

Pedro Castillo Pineda & Asociados
ABOGADOS

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-126241- -00010-0000

Fecha: 2014-08-11 16:25:48 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 6

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

División de Nuevas Creaciones

E. S. D.

Ref: EXPEDIENTE No.10-126241

Solicitud de Patente a nombre de **ALLERGAN INC.**

En atención a la reunión sostenida con la Dra. Lina Maria Lizaraso, examinadora en esta solicitud de patente, me permito presentar el pliego de las reivindicaciones debidamente foliadas, debido a que el presentado con mi memorial del 04 de Julio del año en curso no lo fue en debida forma.

Atentamente,

JERONIMO CASTILLO BONILLA
C.C. 79.462.057 Bogotá
T.P. 104167 C.S. Judicatura

Reivindicaciones Modificadas.

1. Un método de detectar actividad BoNT/A, método que comprende los pasos de:

a. Poner en contacto células de una línea celular establecida con una muestra que contiene una BoNT/A, en donde las células de la línea celular establecida son susceptibles a intoxicación BoNT/A en 500 pM o menos de una BoNT/A.

b. aislar de las células tratadas un componente SNAP-25 que incluye un producto de escisión SNAP-25 que tiene una glutamina carboxilo terminal en el enlace escindible del sitio de corte de BoNT/A y en donde el producto de escisión SNAP-25 es SNAP-25₁₉₇;

c. contactar el componente SNAP-25₁₉₇ con un anticuerpo anti-SNAP-25 fijado a un soporte de fase sólida,

en donde el anticuerpo a-SNAP-25 une un epítipo que comprende una glutamina carboxilo terminal en el enlace escindible del sitio de corte BoNT/A de un producto de escisión de SNAP-25, y el anticuerpo a-SNAP-25 tiene una constante de velocidad de asociación para un epítipo de una SNAP-25 que no incluye una glutamina de término carboxilo del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A de un producto de escisión SNAP-25 de menos de $1 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$; Y el anticuerpo a-SNAP-25 tiene una constante de disociación en equilibrio para el epítipo de menos de 0.450 nM;

d. detectar la presencia de un complejo anticuerpo-antígeno que incluye el anticuerpo a-SNAP-25 y el producto de escisión SNAP-25₁₉₇ que tiene una glutamina carboxilo terminal del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A;

en donde la detección por el complejo anticuerpo-antígeno es indicativa de actividad BoNT/A.

2. El método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:
 - a. Una región variable de cadena pesada que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 95, SEQ 10 NO: 99, SEQ 10 NO: 101.
 - b. Una región variable de cadena ligera que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 103, SEQ 10 NO:108, SEQ 10 NO: 113.
3. El método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:
 - a. Una región variable de cadena pesada que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 93, SEQ 10 NO: 96, SEQ 10 NO: 100
 - b. Una región variable de cadena ligera que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 105, SEQ 10 NO:110, SEQ 10 NO: 115.
4. El método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:
 - a. Una región variable de cadena pesada que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 94, SEQ 10 NO: 98, SEQ 10 NO: 102
 - b. Una región variable de cadena ligera que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 106, SEQ 10 NO: 111, SEQ 10 NO: 116.
5. El método de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo comprende:

- 4
- a. Una región variable de cadena pesada que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 93, SEQ 10 NO: 97, SEQ 10 NO: 100
 - b. Una región variable de cadena ligera que incluye las CDRs: SEQ ID NO: 106, SEQ 10 NO: 111, SEQ 10 NO: 116.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la presencia de un complejo anticuerpo-antígeno se detecta usando un ELISA sándwich.
 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la muestra comprende como máximo 100 pM de una BoNT/A
 8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la célula de una línea celular establecida es susceptible a intoxicación BoNT/A en 100 pM o menos de una BoNT/A.
 9. Un método in-vitro de determinar inmuno-resistencia a BoNT/A en un mamífero que comprende los pasos de:
 - a. agregar una BoNT/A a una muestra de prueba obtenida de un mamífero que se está examinando en cuanto a la presencia o ausencia de anticuerpos neutralizantes a-BoNT/A;
 - b. tratar una célula de una línea celular establecida con la muestra de prueba en donde la célula de una línea celular establecida es susceptible a intoxicación BoNT/A, y donde dicha línea celular es seleccionada del grupo que consiste de la línea celular SIMa, Neuro-2a, N18, LA1-55n, PC12 y SH-SY5Y,

- c. aislar de las células tratadas un componente SNAP-25 que incluye un producto de escisión SNAP-25 que tiene una glutamina de término carboxilo del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A; y en donde el producto de escisión SNAP-25 es SNAP-25₁₉₇;
- d. contactar el componente SNAP-25₁₉₇ con un anticuerpo a-SNAP-25 fijado a un soporte de fase sólida,
- en donde el anticuerpo a-SNAP-25 une un epítipo que incluye una glutamina de término carboxilo del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A de un producto de escisión SNAP-25, el anticuerpo a-SNAP-25 tiene una constante de velocidad de asociación para un epítipo de una SNAP-25 que no incluye una glutamina de término carboxilo del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A de un producto de escisión SNAP-25 de menos de $1 \times 10^1 \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$; y el anticuerpo a-SNAP-25 tiene una constante de disociación de equilibrio para el epítipo de menos de 0.450 nM;
- e. detectar la presencia de un complejo anticuerpo-antígeno que incluye el anticuerpo a-SNAP-25 y el producto de escisión SNAP-25₁₉₇ que tiene una glutamina de termino carboxilo del enlace escindible del sitio de corte BoNT/A;
- f. repetir los pasos b-e con una muestra de control negativo en lugar de una muestra de prueba, comprendiendo la muestra de control negativo una BoNT/A y un suero conocido por no contener anticuerpos a-BoNT/A neutralizantes; y
- g. comparar la cantidad del complejo anticuerpo-antígeno detectado en el paso e con la cantidad del complejo anticuerpo-antígeno detectado en el paso f,

b

en donde la detección de una cantidad inferior del complejo anticuerpo-antígeno detectado en el paso e, relativa a la cantidad del complejo anticuerpo-antígeno detectado en paso f es indicativa de la presencia anticuerpos a-BoNT/A neutralizantes.

0