

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y

Dirección de Nuevas Creaciones

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-124408- -00008-0000

Fecha: 2013-02-06 15:52:12

Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 523 RESPUESTA

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Eve: 378 FASENACIONALI

Folios: 22

Expediente: 09.124.408

Titular: BAYER CROPSCIENCE N.V.

Asunto: CONTESTACIÓN A REQUERIMIENTO.

MAURICIO PATIÑO BONNET, mayor de edad, vecino de esta ciudad, identificado como aparece al pie de mi firma, portador de la tarjeta profesional número 73.583 del Consejo Superior de la Judicatura, en mi calidad de apoderado de **BAYER CROPSCIENCE N.V.**, por medio del presente memorial acudo a la Dirección de Nuevas Creaciones de la Superintendencia de Industria y Comercio con el fin de **DAR RESPUESTA** al Oficio No. **16713**, de acuerdo como sigue:

CLARIDAD, TÍTULO, NO ES UNA INVENCIÓN Y EXCEPCIÓN DE PATENTABILIDAD

Con el fin de superar las objeciones que por claridad, título, no es una invención y excepción de patentabilidad planteó su Despacho, presento nuevo pliego reivindicatorio compuesto por veintiuno (21) reivindicaciones, en el cual y siguiendo lo sugerido por el Señor Examinador, se han realizado las siguientes modificaciones. A saber:

- Las reivindicaciones 1 a 10 relacionadas con la planta, la semilla, células, ADN genómico y el método para producir una planta o semilla han sido eliminadas del nuevo pliego reivindicatorio.
- El término "similar" ha sido eliminado del nuevo pliego reivindicatorio.
- El término "evento élite "EE-GH5" ha sido reemplazado con un término explicando los elementos que el evento élite comprende.

- La nueva reivindicación independiente 1 (antigua reivindicación 11) ha sido modificada para caracterizar dicho evento élite como un evento que comprende un ADN exterior que comprende el código de secuencia de un gen crv1Ab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus). El soporte para esta modificación puede encontrarse en la página 6, en combinación con la página 11 y 12 y 33 de la solicitud como fue presentada.
- El Examinador objeta la presencia de lenguaje homólogo en las antiguas reivindicaciones 27, 28, 31, 33 y 34 y argumenta que dicho lenguaje no permite establecer una secuencia nucleótida exacta como se reivindica.

De manera respetuosa, y aunque me encuentro en desacuerdo, con el objetivo de demostrar el interés de mi mandante por obtener el respectivo derecho, el nuevo pliego reivindicatorio se ha modificado para hacer referencia al 90% de la identidad de la secuencia de las sondas de la invención. Una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica sabría que incluso un número limitado de desajustes permite la detección de una región específica. En el presente caso, la sonda comprende una región de ADN que se une al ADN de la planta así como una región de ADN que se une en el ADN externo. Esta combinación única permite la detección del evento élite de la invención, incluso si la sonda no es completamente idéntica a la secuencia a ser detectada.

- Con relación a la caracterización del método por un solo paso, me permito poner de presente que el presente método requiere para la obtención de un resultado la amplificación de un fragmento de ADN el cual es específico para el evento élite presente. Si el fragmento está presente, el método ha identificado el evento élite presente, de lo contrario, el evento élite no está presente. De acuerdo con lo anterior, no es necesario definir pasos adicionales para caracterizar el método reivindicado con el fin de obtener un resultado repetible y reproducible. Adicional a lo anterior, se han caracterizado los cebadores a ser utilizados así como la secuencia específica para el evento élite presente y se ha eliminado cualquier redundancia.

- El Examinador objeta la antigua reivindicación 16 (nueva reivindicación 3) debido al término "protocolo de identificación de EE-GH5" y debido a que los cebadores a ser utilizados presuntamente no están suficientemente caracterizados.

El término objetado ha sido eliminado. Adicionalmente y toda vez que dicha reivindicación es dependiente de la reivindicación 2, la cual a su vez es dependiente de la reivindicación 1 y ambas reivindicaciones caracterizan la estructura de los cebadores a ser utilizados, la estructura de los cebadores está suficientemente caracterizada, i.e. los cebadores que comprenden SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 6 necesitan ser utilizadas para obtener un fragmento de aproximadamente 369 bp.

- En relación con los cebadores de la nueva reivindicación 4 (antiguas reivindicaciones 17 a 19) respetuosamente pongo de presente que a partir de las modificaciones introducidas a dicha reivindicación, la persona del oficio normalmente versada en la materia técnica podría diseñar cebadores para llevar a cabo el método de la invención. La longitud de los mismos está restringida a 17 a 200 nucleótidos y su estructura está definida por una secuencia a la que se unen i.e. aquella de SEQ ID NO:1 y SEQ ID NO: 2. Igualmente es claro para la persona del oficio que uno de los dos cebadores siempre debe reconocer ADN de planta que flanquea el sitio de inserción del evento élite, mientras que el otro siempre se une al ADN externo. Las fronteras exactas del ADN de planta y el ADN externo en la SEQ ID NOS: 1 y 2 se especifican en la nueva reivindicación 4.

La nueva reivindicación 6 (antiguas reivindicaciones 21 a 26) se modificaron de acuerdo con lo anterior.

- La nueva reivindicación 9 (antigua reivindicación 26) ha sido modificada para incorporar todas las características necesarias para definir inequívocamente un sondeo de acuerdo con la invención, el cual comprende una secuencia hibridizante a una planta de ADN flanqueando el sitio de inserción del evento élite presente y otra secuencia hibridizante al ADN externo, detectando específicamente el evento élite de la presente invención.

En cuanto a la muestra biológica a ser analizada, de manera respetuosa hago notar que cualquier persona normalmente versada en la materia técnica sabe bien que la muestra biológica es material de plantas.

- Me permito aclarar que la nueva reivindicación 4 (antigua reivindicación 17) hace referencia a un kit que comprende dos imprimantes los cuales pueden ser utilizados en el método de la nueva reivindicación 1 (para amplificar un fragmento de ADN específico para el presente evento élite), mientras que la nueva reivindicación 10 (antigua reivindicación 29) hace referencia a un kit que comprende un sondeo específico apropiado para llevar a cabo el método de la nueva reivindicación 9 (para hibridizar a un ADN específico para el evento élite presente).
- Atentamente hago notar que en virtud de las enseñanzas de las páginas 16 a 22 del texto de la solicitud de patente como fue presentado, en donde se indican los eventos específicos para los cebadores, una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica podría obtener los cebadores apropiados a partir de las características proporcionadas en las reivindicaciones. En consecuencia, definir los cebadores por secuencias SEQ ID NO propias en lugar de secuencias SEQ ID NO que los contienen, constituiría una limitación innecesaria y severa del alcance de protección.
- Para finalizar y conforme la materia reclamada, el título de la presente solicitud ha sido modificado a **"MÉTODOS PARA DETECTAR EL EVENTO DE ÉLITE EE-GH5 EN UNA PLANTA"**.

En este sentido, nótese por demás que las modificaciones realizadas al título y pliego reivindicatorio no amplían la materia objeto de protección, sino por el contrario aclaran y limitan la misma, permitiendo una interpretación inequívoca del alcance de protección y su comparación con el estado del arte. Así, las mismas se encuentran en concordancia con los lineamientos de los artículos 20 y 34 de la D.486.

En consecuencia, las modificaciones al nuevo pliego reivindicatorio dan por superadas las objeciones que por claridad, título, no es una invención y excepción de patentabilidad planteó su Despacho, toda vez que los métodos

reivindicados definen con claridad las características que los permiten diferenciar del estado del arte, las cuales se encuentran plenamente sustentadas por la descripción de conformidad con los artículos 14 y 30 de la D. 486.

Por consiguiente, atentamente solicito al señor Examinador acepte las modificaciones propuestas y proceda con el respectivo estudio de patentabilidad.

NIVEL INVENTIVO

El Despacho considera que la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría cebadores y sondas específicos del gen crylab en el evento EE-HG5 diseñandos usando las técnicas divulgadas en **D2** en el método de detección de eventos de algodón divulgados en **D1** para llegar así al objeto de la presente solicitud.

Establece el artículo 18:

"Art. 18

Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica".

En este sentido, es importante poner de presente que el examen de nivel inventivo está dirigido a determinar si la invención reivindicada había sido sugerida o enseñada en el estado del arte, de acuerdo con el conocimiento de un técnico medio en la materia. Para los anteriores efectos, el método problema-solución le indica al Examinador que al realizar el examen de nivel inventivo debe:

"- *Identificar el estado de la técnica cercano a la invención reivindicada*

El estado de la técnica cercano es un documento que se encuentra en el mismo campo técnico que la invención o trata de solucionar el mismo problema o uno semejante. Suele ser el que tiene más

características en común con la invención o presenta leves modificaciones de estructura e indica la misma función, propósito.

En caso de que haya varios documentos relacionados, el estado de la técnica cercano es el documento que menciona una función, propósito, problema a resolver ó actividad semejante al de la invención.

- *Determinar la diferencia entre la invención y estado de la técnica cercano*
- *Definir el efecto técnico causado y atribuible al elemento diferencial*
- *Deducir el problema técnico objetivo*
- *Evaluar si la invención reivindicada, partiendo del estado de la técnica cercano y del problema técnico objetivo, habría sido obvia para la persona medianamente versada en la materia¹.*

Por lo tanto, a partir de los lineamientos del artículo 18 y los conceptos expuestos por el instructivo procedo a demostrar que la invención de mi representada no se derivaría de manera obvia y evidente de **D1** y **D2**, por cuanto las características técnicas divulgadas en dichos documentos no enseñan ni sugieren la invención reivindicada por mi representada, la cual tiene un efecto técnico sorprendente.

Así bien, la característica técnica esencial, novedosa e inventiva de la invención de mi mandante es el evento élite presente EE-GH5, el cual se caracteriza por sitios de integración únicos. Dicha característica está presente en todas las reivindicaciones ya que toda la temática reivindicada hacer referencia bien sea al ADN de planta en el sitio de integración o al ADN externo.

En particular, el presente evento está basado en el gen crylab el cual es integrado de manera aleatoria al sitio dentro del genoma. La integración en ese sitio específico es la responsable de las propiedades ventajosas del evento reivindicado conforme la invención.

El sitio de integración ha sido caracterizado en detalle a través de la secuenciación. De acuerdo con lo anterior, la región de flanco 5' i.e. bases

¹ Superintendencia de Industria y Comercio "**Examen de Solicitudes de Patentes de Invención y Modelos de Utilidad**", Bogotá D.C., Febrero 8, 2012. Pág. 72 - 73

563 5' del gen insertado, han sido secuenciadas (ver ejemplo 2.1) y son representadas en las primeras bases 563 de la SEQ ID NO:16 (una secuencia más pequeña que comprende los últimos 98 nucleótidos de la región de flaqueo 5' y 335 nucleótidos del extremo 5' del ADN integrado es representada en SEQ ID NO:1). La segunda mitad de SEQ ID NO:16, de acuerdo con lo anterior, corresponde al 5' extremo del gen insertado en la planta.

En referencia a la región 3' que flanquea el ADN integrado, ésta corresponde a nucleótidos 41 a 452 de SEQ ID NO:2 los cuales son 3' al ADN integrado, en donde los nucleótidos 1 a 40 corresponden al extremo 3' del ADN integrado.

Esta explicación es igualmente visualizada en la Figura 1 de la presente solicitud.

Las dos secuencias de SEQ ID NO:1 (o SEQ ID NO:16) y la SEQ ID NO:2 representan entonces algunas de las características estructurales del evento EE-GH5.

Más aún, como se indica en el ejemplo 2.3, un reajuste tuvo lugar dentro del ADN insertado en comparación al ADN original, el cual tuvo lugar entre los nucleótidos 52 y 88 de la secuencia la SEQ ID NO:12, la cual está localizada dentro del mencionado ADN integrado.

Así las cosas, respetuosamente hago notar que no es la provisión de los cebadores lo que define el problema técnico de la presente invención sino por el contrario la de un evento específico que tiene las propiedades deseadas, i.e. el evento dentro de su ambiente genómico específico como se describió previamente. En particular, es la presencia de la secuencia específica definiendo los bordes entre el ADN de planta (i.e. nucleótidos 1 a 563 de la SEQ ID NO:1 definiendo el ADN de planta 5' del sitio de integración y los nucleótidos 41 a 452 de la SEQ ID NO:2 definiendo el ADN 3' del sitio de integración) y el ADN integrado (empezando con el nucleótido 564 de la SEQ ID NO:1 y terminando con el nucleótido 40 de la SEQ ID NO:2). De acuerdo con lo anterior, el fragmento nucleico ácido más pequeño que define específicamente el sitio de integración del ADN dentro del genoma de la planta

tanto en el extremo 5' y 3' es capaz de caracterizar el evento de la presente invención.

D1 como lo identificó en Examinador revela el uso general en las plantas para un gen crylab quimérico con el fin de obtener plantas tales como maíz, arroz y algodón tolerantes a los insectos. Dicho documento revela la generación de eventos de algodón transformado que comprenden un gen quimérico que comprende el gen crylab bajo el control del promotor 35 S (como se describió en la página 20, ejemplo 3).

D1 sin embargo no revela una planta de algodón que comprende un evento élite. Los criterios para calificar como un evento élite están citados en la presente solicitud en la página 12 y 13 del texto presentado, i.e. i) las plantas que comprenden el evento élite tienen un desempeño agronómico óptimo, ii) tienen una configuración molecular bien definida la cual es heredada en forma estable y iii) el gen crylab es expresado a un nivel aceptable en términos comerciables. En consecuencia, es evidente que **D1** no revela una planta de algodón que comprende un evento élite (ver anexo 2, ítem 2 de la declaración adjunta del Dr. J. Holloway en donde se indica que el presente evento élite posee características agronómicas óptimas).

En resumen, el problema técnico de la presente invención no es la provisión de cebadores escogidos de secuencias dentro del genoma de la planta o el ADN integrado, pero, en la ausencia de una planta comparable con el gen crylab integrado en su genoma, el problema técnico debe ser visto como la provisión de la primera planta de algodón que comprende un evento élite para crylab así como los medios y métodos para identificar dicho evento élite.

La solución a este problema es inventiva a la luz de **D1**, solo o en combinación con **D2**, en la medida que ninguno de los documentos revela un evento élite con propiedades agronómicas óptimas, ni tampoco ilustra cómo llegar al mencionado evento. Si bien la metodología está bien establecida, es imposible derivar sitios de inserción óptima para los transgenes. Las excelentes propiedades del presente evento élite no eran previsibles a partir de las enseñanzas de ningún documento del estado del arte (**D1** y **D2**).

En consecuencia, el argumento de que sería fácil escoger cebadores si el sitio de integración del transgen fuera conocido no aplica. Por el contrario, las enseñanzas del estado de la técnica alejarían a la persona del oficio normalmente versada en la materia de escoger los métodos y los medios para identificar el presente evento élite, toda vez que (i) dicho sitio de integración no era conocido en plantas previamente transformadas y (ii) no había indicaciones que permitieran concluir con exactitud que el sitio de integración conduciría a una planta con propiedades agronómicas ventajosas. Conforme lo anterior, la escogencia de cebadores para detectar el presente evento o cualquier otro asunto relacionado con el evento de la presente invención habría sido evidente si dicho evento fuera conocido previamente. Sin embargo, y en la medida que no había información relacionada con el sitio de integración del ADN de la presente invención en el estado del arte, no es procedente afirmar que la invención de mi representada carece de nivel inventivo.

Esta línea de argumentación puede ser aplicada para todas las reivindicaciones debido a que todas ellas requieren de la presencia de un evento élite EE-GH5 de una u otra manera.

Adicional a lo anterior, me permito allegar declaración del Dr. J. Holloway (ver anexo 2) presentada como prueba del nivel inventivo de la presente solicitud en el trámite equivalente ante la Oficina Europea de Patentes, la cual reconoció la novedad y el nivel inventivo de la invención de mi mandante.

A partir del ítem 1 de la declaración del Dr. Holloway se puede ver que las plantas de la invención fueron evaluadas para una infestación artificial con *Helicoverpa zea*. Se infestó artificialmente una fila de 60 plantas de algodón con 7200 huevos de *Helicoverpa zea*. Esto corresponde a una infestación artificial de 120 huevos por planta de algodón. Al final de la temporada, los cuerpos frutales de estas plantas de algodón fueron analizados para la presencia de larvas vivas (es decir cada cuerpo frutal fue disecado para buscar larvas vivas de *Helicoverpa zea*). Se calculó que el 0.27% de estos cuerpos frutales de algodón se dañaron.

Me permito referir al Examinador a los documentos D1 (WO 2006/128572 A) y D2 (WO 2006/128573 A) citados en el Informe de Búsqueda Internacional (PCT/ISA/210), los cuales igualmente revelan plantas transformadas con un

gen cyrlab (en lo sucesivo referidos como D1* and D2*). Primero que todo, se considera que este evento de transformación específico es descrito en D1* (de manera similar a las plantas de D1* como fueron identificadas por el Examinador las cuales ni siquiera son eventos élite) de una manera no favorable. En particular, la planta revelada en D1* no ha sido depositada de una manera accesible al público y en la ausencia de tal depósito, no es reproducible. Cualquier comparación directa entre el evento élite actualmente reivindicado y el evento específico de D1* con vista a establecer una ventaja o un efecto sorpresa fue y es por lo tanto imposible.

Nótese que las respectivas solicitudes revelan que las plantas de esos documentos fueron igualmente infestadas de forma artificial con *Helicoverpa zea* aunque con un rango de infestación 40 veces menor que en las plantas de la reivindicación 1 (ver en D2*, Ejemplo 8, página 34, línea 25 "...las infestaciones fueron designadas para dar aproximadamente 3 huevos por planta"). La información (ver por ejemplo la figura en la tercera columna en la Tabla en la parte superior de la página 35 en D2*) ilustra que el 2.67% de los cuerpos frutales dañados fueron identificados en la planta resistente a los insectos.

En consecuencia, puede calcularse que las plantas de la invención muestran un número significativamente reducido (0.27% lo cual es aproximadamente 10 veces menos) de cuerpos frutales dañados sobre la infestación artificial con *Helicoverpa zea* que las plantas de D1* (2.67% - ver página 35). Esta reducción de cuerpos frutales dañados es aún más llamativa teniendo en cuenta la tasa de prestación 40 veces más alta con *Helicoverpa zea* de las plantas de la reivindicación 1.

Es evidente que los ensayos simultáneos (en las mismas circunstancias ambientales) entre las plantas de la reivindicación 1 y las plantas de D1* y D2* pueden no ser llevadas a cabo por la no disponibilidad de las plantas de D1* o D2*. Sin embargo, los datos técnicos suplementarios del Dr. J. Holloway ofrecen una fuerte indicación de un sorprendentemente incremento en la tolerancia al gusano bellotero de las plantas de la presente invención. Adicionalmente, el hecho de que estos datos se hayan repetido en dos cosechas (2007 y 2008) y también conduzcan a figuras comparables favorece la posibilidad de reproducir estos datos suplementarios.

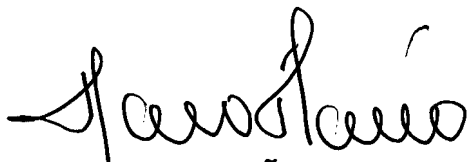
Por consiguiente, toda vez que no existe sugerencia en **D1** o **D2** con respecto a un evento élite con propiedades agronómicas óptimas o el método para llegar al evento aquí reivindicado; se puede concluir, que **D1** y **D2** (solos o en combinación) no anticipan la materia de la presente invención y por lo tanto no afectan el nivel inventivo de la misma.

ANEXOS

- i. Nuevo pliego reivindicatorio compuesto por veintiuno (21) reivindicaciones.
- ii. Declaración del Dr. Jonathan Holloway junto con su respectiva traducción al castellano.

De acuerdo con todo lo expuesto, solicito en forma muy comedida y respetuosa al Sr. Jefe de la División de Nuevas Creaciones se sirva tener en cuenta las manifestaciones y documentos aportados junto con el presente memorial y, de conformidad con ello, se sirva continuar con el trámite de la solicitud de patente de la referencia.

Del señor Jefe de la Dirección de Nuevas Creaciones,



MAURICIO PATIÑO BONNET

C.C. 11.342.699 de Zipaquirá

✓ **T.P. 73583 del C.S. de la J.**

Reivindicaciones

1. Un método para identificar un evento de élite en muestras biológicas, dichos eventos de élite comprenden un ADN exterior que comprende el código de secuencia de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho método comprende la amplificación del fragmento de ADN de entre 100 y 500 bp desde un ácido nucleico presente en dicha muestra biológica usando una reacción en cadena polimerasa con al menos dos cebadores, uno de dichos cebadores consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo la región de flanco de 5' de dicho evento de élite, dicha región de flanco de 5' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 98 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 16 desde el nucleótido uno hasta el nucleótido 560 y tres de 3' de la región de flanco de dicho evento de élite, dicha región de flanco de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452, el otro cebador de dichos cebadores consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 hasta 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo una secuencia dentro del ADN externo teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 334 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 40.
2. El método de la reivindicación 1, en donde dicho cebador comprende la secuencia de SEQ ID No 3 y SEQ ID No 6, respectivamente.
3. El método de la reivindicación 2, cuyo método comprende la amplificación de un fragmento de alrededor de 369 bp.
4. Un kit para identificar un evento de élite en muestras biológicas, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende el código de secuencia de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho kit comprende un cebador consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo la región de flanco de 5' de dicho evento de élite, dicha región de flanco de 5' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 98 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 16 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 563 o un cebador consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos

consecutivos y reconociendo la región de flaqueo de 3' de dicho evento de élite, dicha región de flaqueo de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452, y un cebador consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo una secuencia dentro del ADN externo, dicho ADN externo teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 334 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 40.

5. El kit de la reivindicación 4, que comprende un cebador consistente en la secuencia de SEQ ID No 3 y un cebador consistente en la secuencia de SEQ ID No 6.
6. Un cebador adecuado para su uso en la detección de un evento de élite, dicho evento de élite comprende un ADN externo de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho cebador consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y teniendo una secuencia en la cual, bajo condiciones de detección optimizadas específicamente se reconoce una secuencia dentro de la región de flaqueo de 3' o 5' de EE-GH5, dicha región de flaqueo de 5' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 98 o la secuencia de nucleótidos del SEQ ID No 16 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 563 y dicha región de flaqueo de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452.
7. Un cebador que comprende al final del extremo de las 3' la secuencia de SEQ ID No. 3.
8. Un cebador que comprende al final del extremo de las 3' la secuencia de SEQ ID No. 6.
9. Un método para identificar un evento de élite muestras biológicas, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende código de secuencia de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho método comprende la hibridización de un ácido nucleico de muestras biológicas con un sondeo específico de dicho

evento de élite, en donde la secuencia de dicho sondeo específico tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 hasta el 119 o SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 20 al 61, o complemento de dichas secuencias.

10. Un kit para identificar un evento de élite en muestras biológicas, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende a secuencia de código de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho kit comprende un sondeo específico, capaz de hibridizar específicamente a una región específica de dicho evento de élite, en donde la secuencia de dicho sondeo específico tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 hasta el 119 o SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 20 al 61, o el complemento de dichas secuencias.

11. Una sonda específica para la identificación de un evento de élite en muestras biológicas, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende una secuencia de código de un gen crylab modificado bajo el control un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), en donde dicho sondeo tiene al menos el 90% de identidad de secuencia con SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 al 119 o SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 20 al 61 o el complemento de dichas secuencias.

12. Un método para confirmar la pureza de las semillas, dicho método comprende la detección de una región específica para un evento de élite, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende una secuencia de un gen crylab modificado bajo el control el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), en las muestras de semillas, dicho método comprende

(a) amplificar un fragmento de ADN de entre 100 y 500 bp de un ácido nucleico presente en dicha muestra biológica usando una reacción en cadena polimerasa con al menos 2 cebadores, uno de dichos cebadores consistente en una secuencia nucleótida de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo la región de flanqueo de 5' de dicho evento de élite, dicha región de flanqueo de 5' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 98 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 16 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 563, o la región de flanqueo de 3' de dicho

evento de élite, , dicha región de flaqueo de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452, el otro cebador de dichos cebadores consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo una secuencia dentro del ADN externo teniendo la secuencia de nucleótido del complemento de SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 334 o la secuencia de nucleótido de SEQ ID No. 2 desde el nucleótido uno hasta el nucleótido 40; o

- (b) detectar una región específica de dicho evento de élite con un sondeo específico del cual específicamente reconoce la región de flaqueo de 3' o 5' de dicho evento de élite, en muestras de lotes de semillas, dicho muestreo tiene al menos 90% de identidad de secuencia con SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 al 119 o SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 20 al 61, o el complemento de dichas secuencias.

13. Un método para detectar semillas para la presencia de un evento de élite, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende una secuencia de código de un gen crylab modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), cuyo método comprende

- (a) amplificar un fragmento de ADN de entre 100 y 500 bp de un ácido nucleico presente en dicha muestra biológica usando una reacción en cadena polimerasa con al menos 2 cebadores, uno de dichos cebadores consistente en una secuencia nucleótida de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo la región de flaqueo de 5' de dicho evento de élite, dicha región de flaqueo de 5' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 98 o la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 16 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 563, o la región de flaqueo de 3' de dicho evento de élite, , dicha región de flaqueo de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452, el otro cebador de dichos cebadores consistente en una secuencia de nucleótidos de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo una secuencia dentro del ADN externo teniendo la secuencia de nucleótido del complemento de SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 334 o la secuencia de nucleótido de SEQ ID No. 2 desde el nucleótido uno hasta el nucleótido 40; o

- (b) detectar una región específica de dicho evento de élite con un sondeo específico del cual específicamente reconoce la región de flanco de 3' o 5' de dicho evento de élite, en muestras de lotes de semillas, dicho muestreo tiene al menos 90% de identidad de secuencia con SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 al 119 o SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 20 al 61, o el complemento de dichas secuencias.
14. Un método para determinar el estatus de cigosidad de una planta, material de plantas o semillas comprendiendo un evento de élite, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende el código de secuencia de un gen *crylab* modificado bajo el control de un promotor S7 de un virus de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho método comprende amplificar fragmentos de ADN de entre 100 y 500 bp de un ácido nucleico presente en dicha muestra biológica usando una reacción en cadena polimerasa con al menos 3 cebadores, dos de dichos cebadores consistentes en una secuencia nucleótido de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y específicamente reconociendo la pre inserción del ADN de la planta, tal y como la región de flanco de 5' de EE-GH5, dicha región de flanco de 5' teniendo una secuencia nucleótido de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 1 hasta el nucleótido 563, o la región de flanco de 3' de EE-GH5, dicha región de flanco de 3' teniendo la secuencia de nucleótidos del complemento de of SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 hasta el nucleótido 452 o la pre inserción de ADN teniendo la secuencia nucleótido de of SEQ ID No 15 o el complemento de la misma, el tercero de dichos cebadores consistente en una secuencia nucleótido de 17 a 200 nucleótidos consecutivos y reconociendo una secuencia dentro del ADN externo teniendo una secuencia nucleótido del complemento de of SEQ ID No 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 334 o la secuencia nucleótido de of SEQ ID No 2 desde el nucleótido uno hasta el nucleótido 40.
15. Un método de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicho primer cebador comprende la secuencia de nucleótido de of SEQ ID No 6, dicho segundo cebador comprende la secuencia de of SEQ ID No 9 y dicho tercer cebador comprende la secuencia de of SEQ ID No 3.
16. Un método para detectar la presencia de un evento de élite en muestras biológicas a través de la hibridación con un sondeo de ácido nucleico marcado sustancialmente complementario en el cual la proporción objetivo de sondeo de ácido nucleico es amplificada a través del reciclaje de la secuencia del ácido

nucleico objetivo, dicho evento de élite comprende un ADN externo que comprende el código de secuencia de un gen crylab modificado bajo el control de la atrofia subterránea del trébol (nanovirus), dicho método comprende:

- a) la hibridación de dicha secuencia de ácido nucleico objetivo para un primer ácido nucleico oligonucleótido que comprende la secuencia nucleótida de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 99 hasta el nucleótido 116 o sus complementos o dicho primer ácido nucleico oligonucleótido que comprende la secuencia nucleótida de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 23 hasta el nucleótido 40 o sus complementos;
- b) la hibridización de dicha secuencia de ácido nucleico objetivo para un segundo ácido nucleico oligonucleótido que comprende la secuencia nucleótida de SEQ ID No 1 desde el nucleótido 81 hasta el nucleótido 98 o sus complementos o dichos sondeos de ácidos nucleico los marcados que comprende la secuencia nucleótido de SEQ ID No 2 desde el nucleótido 41 al nucleótido 58 o sus complementos, en donde dichos primer y segundo superposición de oligonucleótidos por al menos un nucleótido y en donde tanto dicho primer o dicho segundo oligonucleótido está marcado para ser dicho sondeo de ácido nucleico marcado;
- c) escindiendo sólo el sondeo marcado dentro de la secuencia de sondeo de ácido nucleico objetivo dúplex con una enzima la cual causa una escisión selectiva del sondeo resultando una disociación dúplex, dejando la secuencia objetivo intacta;
- d) reciclando la secuencia de ácido nucleico objetivo mediante la repetición de los pasos (a) a (c); y
- e) detectando el sondeo marcado escindido, y de este modo determinando la presencia de dicha secuencia de ácido nucleico objetivo.

17. Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia nucleótido de SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 88 al nucleótido 109 o de SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 30 al 50, o los complementos de dichas secuencias.

18. La molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 17 que comprende una secuencia nucleótido de SEQ ID No. 1 desde el nucleótido 78 al nucleótido 119 o de SEQ ID No. 2 desde el nucleótido 20 al 60, o el complemento de dichas secuencias.
19. Un fragmento de ácido nucleico aislado que comprende la secuencia nucleótido de SEQ ID No. 12.
20. El método de la reivindicación 1, que comprende amplificar un fragmento de ADN de alrededor de 262 bp usando cebadores consistentes en las secuencias nucleótidos de SEQ ID No. 10 SEQ ID No. 11 respectivamente.
21. Un kit que comprende dos cebadores oligonucleótidos consistentes esencialmente en secuencias nucleótidos de SEQ ID No. 10 y SEQ ID No. 11 respectivamente.

Application No.: EP 08 748 863.1

Filed: March 31, 2008

Applicant: Bayer BioScience N.V.

For: Insect resistant cotton plants and methods for identifying same

Declaration Dr. Jonathan Holloway

I, Jonathan Holloway, hereby declare that:

1. I am a citizen of United Kingdom residing currently in Lubbock, Texas, US.
2. I received a PhD degree in Insecticide Toxicology in 1995 from the University of Reading, Berkshire, U.K.
3. Since 2000, I have been employed by Bayer CropScience. My work at Bayer CropScience currently involves the supervision of field trials in cotton.
4. I am familiar with the field of entomology, particularly the field of insect resistance in cotton and I have authored and co-authored several scientific publications in this field
5. I have read EP patent application 08 748 863.1 (further referred to as "the Application").
6. I have also been informed that in the Communication pursuant to Article 94(3) EPC, dated January 15, 2010, the Examiner has objected to the pending claims as lacking an inventive step.
7. I hereby submit the following technical information:

1. The plants of claim 1 have been tested for insect resistance to cotton bollworm (*Helicoverpa zea*) in cotton fruiting bodies

The plants of claim 1 were evaluated for an artificial infestation with *Helicoverpa zea*. A total of 7200 eggs of *Helicoverpa zea* were infested onto a row of 60 cotton plants. This corresponds with an artificial infestation of 120 eggs of *H. zea* per cotton plant. At the end of the season the fruiting bodies of these cotton plants were analyzed for the presence of live larvae (i.e. each fruiting body was dissected to search for live larvae of *H. zea*). Since the detection of the presence of live larvae corresponds with the presence of a damaged fruiting body it was calculated that 0.27% of the fruiting bodies were damaged.

Side by side trials (carried out in the same environmental circumstances) between the plants of claim 1 and the plants of D1, D2 or D10 could not be carried out because of the unavailability of the plants (lack of seed deposits) of D1, D2 or D10). However, I submit that the data offer at least a strong indication

20

for an unexpected and surprising high cotton bollworm tolerance of the plants of claim 1. In addition, the fact that these data have been repeated in two growth seasons (2007 and 2008) and also lead to comparable figures is in favor for the reproducibility of these technical data.

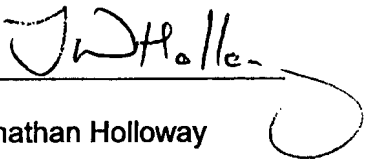
2. The plants of claim 1 have optimal agronomic characteristics

Finally, it is also submitted that the plants of claim 1 have optimal agronomic characteristics. Indeed, replicated field trials were carried out at 23 locations in 8 states in the United States over the 2007 and 2008 growing seasons. Trials were conducted across the cotton belt to capture the various environmental stresses that cotton varieties undergo during the course of a normal production year. The results showed that there was no difference between the plants of claim 1 and the untransformed parent cotton line for seed germination, seed dormancy, seedling vigor, yield, plant morphology or fiber quality.

I also declare that all statements made herein of information and belief are believed to be true.

22nd June 2010

Date


Jonathan Holloway

Solicitud No.: EP 08 748 863.1

Presentada: 31 de marzo de 2008

Solicitante: Bayer BioScience N.V.

Para: Plantas de algodón resistentes a los insectos y métodos para identificar las mismas

Declaración del Dr Jonathan Holloway

YO, Jonathan Holloway, por la presente declaro que:

1. Yo soy ciudadano de Reino Unido, residente en Lubbock, Texas, E.U.A.
2. Yo he recibido un grado de PhD (Doctorado) en Toxicología Insecticida en 1995 de la Universidad de Reading, Berkshire U.K.
3. Desde el año 2000 he estado empleado por Bayer CropScience. Mi trabajo en Bayer CropScience actualmente incluye la supervisión de pruebas de campo en algodón
4. Yo estoy familiarizado con el campo de la entomología, particularmente con el campo de la resistencia de los insectos en algodón y he sido autor y co – autor de varias publicaciones científicas en este campo.
5. Yo he leído la solicitud de patente 08 748 863.1 (de aquí en adelante referida como “La Solicitud”)
6. Yo también he sido informado acerca de que en la Comunicación en virtud del Artículo 94(3) EPC, fechado el 15 de enero de 2010, el examinador ha objetado las reivindicaciones pendientes como faltas de paso inventivo.
7. Yo, por medio de este documento envío la siguiente información técnica:

1. Las plantas de la reivindicación 1 han sido probadas para la resistencia a insectos para el gusano bellotero del algodón (Helicoverpa zea) en cuerpos frutales de algodón

Las plantas de la reivindicación fueron evaluadas para una infestación artificial con *Helicoverpa zea*. Un total de 7200 huevos de *Helicoverpa zea* fueron infestados en una fila de 60 plantas de algodón. Esto corresponde con una infestación artificial de 120 huevos de *Helicoverpa zea* por planta. Al final de la estación los cuerpos frutales de estas plantas de algodón fueron analizados para la presencia de larvas vivas (es decir, cada cuerpo frutal fue diseccionado para buscar larvas vivas de *H. zea*). Ya que la detección de la presencia de larvas vivas que corresponde con la presencia de un cuerpo frutal dañado fue calculado que el 0.27% de los cuerpos frutales estaban dañados.

Junto con los ensayos (llevados a cabo en las mismas circunstancias ambientales) entre las plantas de la reivindicación 1 y las plantas de D1, D2 o D10 no puede ser llevada a cabo por la no disponibilidad de plantas (falta de depósitos de semillas) de D1, D2 y D10). Sin

22

embargo, sostengo que los datos ofrecidos ofrecen al menos una fuerte indicación de una inesperada y sorprendente alta tolerancia al gusano bellotero del algodón de las plantas de la reivindicación 1. Adicionalmente, el hecho de que estos datos han sido repetidos en dos estaciones de crecimiento (2007 y 2008) también da a lugar a cifras comparables y se muestra a favor de la reproducibilidad de los datos técnicos.

2. Las plantas de la reivindicación 1 tienen características agronómicas óptimas Finalmente, también se señala que las plantas de la reivindicación 1 tienen características agronómicas óptimas. En efecto, replicando las pruebas de campo que fueron llevadas a cabo en 23 lugares en 8 estados en los Estados Unidos durante las estaciones de crecimiento de 2007 y 2008. Los ensayos fueron conducidos a través de la zona algodonera para capturar las diversas tensiones ambientales a las que las variedades de algodón se someten durante el curso de un año de producción normal. Los resultados mostraron que no hay diferencia entre las plantas de la reivindicación 1 y la principal línea de algodón no transformada para germinación de semillas, dominación de semillas, vigor de las plántulas, rendimiento, morfología de la planta o calidad de la fibra.

También declaro que todas las declaraciones hechas en el presente documento de información y las creencias se creen que son verdad.

22 de junio de 2010
Fecha

(Firma ilegible)
Jonathan Holloway