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET

Rivadavia 1917

Buenos Aires (1033)

Argentina

LEBENSFÄHIGKEITSBESCHIEDNIGUNG
ausgestellt gemäß Regel 10.2 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. HINTERLEGER		II. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Name: CONICET Rivadavia 1917 Anschrift: Buenos Aires (1033) Argentina		Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2829 Datum der Hinterlegung oder Weiterleitung: 2007-03-23	
III. LEBENSFÄHIGKEITSBESCHEINIGUNG			
Die Lebensfähigkeit des unter II genannten Mikroorganismus ist am 2007-03-26 ¹ geprüft worden. Zu diesem Zeitpunkt war der Mikroorganismus (X) ² lebensfähig () ³ nicht mehr lebensfähig			
IV. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN DIE LEBENSFÄHIGKEITSPRÜFUNG DURCHGEFÜHRT WORDEN IST ⁴			
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE			
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig		Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: V. We-ks Datum: 2007-04-16	

¹ Angabe des Datums der Ersthinterlegung. Wenn eine erneute Hinterlegung oder eine Weiterleitung vorgenommen worden ist, Angabe des Datums der jeweils letzten erneuten Hinterlegung oder Weiterleitung.
² In der in Regel 10.2 Buchstabe a Ziffer ii und iii vorgesehenen Fällen Angabe der letzten Lebensfähigkeitsprüfung.
³ Zutreffendes ankreuzen.
⁴ Ausfüllen, wenn die Angaben beantragt worden sind und wenn die Ergebnisse der Prüfung negativ waren.

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL
RECOGNITION OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



INTERNATIONAL FORM

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
issued pursuant to Rule 7.1 by the
INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY
identified at the bottom of this page

I. IDENTIFICATION OF THE MICROORGANISM	
Identification reference given by the DEPOSITOR: MEL-XX4	Accession number given by the INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY: DSM ACC2829
II. SCIENTIFIC DESCRIPTION AND/OR PROPOSED TAXONOMIC DESIGNATION	
The microorganism identified under I. above was accompanied by: ☒ a scientific description ☐ a proposed taxonomic designation (Mark with a cross where applicable).	
III. RECEIPT AND ACCEPTANCE	
This International Depositary Authority accepts the microorganism identified under I. above, which was received by it on 2007-03-23 (Date of the original deposit) ¹ .	
IV. RECEIPT OF REQUEST FOR CONVERSION	
The microorganism identified under I above was received by this International Depositary Authority on _____ (date of original deposit) and a request to convert the original deposit to a deposit under the Budapest Treaty was received by it on _____ (date of receipt of request for conversion).	
V. INTERNATIONAL DEPOSITARY AUTHORITY	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Address: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Signature(s) of person(s) having the power to represent the International Depositary Authority or of authorized official(s): Date: 2007-04-16

¹ Where Rule 6.4 (d) applies, such date is the date on which the status of international depositary authority was acquired.

BUDAPESTER VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE
ANERKENNUNG DER HINTERLEGUNG VON MIKROORGANISMEN
FÜR DIE ZWECKE VON PATENTVERFAHREN



INTERNATIONALES FORMBLATT

CONICET
Rivadavia 1917
Buenos Aires (1033)
Argentina

EMPFANGSBESTÄTIGUNG BEI ERSTHINTERLEGUNG,
ausgestellt gemäß Regel 7.1 von der unten angegebenen
INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE

I. KENNZEICHNUNG DES MIKROORGANISMUS	
Vom HINTERLEGER zugeteiltes Bezugszeichen: MEL-XX4	Von der INTERNATIONALEN HINTERLEGUNGSSTELLE zugeteilte EINGANGSNUMMER: DSM ACC2829
II. WISSENSCHAFTLICHE BESCHREIBUNG UND/ODER VORGESCHLAGENE TAXONOMISCHE BEZEICHNUNG	
Mit dem unter I. bezeichneten Mikroorganismus wurde ☒ eine wissenschaftliche Beschreibung ☐ eine vorgeschlagene taxonomische Bezeichnung eingereicht. (Zutreffendes ankreuzen).	
III. EINGANG UND ANNAHME	
Diese internationale Hinterlegungsstelle nimmt den unter I bezeichneten Mikroorganismus an, der bei ihr am 2007-03-23 (Datum der Erst- hinterlegung) eingegangen ist.	
IV. EINGANG DES ANTRAGS AUF UMWANDLUNG	
Der unter I bezeichnete Mikroorganismus ist bei dieser Internationalen Hinterlegungsstelle am eingegangen (Datum der Erst- hinterlegung) und ein Antrag auf Umwandlung dieser Ersthinterlegung in eine Hinterlegung gemäß Budapester Vertrag ist am eingegangen (Datum des Eingangs des Antrags auf Umwandlung).	
V. INTERNATIONALE HINTERLEGUNGSSTELLE	
Name: DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH Anschrift: Inhoffenstr. 7 B D-38124 Braunschweig	Unterschrift(en) der zur Vertretung der internationalen Hinterlegungsstelle befugten Person(en) oder des (der) von ihr ermächtigten Bediensteten: V. Wehr Datum: 2007-04-16

! Falls Regel 6.4 Buchstabe d zutrifft, ist dies der Zeitpunkt, zu dem der Status einer internationalen Hinterlegungsstelle erworben worden ist.

74

FOR PATENT DEPOSIT PURPOSES ONLY!
Not for safe deposit or deposit in the open collection

BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION
OF THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS
FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE



STATEMENT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT
pursuant to Rule 6.1

To:
DSMZ-DEUTSCHE SAMMLUNG VON
MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH
Inhoffenstr. 7 B
D-38124 Braunschweig
GERMANY

To be filled in by the Depositary Authority:

DSMZ-Accession Number:

Date culture received:

ANIMAL AND HUMAN CELL CULTURES

THE UNDERSIGNED HEREBY DEPOSITS UNDER THE BUDAPEST TREATY THE CELL CULTURE IDENTIFIED HEREUNDER AND UNDERTAKES NOT TO WITHDRAW THE DEPOSIT FOR THE PERIOD SPECIFIED IN RULE 9.1¹. THE DSMZ DOES NOT PROPAGATE CELL CULTURES.

I. IDENTIFICATION OF THE CELL CULTURE

Identification reference², name of cell line: MEL-XX4

Species of origin: HUMAN

Hybridoma: NO

II. CONDITIONS FOR CULTIVATION

Please indicate all necessary conditions including type and % of serum, temperature, gaseous phase, optimal split ratio, etc.:

Culture medium: DMEM:F12, 10% fetal bovine serum (Heat inactivated), 5% CO₂, 37°C, humid atmosphere,

Plate 2 x 10⁶ cells in a T-25 culture flask. Split ratio: dilute 1:6 every 4 days

Have, until now, any additional supplements (including antibiotics) been used?
If so, give concentrations:

Supplements: 5 ug/ml insulin, 2 mM glutamine, 20 mM sodium selenite, 150 ug/ml sodium pyruvate, 300 ug/ml galactose, 100 uM ascorbic acid, 100 IU/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin

¹ This form may also be used if the undersigned converts into a deposit under the BUDAPEST TREATY the deposit of an organism that he or his predecessor in title has already deposited, outside the Budapest Treaty, with the same depositary institution either before (Rule 6.4(d)) or after the acquisition by that institution of the status of International Depositary Authority.

² Number, symbols etc., given to the organism by the depositor.

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

III. CONDITIONS FOR LONG TERM STORAGE

Composition of medium: Freezing medium: 10% DMSO, 50% DMEM, 40% Fetal bovine serum (heat inactivated)

Cell concentration: 3-5 x10E6 cells /ml

Other recommendations:

Store 24-72 hs at -80°C and transfer to liquid nitrogen

IV. KNOWN CONTAMINATION AND PATHOGENICITY

Mycoplasma: Yes () No (x) Unknown ()

Viruses: Herpes Yes () No () Unknown (x)

Hepatitis B Yes () No (x) Unknown ()

Hepatitis C Yes () No (x) Unknown ()

HIV Yes () No (x) Unknown ()

Other contaminants: Yes () No () Unknown (x)

If yes, please specify:

Is the material pathogenic to man or animals: Yes (x) No () Unknown ()

If yes, please specify:

() pathogenic () allergenic

() toxicogenic (x) tumorigenic

RISK GROUP of the culture⁴: (x) risk group 1 () risk group 2

CLASSIFICATION in case the culture is genetically engineered⁴: () Class 1/S1 (x) Class 2/S2

THE CELL LINE HAS TO BE HANDLED UNDER LABORATORY CONTAINMENT LEVEL⁴

() L1 (x) L2

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁴ The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006 (53) or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 98/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

V. IF THE CELL CULTURE IS GENETICALLY MANIPULATED
Complete answers to be given!

1. DATA CONCERNING THE HOST ORGANISM

designation:

risk group:

() risk group 1

() risk group 2

sensitivities:

resistances:

special properties:

2. DATA CONCERNING THE DONOR ORGANISM

designation:

risk group:

() risk group 1

() risk group 2

() risk group 3

description of the cloned DNA fragment:

cloned information:

size of the cloned DNA (in bp):

() complete genome
() subgenomic
() subgenic

() cDNA
() synthetic

potential risk of the DNA:

() no potential risk

() pathogenic
() toxigenic

() tumorigenic
() allergenic

3. DATA CONCERNING THE VECTOR

designation:

derivative of:

host specificity:

resistances:

plasmid/virus size (incl. insert):

promoters:

additional reading frames:

own infectivity:

() yes

() no

mobilisable plasmid:

() yes

() no

own transfer system:

() yes

() no

transfer by endogenous helper viruses:

() yes

() no

4. DATA CONCERNING THE GENETICALLY MANIPULATED ORGANISM

special properties:

(e.g. production of ...; use as ...-vector etc.)

foreign DNA:

() episomal

() chromosomally integrated

potential risk:

() pathogenic
() toxigenic
() no potential risk

() tumorigenic
() allergenic

please indicate why:

According to the regulations of the German Law Regulating Genetic Engineering the DSMZ can only accept genetically manipulated, potentially pathogenic organisms for deposition when a copy of the permit issued by the competent authority (or by an equivalent national biological safety commission) for work on the organisms accompanies the deposition form.

3 Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

4 The DSMZ only accepts for deposit biological material which belong to risk group 1 or 2 according to EU Council Directive 2000/54 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work and can be classified as S1 or S2 organisms according to the German Law Regulating Genetic Engineering, last changed by Art. 1 G v. 17.3.2006/534 or Class 1 or 2 according to EEC Council Directive 99/81/EC amending Directive 90/219/EEC on the contained use of genetically modified organisms respectively.

VI. SCIENTIFIC DESCRIPTION⁵

HUMAN MELANOMA CELL LINE DERIVED FROM A METASTASIS TO THE LYMPH NODES

VII. ADDITIONAL DATA⁶

FEMALE ORIGIN

VIII. FATE OF THE CULTURE AFTER THE PRESCRIBED DURATION OF STORAGE⁷

- a) The culture is to be transferred into the publicly available collection of the DSMZ ☐ yes ☒ no
- b) The culture is to be handed back to the depositor against a fee ☐ yes ☒ no
- c) The culture is to be destroyed by the DSMZ ☒ yes ☐ no

IX. DEPOSITOR⁸

Name(s):
JOSE MORDOH, MD, PhD

Signature(s):

Institution: CONICET

Address: RIVADAVIA 1917
BUENOS AIRES (1033)
ARGENTINA

Phone: 54-11-953-7230

Fax: 54-11-953-7230

E-Mail: transfer@conicet.gov.ar

Date:

³ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet.

⁵ It is strongly recommended to indicate the scientific description (and/or proposed taxonomic designation) (see 1.) of the organism.

⁶ If desired name and address of the inventor(s) might be recorded here.

⁷ Mark with a cross if additional information is given on an attached sheet, such as the source of the organism, the name(s) and the address(es) of any other depositary institution(s) with which the organism has been deposited (The supplying of such information is optional).

⁸ The culture is to be stored for a period of at least five years after the most recent request for the furnishing of a sample of the deposited organism and, in any case, for at least 30 years after the date of deposit (Rule 9.1 of the BUDAPEST TREATY). The above regulation is valid till there will be binding jurisdiction.

⁹ This Deposition Form is the contract between the depositary and the depositor. Therefore it must be signed by the depositor. In case of a legal entity the signatures of two representatives, officially nominated by this entity, are required. Where the signature is required on behalf of a legal entity, the typewritten name(s) of the natural person(s) signing on behalf of the legal entity should accompany the signature(s). Unless otherwise agreed, the undersigned is the correspondent of the DSMZ. Indication of the e-mail address helps to accelerate communication.