

HUMBERTO RUBIO & CIA.

ABOGADOS

Cra. 7 # 74 – 64 Oficina 506
Tel: (571) 3132408 – 3132423 - 3132410 - 3131759
Fax: (571) 3131647 - 3132367
E-mail: mail@rubiolawyers.com

Apartado Aéreo
Bogotá, D.C. -C

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-053413- -00003-0000

Fecha: 2013-08-05 13:40:17 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 9

Doctor

JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ

Director de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

REF: Expediente No. **11-053413**
Patente de Invención: **"PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES A PARTIR DE LA FRACCIÓN MONONUCLEAR DE LA MÉDULA ÓSEA HUMANA"**
Solicitud Internacional No. **PCT/ES2009/000547**
Clasificación Internacional: **C12N 5/775**
Titular: **BANC DE SANG I TEIXITS**

RESPUESTA A REQUERIMIENTO

OFICIO No. 8327 NOTIFICADO POR FIJACION EN LISTA DE 14 DE MAYO DE 2013

HUMBERTO RUBIO CAMACHO, mayor de edad, domiciliado en Bogotá, D.C., identificado con la cédula de ciudadanía número 17'192.062 de Bogotá, abogado graduado portador de la Tarjeta Profesional No. 50.007 expedida por el Consejo Superior de la Judicatura, actuando en carácter de Apoderado de **BANC DE SANG I TEIXITS**, domiciliado en Passeig Taulat, 116 Barcelona 08005, España; encontrándome dentro de la debida oportunidad procesal para dar respuesta al auto proferido por su Despacho, mediante Oficio 8327, notificado por fijación en lista de 14 de Mayo de 2013, me permito:

Manifestar:

I. **En el informe emitido sobre la presente invención, se han formulado las objeciones que a continuación resumimos:**

1. **De la solicitud de patente**

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las reivindicaciones 4 a 9 carecen de concisión, por cuanto:

1) La reivindicaciones 4, 5, 8 y 9 están expresadas en términos de resultados a alcanzar (número de células por centímetro cuadrado de superficie y número de duplicaciones celulares) y no definen al procedimiento, puesto que la reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Se sugiere caracterizar el procedimiento según las características esenciales y las condiciones específicas, adicionales a las ya descritas en la reivindicación 1, en las que se tuviera que llevar a cabo el procedimiento para obtener dichos resultados;

U

2) No se debe caracterizar el procedimiento solamente por sus parámetros pues estos no definen inequívocamente la invención y forman parte de las ventajas que deben divulgarse en la memoria descriptiva pero no se pueden incluir dentro del capítulo reivindicatorio. Las reivindicaciones 6 y 7 están expresadas en términos de un parámetro (pureza de las células madre mesenquimales). El solicitante debe incluir en la reivindicación el método para medir los valores de dicho parámetro en lugar del resultado a alcanzar;

3) Según la descripción, la invención está caracterizada por la obtención de células madre mesenquimales (CMM) cuya especificidad fue determinada por medio de un perfil inmunofenotípico de marcadores de expresión asociados a CMM y por su capacidad multipotencial, pero estas características no están mencionadas en las reivindicaciones. Se sugiere corregir esta inconsistencia entre la descripción y las reivindicaciones e incluir estas características esenciales en las reivindicaciones.

4) Características esenciales del cultivo descritas en la descripción no están expresadas en las reivindicaciones (relación área de cultivo/volumen de medio). Se sugiere corregir esta inconsistencia entre la descripción y las reivindicaciones incluyendo todas las características esenciales que definen el procedimiento reclamado en la reivindicación 1.

Descripción (Art 28 literal e D 486)

Según el artículo citado, la descripción deberá divulgar la invención de manera suficientemente clara y completa para su comprensión, divulgando un capítulo descriptivo de la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención, utilizando ejemplos y referencias a los dibujos, de ser éstos pertinentes.

En este sentido, la descripción carece de suficiencia pues hace referencia a características que definen el producto que se puede obtener tras la ejecución del procedimiento reclamado en la invención, sin explicar de forma clara y completa las técnicas y métodos empleados para lograr los resultados presentados (Fl. 28), esto incluye:

- 1) La determinación de pureza de las células madre mesenquimales obtenidas por medio de la elaboración de un perfil inmunofenotípico, sin explicar la técnica o método usado, y
- 2) la demostración del potencial de diferenciación hacia linaje óseo y adiposo, sin describir la forma en que dicha diferenciación fue inducida.

Estos métodos constituyen parte esencial de la invención y deberían ser detallados suficientemente para delimitar la materia que se quiere proteger y asegurar que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda reproducirla.

Se requiere al solicitante hacer las modificaciones necesarias sin que esto se constituya en una ampliación de la materia inicialmente presentada.

2. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: Enero 2 de 2009, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

2

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1 ¹	Le Blanc <i>et al.</i> 2007	"Generation of Immunosuppressive Mesenchymal Stem Cells in Allogeneic Human Serum"	27 de Octubre de 2007
D2 ²	Jarocho <i>et al.</i> 2008	"Adventage of mesenchymal stem cells (MSC) expansion directly from purified bone marrow	2008

3. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en un "procedimiento para la obtención de células madre mesenquimales a partir de la fracción mononuclear de médula ósea humana obtenida mediante centrifugación en gradiente de densidad, caracterizado porque comprende las etapas de: a) Recuperación y pre expansión de las células madre mesenquimales, mediante un cultivo primario (...)" (Fl. 30-31).

Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque en conjunto divulgan métodos para la obtención de células madre mesenquimales a partir de la fracción de células mononucleares de la médula ósea humana (D1 Pág. 1055; D2 Págs. 307-308).

Características esenciales	D1	D2
Obtención de CMM a partir de la fracción mononuclear de médula ósea humana mediante centrifugación en gradiente de densidad	Obtención de CMM a partir de la centrifugación de la fracción mononuclear de médula ósea humana (Pág. 1055)	Colecta de CMM a partir de la fracción de células mononucleares de médula ósea aisladas mediante centrifugación de densidad (Pág. 308)
Cultivo primario que se siembra en medio de cultivo DMEN	Medio de cultivo DMEN-LG (Pág. 1055)	Cultivo de células en medio DMEN (Pág. 308)
Suplementado con suero AB humano (10%)	suplementado con 10% suero AB (Pág. 1055)	Suplementado con 10% FBS (Pág. 308)
Recambio del cultivo a los 9 días	No menciona	Recambio del cultivo a los 7 días (Pág. 308)
Tripsinización del cultivo primario a los 12 días	Tripsinización de células a los 13 días (Pág. 1056 Fig. 1)	Tripsinización de células adherentes al alcanzar confluencia del cultivo (Pág. 308)
Cultivo secundario a partir de resiembra de cultivo primario	Se realizaron hasta 9 pases	resiembra de células a partir de células aisladas del cultivo primario (Pág. 308)
Cultivo de expansión de las células aisladas por tripsinización	No menciona	Resiembra de células a partir de células aisladas por tripsinización luego de confluencia (Pág. 308)
Recuperación de células madre para almacenarlas congeladas en nitrógeno.	No menciona	Al finalizar segundo pase las células fueron criopreservadas luego de alcanzar confluencia (Pág. 308)

La característica esencial de la reivindicación 1 había sido previamente divulgada en el documento D2, el cual considera un procedimiento para la obtención de células madre mesenquimales (CMM) a partir de la fracción de células mononucleares de médula ósea humana aisladas mediante centrifugación de densidad (Pág. 308).

La diferencia entre el procedimiento del documento D2 y la materia reclamada en la reivindicación 1 de la solicitud es que esta última, reclama la suplementación del medio de cultivo con 10% de suero AB humano y tiempos de recambio y tripsinización del cultivo específicos a los días 9 y 12, respectivamente.

El efecto que produce tal diferencia no es evidente, puesto que no hay datos comparativos presentados en la descripción que sustenten un efecto sorprendente de la inclusión de dichas características.

Sin embargo, el uso del suero AB humano había sido usado previamente en el documento D1 demostrando que el suero AB humano acelera la proliferación de CMM comparado con el uso de suero fetal. Cultivos de CMM con suero AB humano al 10% resultaron en un mayor incremento de células, comparado con el uso del 10% de

suero fetal, además de lograr la reducción del número de duplicaciones celulares (Págs.1055-1056 Figura 1). En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría 10% de suero AB humano, descrito en el documento D1, para suplementar el medio de cultivo de CMM en el procedimiento divulgado en el documento D2 y llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Del mismo modo, es conocido en el estado de la técnica que modificaciones en las condiciones de cultivo puede resultar en variaciones de los tiempos de proliferación de las CMM (D1:Pág. 309, D2: Pág. 1056 Fig. 1), así que la persona medianamente versada en la materia podría variar los tiempos de recambio y tripsinización del cultivo con el fin de obtener los resultados descritos en la invención tras suplementar el cultivo con el suero AB humano.

Teniendo en cuenta lo anterior, la invención reclamada se considera obvia.

Se concluye que la reivindicación 1 no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art.18 D486).

Las reivindicaciones dependientes no adicionan características nuevas, por lo tanto tampoco cumplen con el requisito de nivel inventivo (Art. 18 D486).

Aplicación industrial (Art 19 D 486)

Se considerará que una invención es susceptible de aplicación industrial, cuando su objeto pueda ser reproducido o utilizado en cualquier tipo de industria. En ese sentido, las reivindicaciones 6 y 7 de la presente solicitud carecen de aplicación industrial puesto que no incluye con claridad todos los pasos y métodos para que una persona medianamente versada en la materia pueda reproducirlo.

4. Conclusión:

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Le Blanc <i>et al.</i> 2007	1-11	Nivel inventivo
D2	Jarocho <i>et al.</i> 2008	1-11	Nivel inventivo

II.- En contestación a las observaciones anteriores, manifestamos lo siguiente:

El informe del examen de patentabilidad plantea que las reivindicaciones 4 a 9 carecen de concisión, debido a que las reivindicaciones 4, 5, 8 y 9 están expresadas en términos de resultados a alcanzar (número de células por centímetro cuadrado de superficie y número de duplicaciones celulares) y no definen al procedimiento, de manera que la reivindicación incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado.

Entendemos esta objeción, y con el fin de superarla, las reivindicaciones originales objetadas 4, 5, 8 y 9 se han eliminado del nuevo capítulo reivindicatorio que se adjunta a esta respuesta, dejando solamente en el mismo aquellas reivindicaciones que están relacionadas con las etapas y condiciones esenciales del procedimiento reivindicado, incluyendo la relación área de cultivo/volumen de medio empleados en el mismo.

Con respecto a la observación de que no se debe caracterizar el procedimiento reivindicado de acuerdo a sus parámetros, particularmente referida a las reivindicaciones 6 y 7, igualmente encontramos la misma procedente, por lo que en

correspondencia, estas reivindicaciones también se han eliminado del capítulo reivindicatorio original.

En cuanto a la objeción de que las características que se mencionan en la descripción, relativas al método mediante el cual se determinó la especificidad de las células madre mesenquimales (CMM) por medio de un perfil inmunofenotípico de marcadores de expresión asociados a CMM y por su capacidad multipotencial, las cuales no aparecen reivindicadas y esto produciría inconsistencia entre la descripción y las reivindicaciones, respetuosamente discrepamos de la misma, pues el examinador debe comprender que estos ensayos no forman parte de la invención, la cual consiste en un procedimiento para la obtención de células madre mesenquimales a partir de la fracción mononuclear de médula ósea humana, no para su caracterización. La caracterización de las células madres obtenidas por el procedimiento reivindicado son técnicas rutinarias que un experto en este campo técnico debe conocer, y que en ningún modo constituyen características esenciales de la invención.

Adicionalmente debe comprenderse que no todo lo que aparece en la descripción es reivindicable, solo aquellos aspectos novedosos e inventivos que se consideren características técnicas esenciales para resolver el problema técnico en cuestión, es materia reivindicable en una invención. En consecuencia, la objeción anterior es improcedente y respetuosamente solicitamos que se retire.

Descripción (Art 28 literal e D 486)

En lo referente a la objeción de que la descripción carece de suficiencia, pues no se explica de forma clara y completa las técnicas y métodos empleados para lograr los resultados presentados, particularmente la determinación de la pureza de las células madre mesenquimales obtenidas sin explicar la técnica o método usado, y la demostración del potencial de diferenciación hacia linaje óseo y adiposo, sin describir la forma en que dichos análisis se realizan, considerándose por parte del examinador dichos métodos como parte esencial de la invención, nuevamente consideramos que esta opinión no es correcta, ya que los métodos referidos son técnicas complementarias que forman parte del estado de la técnica y fácilmente accesibles para cualquier experto en este campo. En todo caso no es necesario describirlas detalladamente, pues no forman parte de la esencia de la invención, sino que con una simple referencia a donde dichas técnicas aparecen publicadas, ya debería ser suficiente para poder ejecutar estos métodos. Por lo tanto, el examinador debería considerar las publicaciones que aparecen como antecedentes de la invención en la memoria descriptiva, donde podrá encontrar la información que solicita.

Por otra parte, y contrario hacia donde ha focalizado el examinador su análisis, el método reivindicado de obtención de células madre mesenquimales a partir de la fracción mononuclear de médula ósea humana, sí se ha descrito en detalles en la descripción, permitiendo a una persona con conocimientos ordinarios en el arte poder ejecutar y usar la invención. Por lo tanto, esta objeción de insuficiencia de descripción de la invención no es procedente y respetuosamente consideramos que la misma debe retirarse.

3. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art18 D486)

8

5

En el análisis de patentabilidad, el examinador concluye que las reivindicaciones originales 1-11 no son inventivas en vista de los documentos de la técnica anterior previamente mencionados, D1 y D2.

Al respecto aclaramos lo siguiente:

- Análisis del documento D2 (Jarocho, D. *et al.*)

Este documento, que se puede considerar el análogo más cercano a la presente invención, da a conocer 4 métodos de pre-tratamiento de las muestras de médula ósea y su influencia en el posterior cultivo y crecimiento de las células madre mesenquimales (ver página 308, 1a columna, 3r párrafo). Dichos 4 métodos se basan en (ver página 309, figura 1):

- Gradiente de Ficoll y cultivo directo. Esta opción sería la equivalente a la utilizada en la solicitud de patente bajo análisis.
- Gradiente de Ficoll y enriquecimiento de las células madre mesenquimales mediante el marcador CD105.
- Gradiente de Ficoll y enriquecimiento de las células madre mesenquimales mediante el marcador CD271.
- Inmunoselección negativa utilizando "Rossette Step", gradiente de ficoll y cultivo.

El documento D2 muestra que los métodos que permitirían obtener una mayor proliferación y un mayor número de células en un menor tiempo serían los métodos 2 y 3 (es decir, el enriquecimiento mediante el marcador CD105 y CD271, respectivamente) (ver página 311, 2da columna, último párrafo). Además, se indica que los cultivos obtenidos de acuerdo con el primer método, presentan mayor contaminación por células hematopoiéticas, y que en algunos casos se observa como células redondas contaminantes se unen a las células madre mesenquimales, dificultando e incluso deteniendo el crecimiento de las mismas (ver página 312, 1ª columna; y página 312, 2da columna, 1er párrafo).

Estas afirmaciones, en opinión del solicitante, alejarían al experto en la materia de realizar la presente invención, dado que al combinar D1 con D2 a la vista de los resultados incluidos en el documento D2, un experto en la materia se inclinaría a realizar el 2do o 3er métodos de pre-tratamiento, es decir, enriquecer la muestra inicial mediante CD105 o CD271.

Además, en relación al procedimiento de cultivo, D2 indica que las células pre-tratadas por cualquiera de los métodos mencionados y cultivadas, se dejan 7 días y entonces la mitad del volumen de medio se cambia y a partir de entonces, se cambia medio volumen de medio cada semana (ver página 308, 2da columna, sección "Culture of BM MSCs").

Este procedimiento es completamente diferente del reivindicado en la presente solicitud, que comprende un lavado de las células mononucleares a los 5 días con solución salina y se añade medio de cultivo suplementado con 10% de suero humano AB y el siguiente cambio se realiza a los 9 días de inicio del cultivo. Es decir, el procedimiento de la presente invención comprende una etapa adicional de lavado y el hecho de que el recambio de medio se realice en un periodo más corto, contribuye al efecto técnico observado de mayor y más rápido crecimiento celular.

También, es importante destacar que D2 en ningún momento menciona la posibilidad de realizar un cultivo secundario que sirva como copia de seguridad del cultivo primario, utilizando el medio de cultivo lavado que contiene las células no fijadas en la placa del cultivo primario. En este sentido, dado que D1 tampoco contempla dicha opción, el procedimiento debería considerarse inventivo.

7

Finalmente, las densidades celulares de cultivo con que se trabaja en D2 también son diferentes de las utilizadas en la solicitud de patente de referencia:

- Método de pre-tratamiento 1: 680000 células por centímetro cuadrado. Tal y como se ha mencionado anteriormente, este sería el método equivalente y en el cultivo primario de la patente bajo análisis se utilizan de 200000 a 400000 células por centímetro cuadrado (ver reivindicación 2 de la solicitud originalmente presentada).
- Método de pre-tratamiento 2: 11600 células por centímetro cuadrado.
- Método de pre-tratamiento 3: 8800 células por centímetro cuadrado.
- Método de pre-tratamiento 4: 96000 células por centímetro cuadrado.

En relación al cultivo secundario incluido en el procedimiento de la presente invención, se cultivan de 3000 a 5000 células por centímetro cuadrado, es decir, valores muy inferiores a los mostrados en el documento D2 (ver reivindicación 3 de la solicitud originalmente presentada).

Dadas las numerosas diferencias mencionadas entre D2 y la presente invención, ninguna de las cuales el documento D1 anticipa ni sugiere, respetuosamente consideramos que la presente invención involucra un paso inventivo a la vista de ambos documentos de la técnica anterior citados por el examinador, ya sea considerándose ambos por separado o en combinación.

De manera atenta solicito a su Despacho, tener en cuenta todos y cada una de las consideraciones expuestas anteriormente, al momento de estudiar el presente caso.

Por lo anteriormente expuesto consideramos que la presente solicitud es novedosa y tiene nivel inventivo, las reivindicaciones definen la materia que se desea proteger siendo claras, concisas y debidamente sustentadas en la descripción y no está comprendida en el estado de la técnica, conforme lo establece el Art. 14, 16 y 30 de la Decisión 486.

III. Anexo:

- i. Nuevo capítulo reivindicatorio.

IV. Petición:

Conforme a lo anterior, una vez atendidos los requerimientos y exigencias del examinador y al tener en cuenta el capítulo reivindicatorio modificado que se presenta con la presente contestación, solicito muy respetuosamente a su Despacho, continuar el trámite de rigor y de ser el caso se hagan las correspondientes observaciones con el ánimo de hacer lo pertinente dentro del presente trámite.

Atentamente,



HUMBERTO RUBIO CAMACHO

C.C. 17'192.062 de Bogotá

**T.P. 50.007 Consejo Superior
de la Judicatura**

COD. 4134

7

REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento para la obtención de células madre mesenquimales a partir de la fracción mononuclear de médula ósea humana obtenida mediante centrifugación en gradiente de densidad, caracterizado porque comprende las etapas de:

a) recuperación y pre expansión de las células madre mesenquimales mediante un cultivo primario, en el que las células mononucleares de médula ósea se siembran en un medio suplementado con suero AB humano siguiendo el siguiente esquema de cultivo:

i. las células mononucleares del cultivo se lavan en el día 5 con solución salina y se añade medio de cultivo suplementado con suero humano AB;

ii. se recambia el medio de cultivo a los 9 días por el mismo medio anteriormente mencionado;

iii. se realiza una tripsinización del cultivo primario a los 12 días, generándose de esta forma el cultivo de expansión (c);

b) cultivo secundario: resiembra de las células mononucleares lavadas en la etapa (a) en medio de cultivo suplementado con suero AB humano siguiendo el siguiente esquema de cultivo:

iv. el cultivo se lava en el día 5 con solución salina y se añade medio de cultivo suplementado con suero humano AB;

v. se recambia el medio de cultivo por el mismo medio anteriormente mencionado el día 9;

vi. se realiza una tripsinización del cultivo primario a los 12 días, a partir del cual se recuperan las células madre mesenquimales las cuales se congelan y almacenan;

c) cultivo de expansión: expansión de las células mesenquimales aisladas en la etapa (a) a los 12 días, las cuales se resiembran y expanden en medio de cultivo suplementado con suero AB humano siguiendo el siguiente esquema de cultivo:

vii. se recambia el medio de cultivo a los 3 y 6 días por el mismo medio anteriormente mencionado;

viii. se realiza una tripsinización del cultivo primario a

los 12 días, quedando así las células acondicionadas para su utilización.

2.- El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la cantidad de células mononucleares de médula ósea inoculadas en la etapa (a) es de entre 200 000 y 400 000 células por centímetro cuadrado de superficie.

3.- El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la cantidad de células madre mesenquimales inoculadas en la etapa (b) es de entre 3 000 y 5 000 células por centímetro cuadrado de superficie.

4. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que el medio de cultivo utilizado, tanto en el cultivo primario como en el secundario (etapa b), es Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) con un suplemento de suero AB humano al 10% (v/v).

5. El procedimiento según la reivindicación 4, en el que el medio de cultivo se utiliza con una relación área de cultivo/volumen de medio de 3/1.

6.- Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el cultivo secundario (etapa (b)) se congela y se mantiene como copia de seguridad.