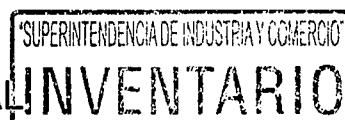


Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL



División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

11-108508

54. TÍTULO

SONDAS DE OLIGONUCLEOTIDOS Y CEBADORES PARA LA
DETECCION DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

BIGTEC PRIVATE LIMITED

DOMICILIO

BANGALORE, KARNATAKA, INDIA

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,

Cm
17-09-2011

(FORMA P-10)

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-108508- -00000-0000

Fecha: 2011-08-25 12:29:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 58

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

1 SOLICITUD DE:		
☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad. ☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.		
2 SOLICITANTE (71)	Nombre: BIGTEC PRIVATE LIMITED Sociedad constituida y existente bajo las leyes de India. Dirección: II Floor, SID Entrepreneurship Bulding, Indian Institute of Science [IISc] Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India Domicilio: Bangalore, Karnataka, India	IDENTIFICACIÓN C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Qual _____ Número _____
3 REPRESENTANTE O APODERADO	Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35 Teléfono: 347 36 11 Fax: 211 86 50 E-mail: clientes@cavelier.com Domicilio: Bogotá, Colombia.	IDENTIFICACIÓN C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Qual _____ Número <u>35.458.344</u> T.P <u>23.555</u>
4 INVENTOR (ES) (72)	1. Manjula JAGANNATH Bigtec Private Limited, II Floor, SID Entrepreneurship Bulding, Indian Institute of Science [IISc] Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India 2. Chandrasekhar Bhaskaran NAIR Bigtec Private Limited, II Floor, SID Entrepreneurship Bulding, Indian Institute of Science [IISc] Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India 3. Pillarisetti Venkata SUBBARAO Bigtec Private Limited, II Floor, SID Entrepreneurship Bulding, Indian Institute of Science [IISc] Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India	
5 PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/IN2010/000048</u> Fecha: <u>27 de enero de 2010</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2010/092595 A3</u> Fecha: <u>19 de agosto de 2010</u>		
6 Título (54) <u>SONDAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS Y CEBADORES PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B</u>		

7

Clasificación Internacional (51) C12Q 001/068

8

PrioridadSI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

IN

(32) Fecha

13 de febrero de 2009

(31) Número de Solicitud

00314/CHE/2009

9

Comprobante de pago No.: 11-0078912**Fecha: 16 de agosto de 2011****Comprobante de pago No.: 11-0078922****Fecha: 02 de agosto de 2011**

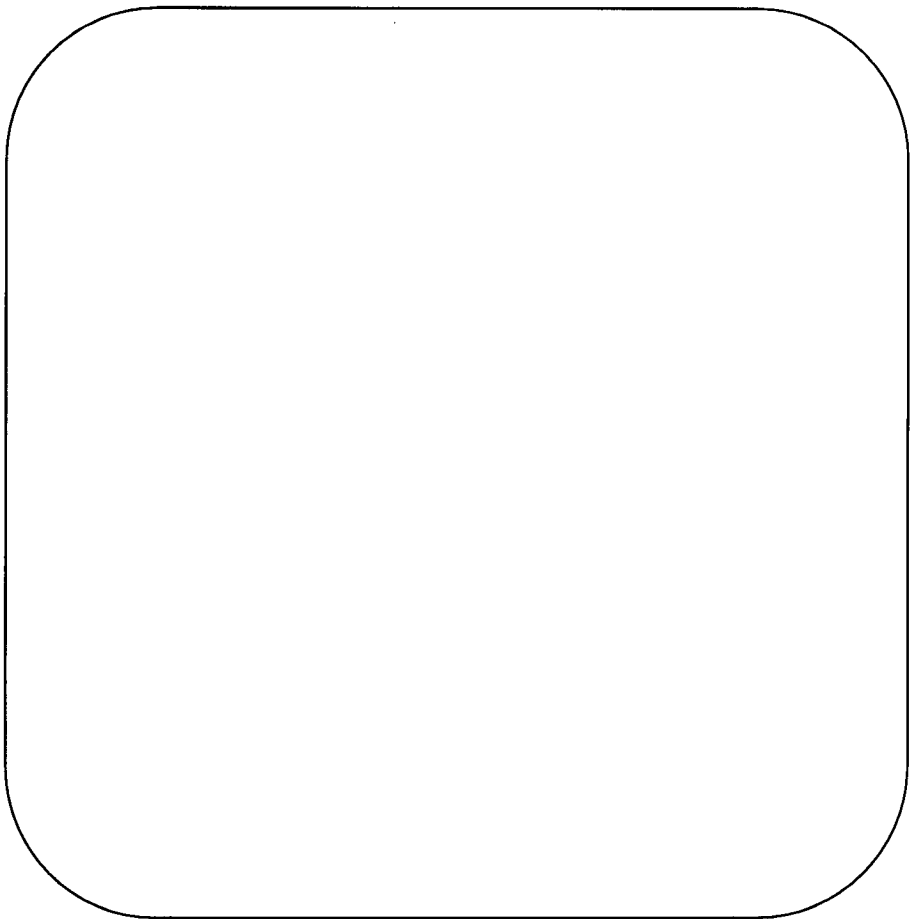
10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 571.000.00.
- ☒ Comprobante de pago por 12 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$324.000.00.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poder de la sociedad **BIGTEC PRIVATE LIMITED**.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2010/092595 A3.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☐ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia de Paez
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

max

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2010/092595 A3

Descripción:

Páginas 15 en español

Reivindicaciones: Número (s) 22

Figuras: Número (s) 6

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Listado de Secuencias

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**

Notaría
Sexta

6

DEL CIRCULO DE BOGOTÁ, D.C.

COPIA NUMERO 4

DE LA ESCRITURA NUMERO: 4108
FECHA: 06/Agosto/2010

ACTO O CONTRATO:
PODER ESPECIAL
OTORGANTES:
CAVELIER ABOGADOS
LUZ CLEMENCIA DE PAEZ



CERTIFICADO SC 3980-1
PRESTACION DEL
SERVICIO PUBLICO
NOTARIAL
ISO 9001:2000
NTC-ISO 9001:2000



AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA SEXTA

CARRERA 9 No. 69-31 - PBX: 317 01 00 - FAX: 314 56 41
Correo Electrónico: notariasexta@etb.net.co



ESCRITURA PUBLICA NUMERO 4108

CUATRO MIL CIENTO OCHO

DE FECHA: SEIS (06) DE AGOSTO DEL AÑO DOS MIL DIEZ (2010)

OTORGADA EN LA NOTARIA SEXTA (6ª.) DEL
CÍRCULO NOTARIAL DE BOGOTÁ, D.C.

ACTO: PODER

PODERDANTE: CAVELIER ABOGADOS Nit. 860.041.367-3

APODERADOS:

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ C.C. 35.456.344

NIDIA OSORIO LOPEZ C.C. 39.787.682

OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA C.C. 79.524.634

EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY C.C. 52.006.265

JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL C.C. 16.209.380

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, República de Colombia, ante mí AMPARO
QUINTERO ARTURO Notaria(o) Sexta(o) (6) de este Círculo
Notarial, se otorgó la escritura pública que se consigna en los siguientes
términos:

Compareció: con minuta escrita la señora ADRIANA ZAPATA GIRALDO, mayor
de edad, vecina de esta ciudad, casada, identificada con la cédula de ciudadanía
No. 51.680.061 de Bogotá, y dijo:

ESTIPULACIONES

PRIMERA: Que obra en su calidad de Representante Legal de la sociedad
denominada CAVELIER ABOGADOS domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35,
Bogotá, Colombia.

SEGUNDA: Que BIGTEC PRIVATE LIMITED, sociedad constituida y existente
bajo las leyes de India, domiciliada en II Floor, SID Entrepreneurship Building,
IISC Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India, designó a
CAVELIER ABOGADOS como su representante para la Propiedad Industrial en
Colombia con facultades de nombrar apoderados tal como consta en la copia
auténtica del documento de representación que se protocoliza.

TERCERA: Que en su carácter de representante legal de CAVELIER
ABOGADOS, y en desarrollo de la facultad otorgada por BIGTEC PRIVATE
LIMITED, confiere poder a los abogados LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, T.P.A. No.



23.555, identificada con cédula de ciudadanía número **35.456.344** de Usaquen, **NIDIA OSORIO LOPEZ**, T.P.A. No.73.366, identificada con cédula de ciudadanía número **39.787.682** de Bogotá, **OSCAR FERNANDO CORREA BARBOSA**, T.P.A. No. 71.027 identificado con cédula de ciudadanía número **79.524.634** de Bogotá, **EDNA DARMELY SARMIENTO CHARRY**, T.P.A. 65.794 identificada con cédula de ciudadanía número **52.006.265** de Bogotá y **JORGE CHAVARRO ARISTIZABAL**, T.P.A. No. 40.119, identificado con cédula de ciudadanía número **16.209.380** de Cartago (Valle), mayores de edad, vecinos de Bogotá, para que representen a la sociedad a cuyo nombre actúa, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, incluyendo las del orden administrativo, contencioso administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: -----

a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, diseños industriales, trazado de circuitos integrados, secretos industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales, denominaciones de origen e indicaciones de procedencia, su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos -----

b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones, cancelación administrativa o judicial, nulidad, medidas cautelares, acción por infracción, concesión de licencias, la protección de secretos industriales y de nombres de dominio junto con su administración y pago; acciones populares, de tutela y de cumplimiento; y en general los procesos civiles, penales, administrativos o contencioso administrativos, de conciliación, arbitramento, tutela relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. -----

CUARTO: Que los apoderados designados están facultados en todos los asuntos arriba determinados para sustituir este mandato, transigir, conciliar, arbitrar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y ratificar los actos de agentes oficiosos. -----

QUINTO: Que protocoliza con la presente escritura, un certificado expedido por la Cámara de Comercio de Bogotá, que acredita la constitución y personería de la sociedad **CAVELIER ABOGADOS**, igualmente protocoliza copia autenticada del



01



* 9 4 7 1 5 8 3 7 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010

HORA 16:09:43

FO28844095

PAGINA: 1 de 3

CERTIFICADO DE EXISTENCIA Y REPRESENTACION LEGAL O INSCRIPCION DE DOCUMENTOS

CERTIFICA:

NOMBRE : CAVELIER ABOGADOS

N.I.T. : 860041367-3

DOMICILIO : BOGOTA D.C.

CERTIFICA:

NO: 00820237

CERTIFICA:

CONSTITUCION : QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0006232 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE SEPTIEMBRE DE 1974 , INSCRITA EL 26 DE SEPTIEMBRE DE 1974 BAJO EL NUMERO 00031234 DEL LIBRO IX, SE CONSTITUYO LA SOCIEDAD CIVIL DENOMINADA: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER.

CERTIFICA :

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0001000 DE NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C. DEL 10 DE MARZO DE 1983 , INSCRITA EL 5 DE ABRIL DE 1983 BAJO EL NUMERO 00130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE : CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER. POR EL DE : CAVELIER ABOGADOS

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NUMERO 1.000 OTORGADA EN LA NOTARIA 6A. DE BOGOTA EL 10 DE MARZO DE 1.983, INSCRITA EN ESTA CAMARA DE COMERCIO EL 5 DE ABRIL DE 1.983 BAJO EL NUMERO 130769 DEL LIBRO IX, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NOMBRE DE: CAVELIER PERDOMO Y CAVELIER, POR EL DE: CAVELIER ABOGADOS, E INTRODUJO OTRAS REFORMAS.

CERTIFICA:

CERTIFICA

QUE POR E.P.NO. 2.034 DE LA NOTARIA 6 DE SANTAFE DE BOGOTA DEL 18 DE ABRIL DE 1.995, INSCRITA EL 27 DE ABRIL DE 1.995 BAJO EL NO. 5.937 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD TRASLADO SU DOMICILIO DE LA CIUDAD DE SANTAFE DE BOGOTA D.C. AL MUNICIPIO DE TABIO (CUNDINAMARCA).--.

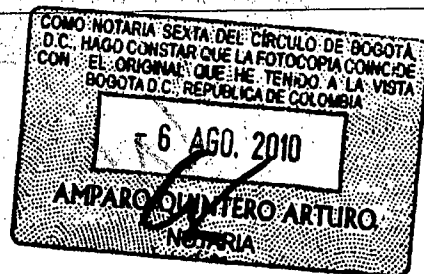
CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 7710 DE LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA DEL 10 DE OCTUBRE DE 1984, INSCRITA EL 15 DE NOVIEMBRE DE 1984 BAJO EL NO. 1559 DEL LIBRO XIII, LA SOCIEDAD CAMBIO SU NATURALEZA JURIDICA DE SOCIEDAD COMERCIAL A SOCIEDAD CIVIL.

CERTIFICA:

REFORMAS:

ESCRITURAS NO.	FECHA	NOTARIA	INSCRIPCION
842	10-V-1.977	18. ETA.	27-V-1.977-NO. 46.204
3.430	1-VII-1.980	6A. ETA.	3-IX-1.980-NO. 89.582
4.844	10-IX-1.980	6A. ETA.	8-X-1.980-NO. 91.261
432	10-II-1.983	6A. ETA.	1-III-1.983-NO.129.337



7.710	10-X-1.984	6A. BTA.	15-XI-1.984-NO.	1.559
7.305	21-X-1.985	6A. BTA.	18-XI-1.985-NO.	1.906
2.567	29-IV-1.987	6A. BTA.	7-V- 1.987-NO.	2.386
4.278	3-VII-1.987	6A. BTA.	23-VII-1987 NO.	215.652
2.657	25- IV-1.988	6A. BTA.	19- V -1988-NO.	2,740
9.033	21-XII-1.990	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.786
25	3- I -1.991	6A. BTA.	10- I - 1991-NO.	3.787
1.608	8-III-1.991	6A. BTA.	14-III- 1991-NO.	3.841
2.155	2-IV- 1.991	6A. BTA.	8-IV - 1991-NO.	3.862
797	7-II -1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.882
1.739	14-III-1.991	6A. BTA.	7- V -1991-NO.	3.881
5.886	21-VIII-1.991	6A. BTA.	27-VIII-1991 NO.	4.019
8.596	4-XII -1.991	6A. BTA.	16-III -1992 NO.	4.430
1.494	10-III -1.992	6A. BTA.	19-III -1992 NO.	4.436
4.205	8 -VII -1.992	6A. BTA.	15-VII -1992 NO.	4.554
8.829	16-XII -1.992	6A. BTA.	24-XII -1992 NO.	4.819
12	5-I -1.993	6 STAFE BTA	13-I -1993 NO.	4.850
4.877	29-VI -1.993	6 STAFE BTA	7-VII -1993 NO.	5.065
5.216	12-VII -1.993	6 STAFE BTA	16-VII -1993 NO.	5.077
ACTA NO. 71	2-IX- 1.993	JUNTA DE SOCIOS	29-IX- 1993 NO.	5.174
2.034	18-IV- 1.995	6 STAFE BTA	27- IV -1995 NO.	5.937
2.227	25-IV-1.995	6 STAFE BTA	18-VIII-1.995 NO.	6.092
7.594	12-XII-1.995	6 STAFE BTA	19- XII-1.995 NO.	6.294
676	11- II-1.997	6 STAFE BTA	14- II -1.997 NO.	6.873

CERTIFICA:

REFORMAS:

E.P. NO.	FECHA	NOTARIA	CIUDAD	FECHA	NO. INSC.
0004506	1997/07/28	0006	BOGOTA D.C.	1997/09/02	00007115
0002103	1998/04/08	0006	BOGOTA D.C.	1998/04/21	00007426
0005326	1998/08/06	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/13	00007544
0005538	1998/08/14	0006	BOGOTA D.C.	1998/08/27	00007564
0007760	1998/11/10	0006	BOGOTA D.C.	1998/11/12	00007644
0006709	1997/11/04	0006	BOGOTA D.C.	2000/12/04	00008481
0003034	2003/05/30	0006	BOGOTA D.C.	2003/06/04	00882729
0003786	2004/07/16	0006	BOGOTA D.C.	2004/07/28	00009703
0001432	2005/03/18	0006	BOGOTA D.C.	2005/04/07	00009917
0004818	2005/08/22	0006	BOGOTA D.C.	2005/08/26	00010008
0005506	2007/07/17	0006	BOGOTA D.C.	2007/07/24	00010841
5453	2009/10/19	0006	BOGOTA D.C.	2009/10/21	00012243
1336	2010/03/16	0006	BOGOTA D.C.	2010/03/24	00012506

CERTIFICA:

VIGENCIA: QUE LA SOCIEDAD NO SE HALLA DISUELTA. DURACION HASTA EL 10 DE SEPTIEMBRE DE 2024 .

CERTIFICA:

OBJETO SOCIAL: LA SOCIEDAD TENDRA POR OBJETO : EL EJERCICIO DE LA ACTIVIDAD PROFESIONAL DE ABOGADOS. EN DESARROLLO DE ESTE OBJETO LA SOCIEDAD PODRA CONTRAER OBLIGACIONES Y CELEBRAR TODA CLASE DE ACTOS Y NEGOCIOS RELACIONADOS Y SUBORDINADOS AL MISMO. INDEMNIDAD, PRENDAMIENTO, HIPOTECA, MUTUO CON O SIN INTERES, MANDATO CIVIL Y COMERCIAL, Y SOCIEDAD, ASI COMO PARTICIPAR EN ASOCIACIONES CIENTIFICAS, GREMIALES O PROFESIONALES SIN ANIMO DE LURO.

CERTIFICA:
CAPITAL: \$10.000.00 DIVIDIDO EN 10,000.00 CUOTAS CON VALOR NOMINAL DE \$1.00 CADA UNA, DISTRIBUIDO ASI :
- SOCIO CAPITALISTA (S)



01



* 9 4 7 1 9 8 9 8 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010 HORA 16:09:43

RO28844095

PAGINA: 2 de 3

ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000003001722568
NO. CUOTAS: 8,800.00	VALOR: \$8,800.00
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
NO. CUOTAS: 1,200.00	VALOR: \$1,200.00
- SOCIO INDUSTRIAL (S)	
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA	C.C. 000000035456344
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
CHAVARRO JORGE	C.C. 000000016209380
NO. CUOTAS: 0.00	VALOR: \$0.00
TOTALES	
NO. CUOTAS: 10,000.00	VALOR: \$10,000.00

CERTIFICA:

QUE POR ESCRITURAS PUBLICAS NO. 001431 Y 001432 DEL 18 DE MARCO DE 2005 DE LA NOTARIA 06 DE BOGOTA D.C., INSCRITA EL 07 DE ABRIL DE 2005 BAJO EL NO. 0009913 Y 0009917, RESPECTIVAMENTE DEL LIBRO XIII, DE LAS MIL DOSCIENTAS (1200) PARTES DE INTERES SOCIAL RADICADAS EN CABEZA DE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER, SEISCIENTAS (600) PARTES ESTAN GRAVADAS O AFECTADAS EN PROPIEDAD FIDUCIARIA A FAVOR DE LAS SIGUIENTES PERSONAS : GERMAN CAVELIER FRANCO, ERNESTO CAVELIER FRANCO, JORGE CAVELIER FRANCO, INES CAVELIER FRANCO, GUILLERMO CAVELIER FRANCO, ELENA CAVELIER FRANCO, ALEJANDRO CAVELIER FRANCO, BEATRIS CAVELIER FRANCO, Y LUCIA CAVELIER FRANCO.

CERTIFICA:

REPRESENTACION LEGAL: EL REPRESENTANTE LEGAL ES EL DIRECTOR. EL SOCIO FUNDADOR GERMAN CAVELIER GAVIRIA TENDRA EL CARACTER DE PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO, PARTICIPARA POR DERECHO PROPIO EN EL CONSEJO SUPERIOR Y EN EL CONSEJO DIRECTIVO Y LLEVABA LA REPRESENTACION LEGAL DE LA SOCIEDAD CUANDO LO ESTIME PERTINENTE SIN LIMITACION ALGUNA. IGUAL PARTICIPACION Y ATRIBUCIONES TENDRA SU SUPLENTE AGNES GAUDEBERT DE CAVELIER CUANDO OCUPE EL CARGO, EN CASO DE FALTA ABSOLUTA DE GERMAN CAVELIER GAVIRIA. LOS SOCIOS COLECTIVOS ESTÁN AUTORIZADOS PARA EJERCER LA REPRESENTACIÓN DE LA SOCIEDAD EN CUALQUIER TIEMPO, SIN PERJUICIO DE LAS DELEGACIONES CONFERIDAS A LOS ORGANOS CREADOS POR LOS PRESENTES ESTATUTOS

CERTIFICA:

**** NOMBRAMIENTOS ****

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010003 DEL LIBRO XIII, FUE (PON) NOMBRADO (S):

NOMBRE

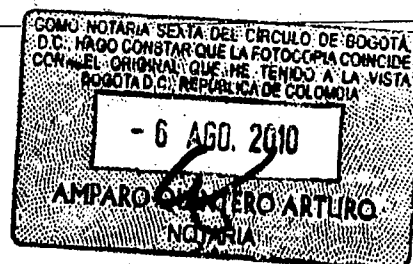
IDENTIFICACION

PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO

CAVELIER GAVIRIA GERMAN

C.C. 000000002877924

QUE POR ACTA NO. 26 DE ASAMBLEA GENERAL DEL 12 DE MAYO DE 2010, INSCRITA EL 24 DE MAYO DE 2010 BAJO EL NUMERO 00012618 DEL LIBRO XIII,



FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
DIRECTORA	
ZAPATA GIRALDO ADRIANA	C.C. 000000051680061
REPRESENTANTE LEGAL	
ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568
REPRESENTANTE LEGAL	
GALLON GIRALDO CARLOS	C.C. 000000019066425
REPRESENTANTE LEGAL	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100
SOCIO COLECTIVO	
ASOCIACION CAVELIER DEL DERECHO	N.I.T. 000008001722568

QUE POR ESCRITURA PUBLICA NO. 0004818 DE NOTARIA 6 DE BOGOTA D.C. DEL 22 DE AGOSTO DE 2005, INSCRITA EL 26 DE AGOSTO DE 2005 BAJO EL NUMERO 00010008 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
SUPLENTE DEL PRESIDENTE DIRECTOR VITALICIO	
GAUDEBERT DE CAVELIER AGNES JEANNE	C.E. 000000000131100

CERTIFICA:

QUE EL NOMBRAMIENTO DE GALLÓN GIRALDO CARLOS INSCRITO BAJO EL REGISTRO 00012618 DEL LIBRO XIII, SE DA EN SU CONDICIÓN DE REPRESENTANTE LEGAL DE LA ASOCIACIÓN CAVELIER DEL DERECHO.

CERTIFICA:

FACULTADES DEL REPRESENTANTE LEGAL: APARTE DE LAS FACULTADES Y DEBERES QUE DE TIEMPO EN TIEMPO SE LE ASIGNEN POR EL CONSEJO SUPERIOR, EL DIRECTOR TENDRA LAS SIGUIENTES FUNCIONES : A) LA DE REPRESENTAR LEGALMENTE A LA SOCIEDAD ANTE LAS AUTORIDADES DE CUALQUIER ORDEN O NATURALEZA Y ANTE OTRAS PERSONAS NATURALES O JURIDICAS, CON FACULTADES PARA NOVAR, TRANSIGIR, COMPROMETER Y DESISTIR Y PARA COMPARECER EN JUICIOS INCLUSIVE EN AQUELLOS EN DONDE SE DISPUTE LA PROPIEDAD DE BIENES INMUEBLES; B) CUMPLIR Y HACER CUMPLIR LOS ESTATUTOS Y REGLAMENTOS DE LA SOCIEDAD; Y C) CREAR O SUPRIMIR TODOS LOS EMPLEOS QUE SEAN NECESARIOS DE ACUERDO CON EL CONSEJO SUPERIOR PARA EL BUEN FUNCIONAMIENTO DE LA SOCIEDAD, ASIGNARLES FUNCIONES, FIJAR SUS SALARIOS Y NOMBRAR LAS PERSONAS QUE DEBAN DESEMPEÑARLOS, ASI COMO RETIRARLOS Y REEMPLAZARLOS CUANDO HAYA LUGAR. CUANDO CUALQUIERA DE LOS ACTOS INDICADOS EN LA CLAUSULA ANTERIOR SE REFIERA A OPERACIONES CUYO MONTO EXCEDA DE LA SUMA EQUIVALENTE A CIENTO OCHENTA (180) SALARIOS MINIMOS MENSUALES, SU CELEBRACION REQUERIRA LA APROBACION PREVIA DEL CONSEJO SUPERIOR.

CERTIFICA:

** REVISOR: ACTA NO. 00000001 DEL 2 DE SEPTIEMBRE DE 1993, INSCRITA EL 29 DE SEPTIEMBRE DE 1993 BAJO EL NUMERO 00005175 DEL LIBRO XIII, FUE (RON) NOMBRADO (S):

NOMBRE	IDENTIFICACION
REVISOR: RINCON FANDINO MIGUEL ALFONSO	C.C. 000000002877024

CERTIFICA:

DE CONFORMIDAD CON LO ESTABLECIDO POR LA LEY 962 DE 2005, LOS ACTOS DE REGISTRO AQUI CERTIFICADOS QUEDAN EN FIRME CINCO (5) DIAS HABILES DESPUES DE LA FECHA DE INSCRIPCION, SIEMPRE QUE NO SEAN OBJETO DE RECURSOS EN LA VIA GUBERNATIVA.



01



* 9 4 7 1 9 8 3 9 *

CAMARA DE COMERCIO DE BOGOTA

SEDE CHAPINERO

12 DE JULIO DE 2010

HORA 16:09:43

R028844095

PAGINA: 3 de 3

*** EL PRESENTE CERTIFICADO NO CONSTITUYE PERMISO DE
*** FUNCIONAMIENTO EN NINGUN CASO ***

SEÑOR EMPRESARIO, SI SU EMPRESA TIENE ACTIVOS INFERIORES A 30.000 SMLMV Y UNA PLANTA DE PERSONAL DE MENOS DE 200 TRABAJADORES, USTED TIENE DERECHO A RECIBIR UN DESCUENTO EN EL PAGO DE LOS PARAFISCALES DE 75% EN EL PRIMER AÑO DE CONSTITUCION DE SU EMPRESA, DE 50% EN EL SEGUNDO AÑO Y DE 25% EN EL TERCER AÑO. LEY 590 DE 2000 Y DECRETO 525 DE 2009.

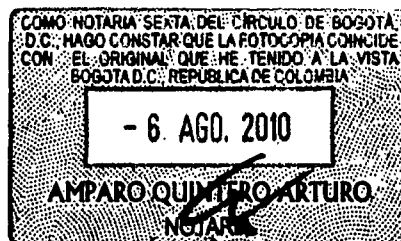
RECUERDE INGRESAR A www.supersociedades.gov.co PARA VERIFICAR SI SU EMPRESA ESTA OBLIGADA A PERMITIR ESTADOS FINANCIEROS. EVITE SANCIONES.

EL SECRETARIO DE LA CAMARA DE COMERCIO,

VALOR : \$ 3,600

DE CONFORMIDAD CON EL DECRETO 2150 DE 1995 Y LA AUTORIZACION IMPARTIDA POR LA SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO, MEDIANTE EL OFICIO DEL 18 DE NOVIEMBRE DE 1996, LA FIRMA MECANICA QUE APARECE A CONTINUACION TIENE PLENA VALIDEZ PARA TODOS LOS EFECTOS LEGALES

Amplio Esteban D





CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI

5A 10

No.27/2010 .

LA SUSCRITA ENCARGADA DE LAS FUNCIONES CONSULARES DE
COLOMBIA EN NUEVA DELHI, INDIA,
VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

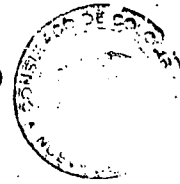
CERTIFICA:

QUE EL SEÑOR **E.K. PARMESWARAN**, OFICIAL REGIONAL (OI) DEL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE INDIA, QUIEN AUTENTICO LA
FIRMA DEL SEÑOR **CHANDRASEKHAR BHASKARAN NAIR** DE LA EMPRESA
BIGTEC PRIVATE LIMITED FIRMANTE DEL PRESENTE DOCUMENTO,
EJERCIA EN LA FECHA LAS FUNCIONES INDICADAS Y SU FIRMA
CORRESPONDE A LA REGISTRADA EN ESTE CONSULADO. QUE LA EMPRESA
BIGTEC PRIVATE LIMITED ESTA CONSTITUIDA DE ACUERDO CON LAS
LEYES DE INDIA, (SEGUN DECLARACION NOTARIADA ADJUNTA AL
DOCUMENTO) CON DOMICILIO EN **BANGALORE, INDIA**. QUE EL SEÑOR
CHANDRASEKHAR BHASKARAN NAIR DE LA EMPRESA ARRIBA
MENTIONADA, ESTA FACULTADO PARA FIRMAR EL PRESENTE
DOCUMENTO.

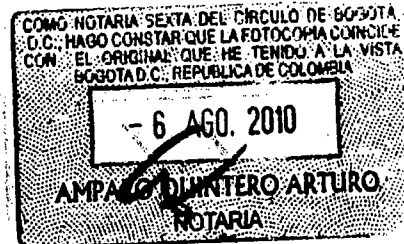
DADO EN NUEVA DELHI A LOS DOCE DIAS (12) DEL MES DE JULIO DE
DOS MIL DIEZ (2010).

Lina Maria Fajardo
LINA MARIA FAJARDO
Consejera, EFC

R



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y
DERECHOS CONSULARES: US \$110.00
(Ciento diez Dólares Americanos)



85, Pooarvi Marg, Vasant Vihar, New Delhi - 110057 INDIA
Tel: 91-11-43202100, 101/102/103/104/105, Fax : 91-11-41662108/41662104
e-mail : cdelhi@cancilleria.gov.co

CAVELIER

ABOGADOS

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4a N° 72-35
BOGOTÁ, 8 - COLOMBIA

ATTESTED
For Bangalore Chamber of
Industry and Commerce

Ph

Deputy Secretary

Colombian (MC)

FP04608

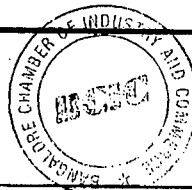
REPRESENTACION

REPRESENTATION

Yo (nosotros), abajo firmado (s)/I (we), the undersigned

BIGTEC PRIVATE LIMITED

domiciliado II Floor, SID Entrepreneurship Building, IISC Campus,
(s) en/of Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India



Por el presente nombramos a CAVELIER ABOGADOS, sociedad colectiva constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, mediante Escritura Pública No. 6233 del 10 de septiembre de 1974, otorgada en la Notaría Sexta del Circuito de Bogotá, domiciliada en Bogotá D.C., con matrícula mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4a N° 72-35, Bogotá, Colombia, como nuestra representante en todos los asuntos de Propiedad Industrial, con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

CAVELIER ABOGADOS también podrá representarnos, con las mismas facultades arriba indicadas, ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, autoridades administrativas o jurisdiccionales, tribunales de arbitramento. En asuntos de naturaleza civil, comercial, penal, constitucional, competencia, competencia de feal, administrativa, contencioso administrativa, protección del consumidor, variedades vegetales, nombres de dominio, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, acciones de tutela, la protección de secretos industriales, derecho regulatorio y en general para que nos represente en cualesquiera acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan.

La representante podrá, en nuestro nombre, designar apoderados para actuar ante autoridades administrativas y judiciales, por vía extrajudicial y también procesalmente en nuestro nombre, como demandantes, como demandados, como

Do hereby appoint CAVELIER ABOGADOS, a general partnership organized under the laws of the Republic of Colombia by means of Public Deed No. 6233 of September 10, 1974, granted at Notary Sixth of the Bogota Circuit, domiciled in Bogota D.C., with Mercantile Registration No. 00820237 and Taxpayer Identification Number 860041367-3, domiciled at Carrera 4a N° 72-35, Bogota, Colombia, as our representative for all Industrial Property matters with faculty to receive notifications and appoint attorneys in and out of Court.

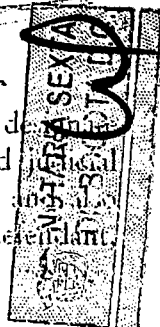
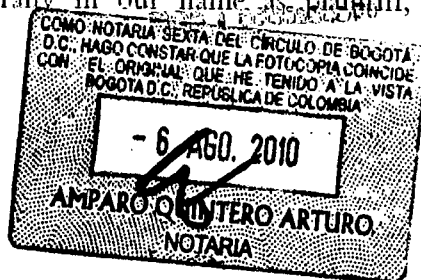
CAVELIER ABOGADOS may also represent us, with the same faculties stated above, before any entities or persons, with or without jurisdiction, administrative or jurisdictional authorities, courts of jurisdiction, in civil, commercial, criminal, constitutional, competition, unfair competition, administrative, administrative contentious, consumer protection, plant varieties, domain names, opposition or observation matters, administrative and Court cancellation, nullity, precautionary measures, licensing, action for writ mandamus, protection of trade secrets, regulatory law and in general represent us in any actions and suits instituted by us or against us.

TESTED TRUE COPY

GERARD S. So. LL.D.

The representative, in our name, designates attorneys to act before administrative and judicial authorities, through suit-of-court channels, and procedurally in our name as plaintiff, defendant,

© CAVELIER ABOGADOS



12

litisconsortes, como agentes officiosos, como terceros, por llamamiento en garantía o como intervinientes ad excludendum. Dentro de esta autorización, la representante podrá facultar a los apoderados que ella designe para transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar y sustituir el poder que se le otorgue. Así mismo, la representante tendrá la facultad para revocar el poder así otorgado en el momento que considere pertinente. La representante en todo caso podrá ratificar los actos de agentes officiosos.

joint litigant, representative without power of attorney, third party, when summoned to appear in court or as intervener ad excludendum. Under this authorization, the representative may empower the attorneys appointed thereby to compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign and substitute the power of attorney granted thereto. Likewise, the representative shall have the faculty of revoking the power of attorney thus granted at any time it may deem convenient. The representative may in any case ratify the acts of representatives without a power of attorney.

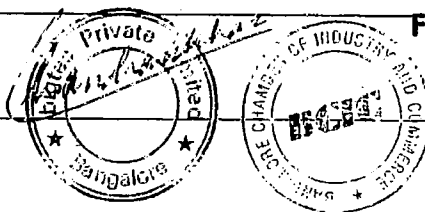
Dado y firmado hoy/Given and signed this

20th April, 2010

En/in Bangalore

Por/by Chandrasekhar Bhaskaran Nair, Director

Firma/Signature



ATTESTED
For Bangalore Chamber of
Industry and Commerce

P. K.
Deputy Secretary

CERTIFICACION NOTARIAL (SOCIEDAD)

El infrascrito Notario Certifica: Que la firma que antecede de

es auténtica; que el signatario desempeña actualmente el cargo de

sociedad que actualmente existe y está organizada de acuerdo a las leyes de

que la dirección de dicha compañía es

y que el signatario tiene facultad para otorgar este documento.

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Dado y firmado en

El

NOTARIAL CERTIFICATION (COMPANY)

The undersigned Notary certifies: That the preceding signature of

Chandrasekhar Bhaskaran Nair
is authentic, that the signatory currently acts in the position of Director
of the company
BIGTEC PRIVATE LIMITED

a company currently existing and organized under the laws of India,

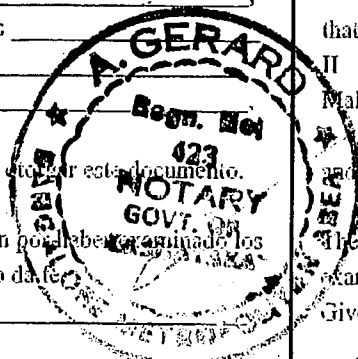
that the address is
II Floor, SID Entrepreneurship Building, IISC Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India

and that the signatory has the power to grant this document.

The Notary Public is aware and attests to the above facts upon examination of the corresponding document.

Given and signed

On

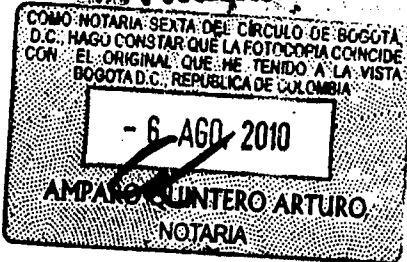


TESTED TRUE COPY

A. GERARD & Co., L.L.C.
ADVOCATE & NOTARY
No. 154, RAYAPPA ROAD
KAMMANAHALLI
BANGALORE- 560 022
MOB: 9845434570



CAVELIER ABOGADOS



PAGADO IMPORTE D. TITULO 000 10
PAGADOS DERECHOS CONSULARES W80 20

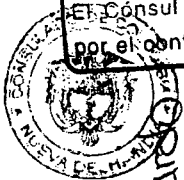
**CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI**

No. 1335/10

El suscrito Cónsul de Colombia CERTIFICA
que el señor E. K. PARAMESWARAN....
que autoriza el presente documento, ejercía
legalmente en la fecha allí expresada las
funciones del Ministry of External
Affairs (O.I.) New Delhi.....
y que la firma y sello que en el documento
aparecen como suyos son los que usa y
acostumbra en sus actos oficiales.

El Cónsul no asume responsabilidad alguna
por el contenido del documento.

13 JUL 2010



Lina Maria Fajardo
LINA MARIA
Consejera, EFC

R

NO DE ASUMIR
RESPONSABILIDAD
DEL TITULO

026573

Lina Maria Fajardo
CASA FAMILIAR EN EL
DOCUMENTO DE EMPRESA
AS FUNCIONES INDICADAS

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2010 JUL 28 P. 48

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

22 JUN 2010
भारतीय विदेश मंत्रालय
नई दिल्ली
विदेश मंत्रालय, नई दिल्ली
Ministry of External Affairs, New Delhi



(ई. के. परमेश्वरन)
(E. K. PARAMESWARAN)
अनुभाग अधिकारी (ओ.आई.)
Section Officer (O.I.)
विदेश मंत्रालय, नई दिल्ली
Ministry of External Affairs, New Delhi

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA
D.C., HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE
CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
- 6 AGO 2010
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

APOSTILLE

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country:

This public document

2. has been signed by

3. acting in the capacity of

4. bears the seal/stamp of

Certified

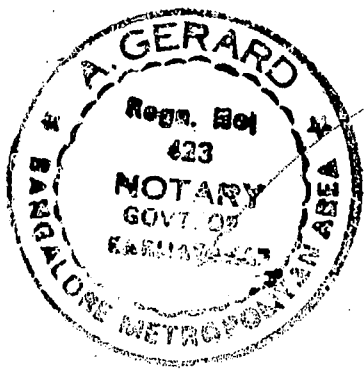
5. at 6. the

7. by

8. No.

9. Seal/stamp 10. Signature

.....



ATTESTED
For Bangalore Chamber of
Industry and Commerce

Mill
Deputy Secretary

ATTESTED TRUE COPY

A. GERARD B.Sc., LL.B.
ADVOCATE & NOTARY
No. 154, BAYAPPA ROAD
KAMMANAHALLI
BANGALORE- 500 084
423 2 224502497

© CAVELIER ABOGADOS

COMO NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
- 6 AGO. 2010
AMEAR QUINTERO ARTURO
NOTARIA



14

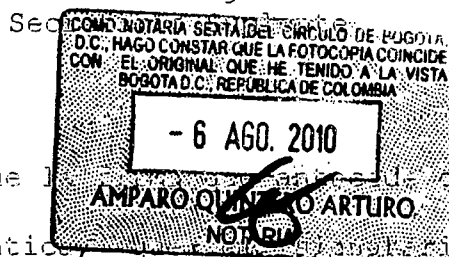
TRADUCCIÓN OFICIAL No. 07.30/10a realizada por Diego Vargas, Traductor Oficial, Resolución No. 0001 de 1999 del Ministerio de Justicia y registrado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia.

A continuación se traducen los sellos y legalizaciones de un documento mediante el cual **BIGTEC PRIVATE LIMITED**, domiciliada en II Floor, SID Entrepreneurship Building, IISC Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India, nombra a **CAVELIER ABOGADOS**, una sociedad colectiva debidamente constituida de conformidad con las leyes de la República de Colombia, con Matrícula Mercantil No. 00820237 y NIT 860041367-3, domiciliada en la Carrera 4 No. 72-35, de Bogotá, Colombia, como su representante en todos los asuntos de Propiedad Intelectual.

Dado y firmado el 20 de abril de 2010 en Bangalore por Chandrasekhar Bhaskaran Nair, Director.

Firma Firma Ilegible

CERTIFICADO
Por la Cámara de Industria
y Comercio de Bangalore
Firma Ilegible



CERTIFICACIÓN NOTARIAL (COMPAÑÍA)

El suscrito Notario Público certifica: que el suscrito de Chandrasekhar Bhaskaran Nair es auténtico, que el suscrito desempeña actualmente el cargo de Director de la compañía BIGTEC PRIVATE LIMITED, sociedad que actualmente existe y está organizada de conformidad con leyes de India, que la dirección de dicha compañía es II Floor, SID Entrepreneurship Building, IISC Campus, Malleshwaram, Bangalore 560 012, Karnataka, India y que el signatario está facultado para otorgar este documento.



Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA

L'ESPACIO

EN

BLANCO

15

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Firma Ilegible

Sello Notarial de A. GERARD

COPIA FIEL CERTIFICADA

Firma Ilegible

A. GERARD B. Sc. LL.B.

ABOGADO Y NOTARIO

No. 154, RAYAPPA ROAD

KAMMANAHALLI

BANGALORE 560 GSE

MAS 1 8845124571

(RESPALDO)

No. _____ Fecha: 22 JUN 2010

Se certifica la firma del Subsecretario/ Secretario Suplente/
Secretario de la Cámara de Comercio

Firma Ilegible

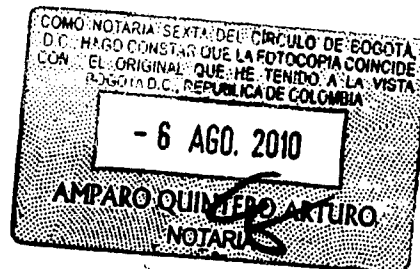
E. K. PARAMESWARAN

Funcionario Administrativo (OI)

(Sección C.P.V.)

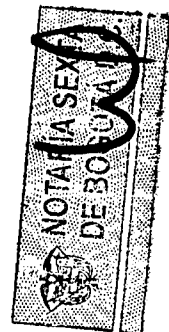
Ministerio de Relaciones Exteriores

Nueva Delhi



Se anexa certificación No. 1335/10 del Consulado de Colombia en Nueva Delhi, por el cual se certifica la firma anterior del Señor E. K. PARAMESWARAN de la oficina regional del Ministerio de Relaciones Exteriores de India. Dado en Nueva Delhi el 13 de julio de 2010 y firmada por Lina Fajardo. Pagados los Impuestos de Timbre y Derechos Consulares.

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Bogotá D.C. con el número **026573** con fecha del 28 de julio de 2010.



Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OCIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL

RES. 0041 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA

(ANEXO)

Sello Notarial
Firma Ilegible

CERTIFICADO
Por la Cámara de Industria
y Comercio de Bangalore
Firma Ilegible
Secretario Suplente

COPIA FIEL CERTIFICADA

Firma Ilegible

A. GERARD B. Sc. LL.B.

ABOGADO Y NOTARIO

No. 154, RAYAPPA ROAD

KAMMANAHALLI

BANGALORE 560 GSE

MAS 1 8845124571

(RESPALDO)

No. _____ Fecha: 22 JUN 2010

Se certifica la firma del Subsecretario/ Secretario Suplente/
Secretario de la Cámara de Comercio

Firma Ilegible

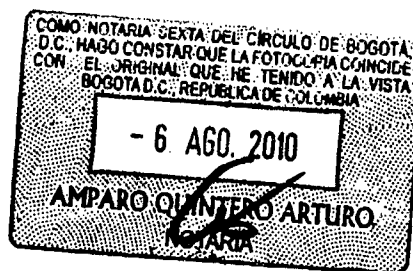
E. K. PARAMESWAPAN

Funcionario Administrativo (OI)

(Sección C.P.V.)

Ministerio de Relaciones Exteriores

Nueva Delhi



Se anexa certificación No. 27/2010 del Consulado de Colombia en Nueva Delhi mediante la cual se certifica la firma del señor E.K. PARMESWAPAN como oficial regional del Ministerio de Relaciones Exteriores de India, quien autenticó la firma del señor Chandrasekhar Bhaskaran Nair a nombre de la sociedad Bigtec Private Limited y adicionalmente se certifica que la anterior es una sociedad organizada y existente de conformidad con las leyes de India.

Diego F. Vargas Z.
DIEGO F. VARGAS Z.

TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL

RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999

MINISTERIO DE JUSTICIA



ESPACIO

EN

BLANCO

17

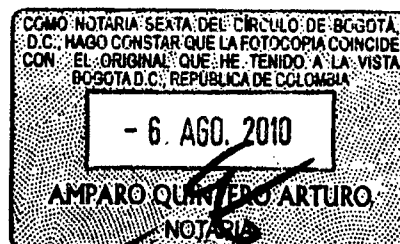
Firmado por Lina María Fajardo, Consejera. Pagados los impuestos de timbre y derechos consulares.

Legalización de la firma anterior por parte del Jefe de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores en Bogotá D.C. con el número **026574** con fecha del 28 de julio de 2010.

Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.

DVZ\DVZ\ID-175376\WPCL002H\COLO 00002-000-133-7
CP:610

Diego F. Vargas
DIEGO F. VARGAS Z.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS - INGLÉS - ESPAÑOL
RES. 0001 DE ENERO 4 DE 1999
MINISTERIO DE JUSTICIA





CONSULADO DE COLOMBIA
NUEVA DELHI

50

18

No.27/2010

LA SUSCRITA ENCARGADA DE LAS FUNCIONES CONSULARES DE
COLOMBIA EN NUEVA DELHI, INDIA,
VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

QUE EL SEÑOR **E.K. PARMESWARAN**, OFICIAL REGIONAL (OI) DEL
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE INDIA, QUIEN AUTENTICO LA
FIRMA DEL SEÑOR **CHANDRASEKHAR BHASKARAN NAIR** DE LA EMPRESA
BIGTEC PRIVATE LIMITED FIRMANTE DEL PRESENTE DOCUMENTO,
EJERCA EN LA FECHA LAS FUNCIONES INDICADAS Y SU FIRMA
CORRESPONDE A LA REGISTRADA EN ESTE CONSULADO. QUE LA EMPRESA
BIGTEC PRIVATE LIMITED ESTA CONSTITUIDA DE ACUERDO CON LAS
LEYES DE INDIA, (SEGUN DECLARACION NOTARIADA ADJUNTA AL
DOCUMENTO) CON DOMICILIO EN **BANGALORE, INDIA**. QUE EL SEÑOR
CHANDRASEKHAR BHASKARAN NAIR DE LA EMPRESA ARRIBA
MENCIONADA, ESTA FACULTADO PARA FIRMAR EL PRESENTE
DOCUMENTO.

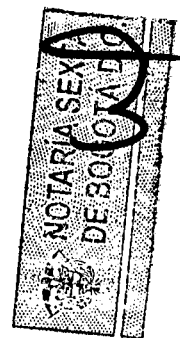
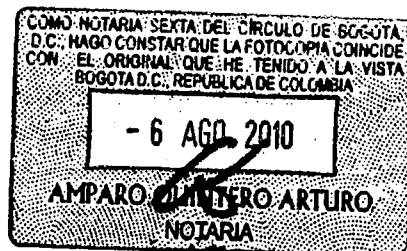
DADO EN NUEVA DELHI A LOS DOCE DIAS (12) DEL MES DE JULIO DE
DOS MIL DIEZ (2010).

Lina Maria Fajardo
LINA MARIA FAJARDO
Consejera, EFC

R



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y
DERECHOS CONSULARES: US \$110.00
(Ciento diez Dólares Americanos)



85, Peervi Marg, Vasant Vihar, New Delhi - 110057 INDIA

Tel: 91-11-43202100/101/102/103/104/105, Fax : 91-11-41662108/41662104

e-mail : cdelhi@cancilleria.gov.co



documento de representación otorgado el día **20 de Abril de 2010** por **BIGTEC PRIVATE LIMITED**, documento que está debidamente legalizado. -----

Presente la señora **ADRIANA ZAPATA GIRALDO** domiciliada en Bogotá, identificada como aparece al pie de su firma y manifestó que está conforme con el contenido de esta escritura pública. -----

----- **HASTA AQUI LAS DECLARACIONES DEL INTERESADO** -----

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. Leído, el presente instrumento público por el otorgante, dio su asentimiento y en prueba de ello lo firma junto con la suscrita Notaria quien en esta forma lo autoriza. -----

DERECHOS NOTARIALES: \$ 42.860 -----

IVA: \$ 25.348 -----

RECAUDO SUPERINTENDENCIA: \$3.570.00 -----

RECAUDO FONDO NACIONAL DE NOTARIADO: \$3.570.00 -----

RESOLUCIÓN 10301 DE DICIEMBRE 17 DE 2009 -----

PAPEL NOTARIAL: El presente instrumento público se extendió y firmó en las hojas de papel notarial números: 7 700049 885172 - 7 700049 885189 -----

Adriana Zapata Giraldo
ADRIANA ZAPATA GIRALDO

C.C. 51680061

TEL. 2110348

Representante Legal de **CAVELIER ABOGADOS**



AMPARO QUINTERO ARTURO

NOTARIA(O) SEXTA(O) (6) DE BOGOTÁ, D.C.

T CAVELIER, Angélica PE



ES FIEL Y CUARTA COPIA (FOTOCOPIA), TOMADA DE LA ESCRITURA PUBLICA NUMERO 4108 DE FECHA 06 DE AGOSTO DE 2010.

COPIA QUE EXPIDO CON DESTINO AL INTERESADO EN 14 HOJAS RUBRICADAS EN SUS MARGENES, LA CUAL CARECE DE NOTAS DE REVOCATORIA, MODIFICACION O SUSTITUCION, POR TANTO SE PRESUME VIGENTE EL PODER EN ELLA CONTENIDO.

BOGOTA, D.C. 17 DE AGOSTO DE 2011

RESOLUCION 01 DE 2008

POR LA NOTARIA SEXTA DE BOGOTA D.C.



MABEL ANDREA RODRIGUEZ DIAZ.
NOTARIA SEXTA (e). DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 August 2010 (19.08.2010)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2010/092595 A3

(51) International Patent Classification:
C12Q 1/68 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/IN2010/000048

(22) International Filing Date:
27 January 2010 (27.01.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
00314/CHE/2009 13 February 2009 (13.02.2009) IN

(71) Applicant (for all designated States except US):
BIGTEC PRIVATE LIMITED [IN/IN]; II Floor, SID
Entrepreneurship Building, Indian Institute of Science
[IISc] Campus, Mallechwaram, Bangalore 560 012, Kar-
nataka (IN).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **JAGANNATH,
Manjula** [IN/IN]; Bigtec Private Limited, II Floor, SID
Entrepreneurship Building, Indian Institute of Science
[IISc] Campus, Mallechwaram, Bangalore 560 012 Kar-
nataka (IN). **NAIR, Chandrasekhar, Bhaskaran**
[IN/IN]; Bigtec Private Limited, II Floor, SID En-
trepreneurship Building, Indian Institute of Science [IISc]
Campus, Mallechwaram, Bangalore 560 012 Karnataka
(IN). **SUBBARAO, Pillarisetti, Venkata** [IN/IN]; Bigtec
Private Limited, II Floor, SID Entrepreneurship Building,
Indian Institute of Science [IISc] Campus, Mallechwaram,
Bangalore 560 012 Karnataka (IN).

(74) Agents: **GUPTA, Maram, Suresh et al.**; K & S Partners,
4121/E, 6th Cross, 19A Main, HAL II Stage (Extencion),
Bangalore 560 033, Karnataka (IN).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BF, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HP, HU, IE, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LP, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MI, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SI, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GE, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to the applicant's entitlement to claim the priority of
the earlier application (Rule 4.17(iii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))

(88) Date of publication of the international search report:
14 October 2010

(54) Title: OLIGONUCLEOTIDE PROBES AND PRIMERS FOR DETECTION OF HEPATITIS B VIRUS

(57) Abstract: The present disclosure provides a method for the detection and quantification of Hepatitis B Virus. It discloses oligonucleotide probes set forth in SEQ ID Nos. 1 and 2 for detection of Hepatitis B Virus along with respective primers [sense and antisense] set forth in SEQ ID Nos. 3, 4, 5 and 6. It also provides a PCR reaction mixture for detection of Hepatitis B Virus and a kit for detection of HBV comprising said mixture along with an instruction package.

WO 2010/092595 A3

22

PERU

1

**SONDAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS Y CEBADORES PARA LA DETECCIÓN DEL
VIRUS DE LA HEPATITIS B**

5

CAMPO TÉCNICO

La presente descripción se refiere a un método de determinación de presencia y cuantificación de ácidos nucleicos del VHB (virus de la hepatitis B) en muestras.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION Y TÉCNICA ANTERIOR

15

El VHB provoca hepatitis crónica y aguda (hepatitis tipo B), y en casos graves cirrosis y carcinoma hepático. Estudios recientes han mostrado que en todo el mundo el número de personas infectadas por el virus de la hepatitis B (VHB) asciende a aproximadamente 300 millones.

20

Ensayos basados en PCR para la detección directa de ácidos nucleicos del VHB en la sangre/suero o plasma de un sujeto infectado pueden proporcionar una ventaja en la determinación de la carga viral exacta de un paciente infectado que será útil para que un médico conozca el estadio exacto de la infección. Esto puede ayudar adicionalmente al médico a proporcionar una terapia apropiada para el paciente. Cuantificar la carga viral exacta también puede ayudar en la monitorización del progreso de la terapia antiviral. Los métodos usados actualmente para el diagnóstico del VHB están basados en ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas) que están basados en la presencia de marcadores séricos tales como HbeAg, HbsAg o IgM anti-HBc, IgG anti-HBe, anti-HBs o anti-HBc. Puesto que los métodos basados en ELISA no pueden facilitar un conocimiento de la carga viral exacta existe una necesidad de buscar un método que pueda facilitar la medida cuantitativa de la carga viral. Existe una necesidad de un método eficaz en vista de los problemas mencionados anteriormente asociados con métodos conocidos de detección, de

25

30

35

23

PERU

2

modo que el mismo pueda utilizarse para detectar el VHB que pueda facilitar una medida tanto cualitativa como cuantitativa de la carga viral.

5

OBJETIVOS

El primer objetivo de la presente descripción es proporcionar un método para determinar la presencia de ácidos nucleicos del VHB en las muestras.

10

El segundo objetivo de la presente descripción es proporcionar sondas y cebadores para la detección del VHB.

El tercer objetivo de la presente descripción es proporcionar una mezcla de reacción de PCR para la detección del VHB.

15

El cuarto objetivo de la presente descripción es proporcionar un kit que comprende sondas y cebadores para la detección del VHB.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS ADJUNTOS

20

Figura 1. Gráfico de tiempo real de muestras positivas para el VHB usando un kit comercial.

Figura 2. Gráfico de tiempo real de muestras positivas para el VHB usando SEQ ID No. 1.

25

Figura 3. Gráfico de tiempo real de muestras positivas para el VHB usando SEQ ID No. 2.

Figura 4. Gráfico de tiempo real de muestras negativas para el VHB usando SEQ ID No. 1.

Figura 5. Gráfico de tiempo real de muestras negativas para el VHB usando SEQ ID No. 2.

30

Figura 6. Curva patrón para el VHB.

EXPOSICIÓN DE LA DESCRIPCIÓN

Por consiguiente, la presente descripción se refiere a sondas de oligonucleótidos de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2; cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6; una mezcla de reacción

35

PERU

3

de PCR para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicha mezcla reactivos de amplificación de ácido nucleico, sondas con marcaje doble expuestas en SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5, 6 y muestra de prueba; un método de detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicho método las etapas de: formar una mezcla de reacción que comprende reactivos de amplificación de ácido nucleico, sonda de oligonucleótido de SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2 con cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3 y 4 o SEQ ID Nos. 5 y 6 respectivamente, una muestra de prueba; y someter la mezcla de reacción a PCR para obtener copias de la secuencia diana seguido por la medición del aumento de la señal de fluorescencia para detectar el virus de la hepatitis B; y un kit para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicho kit sondas con marcaje doble de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, individualmente o en combinación; par de cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3, 4, y 5, 6, individualmente o en combinación y reactivos de amplificación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente descripción se refiere a sondas de oligonucleótidos de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2.

En una realización de la descripción dichas sondas son sondas con marcaje doble.

En una realización de la descripción dichas sondas detectan el virus de la hepatitis B.

En una realización de la descripción dichas sondas se conjugan con marcadores detectables que tienen un fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en una región interna o en el extremo 3'.

En una realización de la descripción la SEQ ID No. 1 se diseña para el gen de superficie del virus de la hepatitis B y la SEQ ID No. 2 se diseña para la región del gen X del virus de la hepatitis B.

25

PERU

4

La presente descripción se refiere a los cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6.

En una realización de la descripción dichos cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 5 son cebadores sentido y SEQ ID No. 4 y SEQ ID No. 6 son cebadores antisentido respectivamente.

En una realización de la descripción dichos cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 4 son para sonda con marcaje doble de SEQ ID No. 1 y los cebadores de SEQ ID No. 5 y SEQ ID No. 6 son para sonda con marcaje doble de SEQ ID No. 2.

La presente descripción se refiere a una mezcla de reacción de PCR para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicha mezcla reactivos de amplificación de ácido nucleico, sondas con marcaje doble expuestas en SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5, 6 y una muestra de prueba.

En una realización de la descripción dicha muestra se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.

En una realización de la descripción dicha PCR es PCR en tiempo real.

La presente descripción se refiere a un método de detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicho método las etapas de:

- (a) formar una mezcla de reacción que comprende reactivos de amplificación de ácido nucleico, sonda de oligonucleótido de SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2 con cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3 y 4 o SEQ ID Nos. 5 y 6 respectivamente, una muestra de prueba; y
- (b) someter la mezcla de reacción a PCR para obtener copias de la secuencia diana seguido por la medición del aumento de la señal de fluorescencia para detectar el virus de la hepatitis B.

En una realización de la descripción dichas sondas se conjugan con marcadores detectables que tienen un fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en una región interna o en el extremo 3'.

PERU

5

En una realización de la descripción dichos cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 5 son cebadores sentido y SEQ ID No. 4 y SEQ ID No. 6 son cebadores antisentido, respectivamente.

5 En una realización de la descripción dicha muestra de prueba se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.

En una realización de la descripción dichos reactivos de amplificación incluyen cloruro de magnesio, Taq polimerasa y tampón para amplificación.

10 En una realización de la descripción dicha detección es de naturaleza cualitativa o cuantitativa.

En una realización de la descripción dicho fluoróforo se selecciona de un grupo que comprende fluoresceína y derivados de fluoresceína FAM, VIC, JOE, ácido 5-(2'-aminoetil)aminonaftaleno-1-sulfónico, cumarina y derivados de cumarina, amarillo Lucifer, rojo Texas, tetrametilrodamina, 6-carboxifluoresceína, tetracloro-6-carboxifluoresceína, 5-carboxirodamina y tintes de cianina.

15

En una realización de la descripción dicho extintor se selecciona de un grupo que comprende tetrametilrodamina [TAMPA], ácido 4'-(4-dimetilaminofenilazo)benzoico, 4-dimetilaminofenilazofenil-4'-maleimida, tetrametilrodamina, carboxitetrametilrodamina y tintes BHQ.

20

En una realización de la descripción dicho fluoróforo es preferiblemente 6-carboxifluoresceína en el extremo 5' y dicho extintor es preferiblemente tetrametilrodamina en el extremo 3' o Black Hole Quencher 1 [BHQ1] en la región interna o en el extremo 3'.

25

La presente descripción se refiere a un kit para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicho kit sondas con marcaje doble de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, individualmente o en combinación; par de cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3, 4, y 5, 6, individualmente o en combinación y reactivos de amplificación.

30

27

PERU

6

En una realizaci3n de la descripci3n dichos reactivos de amplificaci3n incluyen cloruro de magnesio, Taq polimerasa y tamp3n para amplificaci3n.

5 **Lista de secuencias biol3gicas de la descripci3n**
La SEQ ID No. 1 y los cebadores correspondientes 3 y 4 tienen n3meros de identificaci3n de secuencia tal como se muestra en la tabla 1 a continuaci3n:

Tabla - 1

N3MERO DE IDENTIFI- CACI3N DE SECUENCIA	SECUENCIA DE NUCLE3TIDOS
SEQ ID No. 1	5'-FAM-CCTCAGTCCGTTTCTCCTGGCTCAGTT-TAMPA-3' O 5'-FAM-CCTCAGTCCGTT/iBHQ1T/CTCCTGGCTCAGTT-Phos-3'
SEQ ID No. 3	5'-TGCACCTGTATTCCCATCCC-3'
SEQ ID No. 4	5'-CCACATCATCCATATAACTGAAAGCC-3'

10 La SEQ ID No. 2 y los cebadores correspondientes 5 y 6 tienen n3meros de identificaci3n de secuencia tal como se muestra en la tabla 2

Tabla - 2

N3MERO DE IDENTIFICACI3N DE SECUENCIA	SECUENCIA DE NUCLE3TIDO
SEQ ID No. 2	5'-FAM-CCCCTTCTTCGTCTGCCGT-TAMPA-3' O 5'-FAM-CCCCTTCTTCG/iBHQ1T/CTGCCGT-Phos-3'
SEQ ID No. 5	5'-CGTCGGCGCTGAATCC-3'
SEQ ID No. 6	5'-GAAGCGAAGTGACACGG-3'

Las sondas de "oligonucleótidos" diseñadas pueden usarse para la detección de ácidos nucleicos del VHB en una muestra infectada empleando PCR en tiempo real. El modo de detección es midiendo el aumento de la fluorescencia durante la PCR.

5 Se buscó exhaustivamente en la base de datos del VHB para identificar las regiones más conservadas específicas para el genoma del VHB. Las regiones más prometedoras con regiones conservadoras se seleccionaron para diseñar los conjuntos de cebador y sonda. Se obtuvieron y analizaron las regiones
10 conservadas con genes X y de superficie para diseñar sondas y cebadores.

 Según la presente invención SEQ ID No. 1 junto con sus cebadores sentido y antisentido respectivos de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 4 se diseñan para el gen de superficie del genoma
15 del VHB. De manera similar SEQ ID No. 2 junto con sus cebadores sentido y antisentido respectivos de SEQ ID No. 5 y SEQ ID No. 6 se diseñan para el gen X del genoma del VHB.

 Según la presente invención dicho "oligonucleótido" de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 tiene un marcador detectable con
20 fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en la región interna o en el extremo 3'. El fluoróforo se selecciona de un grupo que comprende fluoresceína y derivados de fluoresceína FAM, VIC, JOE, ácido 5-(2'-aminoetil)aminonaftaleno-1-sulfónico, cumarina y derivados de cumarina, amarillo Lucifer, rojo
25 Texas, tetrametilrodamina, 6-carboxifluoresceína, tetracloro-6-carboxifluoresceína, 5-carboxirodamina y tintes de cianina.

 En todavía otra realización de la presente invención dicho extintor se selecciona de un grupo que comprende
30 tetrametilrodamina, ácido 4'-(4-dimetilaminofenilazo)benzoico, 4-dimetilaminofenilazofenil-4'-maleimida, tetrametilrodamina, carboxitetrametilrodamina y tintes BHQ. Dicho fluoróforo es preferiblemente 6-carboxifluoresceína [FAM] y el extintor es Black Hole Quencher 1 [BHQ1] cuando está presente internamente y tetrametilrodamina [TAMRA] o Black Hole Quencher 1 [BHQ1]
35 cuando está presente en el extremo 3'.

PERU

8

La presente invención se refiere a un método para detectar el virus de la hepatitis E, en el que dicha mezcla de PCR que comprende reactivos de amplificación de ácido nucleico, sondas de "oligonucleótidos" denominadas SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2, junto con sus cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6 y una muestra de prueba se somete a amplificación usando PCR en tiempo real para obtener copias de la secuencia diana. La amplificación se mide en términos de aumento de la señal de fluorescencia.

La sonda de "oligonucleótido" tiene un tamaño que oscila desde 19-27 nucleótidos. Las sondas diseñadas tienen un fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en la región interna o en el extremo 3'.

Dicho fluoróforo es preferiblemente 6-carboxifluoresceína [FAM] y el extintor es Black Hole Quencher 1 [BHQ1] cuando está presente internamente y tetrametilrodamina [TAMRA] o Black Hole Quencher 1 [BHQ1] cuando está presente en el extremo 3'. La presente invención se usa para la detección del virus de la hepatitis E presente en muestras de sangre/suero/plasma. El método usado para la detección es monitorizando el aumento de fluorescencia durante la PCR.

Según la presente invención la sonda de "oligonucleótido" se refiere a una secuencia corta de ácido ribonucleico (ARN) o ácido desoxirribonucleico (ADN). Las sondas de "oligonucleótidos" pueden hibridarse específicamente con ácidos nucleicos de todos los genotipos del virus de la hepatitis E (VHE). Las sondas de "oligonucleótidos" según la presente invención tienen generalmente entre aproximadamente 19-27 nucleótidos de longitud. Las sondas de "oligonucleótidos" mencionadas aquí se hibridan específicamente con la secuencia de ácido nucleico del VHE sin presentar hibridación no específica con ácidos nucleicos que no son del VHE.

Las sondas de secuencia de "oligonucleótido" empleadas aquí siguen los principios de la química Taqman. Las sondas TaqMan también se denominan oligonucleótidos de doble tinte o sondas con marcaje doble, son el tipo de sondas más ampliamente usado. Se desarrollaron por Roche [Basilea, Suiza] y ABI [Foster City, Estados Unidos] a partir de un ensayo que originalmente usaba una sonda radiomarcada y consisten en una secuencia de sonda de cadena sencilla que es complementaria a una de las cadenas del amplicón. El fluoróforo cuando se excita pasa su energía, mediante FRET (transferencia de energía por resonancia fluorescente), al extintor. Durante la PCR en tiempo real la sonda se une al amplicón durante cada etapa de apareamiento de PCR. Cuando la Taq polimerasa se extiende a partir del cebador unido al amplicón desplaza el extremo 5' de la sonda, que entonces se degrada por la actividad 5'-3' exonucleasa de la Taq polimerasa. La escisión continua hasta que la sonda restante disuelve el amplicón. Este proceso libera el fluoróforo y extintor en la disolución, separándolos especialmente en comparación cuando se mantenían juntos por la sonda. Esto conduce a un irreversible aumento de fluorescencia a partir del fluoróforo.

Por tanto, las sondas de "oligonucleótidos" de SEQ ID Nos. 1 y 2 según la presente invención se proporcionan adicionalmente en combinación con sus correspondientes cebadores sentido y antisentido de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6 respectivamente, que puedan usarse específicamente para amplificar y detectar secuencias de ácido nucleico del VHB en una muestra de prueba mediante PCR en tiempo real.

La tecnología de la presente solicitud se elabora adicionalmente con la ayuda de los siguientes ejemplos. Sin embargo, no debe interpretarse que los ejemplos limiten el alcance de la invención.

Se analizaron y compararon la eficacia y sensibilidad de las sondas de oligonucleótidos de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 con el kit convencional comercial. Se usaron las mismas

concentraciones de reactivos de PCR en tiempo real, moldes y oligonucleótidos en cada caso y también se mantuvieron constantes las condiciones de ciclado para todas las reacciones. Basándose en el resultado obtenido a partir del kit convencional comercial se analizaron las sondas de oligonucleótidos de SEQ ID Nos. 1 y 2 para determinar su sensibilidad y especificidad.

Ejemplo: 1

Se aisló ADN a partir de 10 muestras de suero positivas para VHB y 10 muestras de suero negativas para VHB usando un kit comercial. Se llevaron a cabo reacciones de PCR en tiempo real para todas las muestras usando las sondas de oligonucleótidos denominadas SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 junto con sus cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6 respectivamente. Se comparó la sensibilidad de estas sondas de oligonucleótidos para reconocer las muestras infectadas con un kit convencional comercial. Se usaron las mismas concentraciones de reactivos de PCR en tiempo real, molde y cebadores en cada caso y también se mantuvieron constantes las condiciones de ciclado para todas las reacciones. La composición de la mezcla de PCR en tiempo real y las condiciones de PCR se facilitan en las tablas 3 y 4.

Tabla 3: PCR en tiempo real con premezcla Takara

Composición de la mezcla maestra de PCR en tiempo real	
Premezcla	5,0 µl
Cebador directo	0,2 µl (2 picomoles)
Cebador inverso	0,2 µl (2 picomoles)
Sonda	0,2 µl (2 picomoles)
Muestra	2,0 µl
Total	2,4 µl

Tabla 4: condiciones por ciclo de PCR en tiempo real

Programa de la PCR	
Etapa 1	95°C durante 60 s
Etapa 2	95°C durante 5 s
Etapa 3	60°C durante 34 s

Las etapas 2 y 3 se repetirán 40 veces.

5 Los resultados obtenidos mostraron que las sondas de oligonucleótidos denominadas SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 sólo reconocieron las muestras positivas para VHB y no mostraron ninguna amplificación falsa para las muestras negativas.

10 Los oligonucleótidos SEQ ID No. 1 reconocieron las 10 muestras positivas dentro de los 40 ciclos (punto de corte de la muestra positiva) mostrando una especificidad al 100%. De los 10 positivos detectados, 9 muestras se detectaron antes en comparación con el kit convencional comercial.

15 De manera similar, el oligonucleótido de SEQ ID No. 2 reconoció las 10 muestras positivas dentro de los 40 ciclos (punto de corte de la muestra positiva) mostrando una especificidad al 100%. De los 10 positivos detectados, 2 muestras se detectaron antes en comparación con el kit convencional comercial.

20 Puesto que SEQ ID No. 1 reconoció muchas muestras antes que el kit convencional comercial, por tanto, SEQ ID No. 1 es una mejor sonda para examinar infecciones por VHB en cuanto a especificidad y sensibilidad. Sin embargo, ambas sondas de oligonucleótidos, SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, puedan usarse para la detección de infecciones por VHB.

25 La tabla 5 proporciona una comparación del rendimiento de SEQ ID No. 1 con el Ct del kit comercial. De manera similar, la tabla 6 proporciona una comparación del rendimiento de SEQ ID No. 2 con el Ct del kit comercial. Los gráficos de PCR en tiempo real del kit comercial, SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 son tal como se dan en las figuras 1, 2, 3, 4 y 5.

30

33

PERU

12

Tabla 5: comparación con el kit convencional comercial

Identificación de muestra	Ct del kit comercial	Ct de SEQ ID No. 1
Positivo 1	20,27	19,42
Positivo 2	17,48	17,22
Positivo 3	19,44	19,06
Positivo 4	32,03	26,04
Positivo 5	28,56	29,69
Positivo 6	27,37	23,73
Positivo 7	29,1	27,34
Positivo 8	30,12	27,99
Positivo 9	26,92	24,17
Positivo 10	37,46	35,11

Tabla 6: comparación con kit convencional comercial

Identificación de muestra	Ct de kit comercial	Ct de SEQ ID No. 2
Positivo 1	20,27	22,26
Positivo 2	17,48	20,18
Positivo 3	19,44	22
Positivo 4	32,03	30,46
Positivo 5	28,56	31,19
Positivo 6	27,37	29,65
Positivo 7	29,1	30,28
Positivo 8	30,12	28,64
Positivo 9	26,92	27,02
Positivo 10	37,46	39,20

Ejemplo: 2

También puede cuantificarse la carga viral generando una curva patrón. Se sometieron 25 µl de ADN del VHB a PCR convencional para la generación de la curva patrón usando una mezcla de PCR que contiene dNTPS, Taq ADN polimerasa, tampón de enzima, MgCl₂ y cebadores específicos para las regiones de genes X y de superficie. Las condiciones de PCR son tal como sigue:

Etapa 1: 95°C durante 120 s

Etapa 2: 95°C durante 20 s

Etapa 3: 60°C durante 40 s

Las etapas 2 y 3 se repitieron durante 40 ciclos.

Tras la PCR se sometió la muestra amplificada a electroforesis en un gel de agarosa al 3% y se tiñó con bromuro de etidio. Entonces, se escindió la banda del amplicón que tiene aproximadamente 1,2 kpb de longitud y que corresponde a las regiones del gen X y de superficie del genoma del VHB del gel y se purificó usando un kit de extracción de gel Qiaquick. Se estimó que la absorbancia del ADN de amplicón purificado (2 µl) a 260 nm usando un instrumento Nanodrop. Se calculó el coeficiente de extinción del ADN a partir del coeficiente de bases individuales mediante adición.

Se calcularon los nanomoles de amplicón usando la siguiente ecuación:

$$\text{Nmoles/ml} = \frac{1000 \times \text{DO260}(1 \text{ cm}) \times 1 \text{ ml (vol)}}{\text{Coeficiente de extinción del amplicón}}$$

Coeficiente de extinción del amplicón

Se calculó el número de copia usando la fórmula:

$$\text{Número de copia/ml} = (\text{Moles/ml}) \times \text{número de Avogadro.}$$

Cálculos:

$$\text{DO 260} = 0,522$$

$$\text{Coeficiente de extinción} = 33675,1$$

$$\text{nmoles/ml} = 0,015501068$$

$$\text{Copias/ml} = 9,34 \times 10^{12}$$

5

Se generó una curva patrón a partir del número de copias del amplicón puro, corriendo diluciones de 10^8 a 10^3 del amplicón usando una PCR en tiempo real. La composición de la premezcla de PCR en tiempo real y el programa de PCR son tal como se facilitan en las tablas 3 y 4.

A partir del Ct obtenido de la curva patrón, figura 6, puede calcularse el número de copias para muestras desconocidas, figura 6 y tabla 7.

Tabla 7: valores de la curva patrón con respecto al Ct

Número de muestra	Ct	Copias/ml
1	20,6	1×10^8
2	23,7	1×10^7
3	28,3	1×10^6
4	31,3	1×10^5
5	34,2	1×10^4
6	37,1	1×10^3

10

Conclusión

15

a) Ninguna de las muestras negativas mostró falso positivo con las sondas de oligonucleótidos denominadas SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2.

20

b) El oligonucleótido de SEQ ID No. 1, que se diseña para el gen de superficie del VHB, mostró buena especificidad y sensibilidad (100%). De las 10 muestras positivas 9 se reconocieron antes que con el kit convencional comercial, tabla 5.

25

c) El oligonucleótido de SEQ ID No. 2, que se diseña para el gen X del VHB, también reconoció los 10 positivos mostrando una especificidad al 100%. De las 10 muestras positivas 2 se reconocieron antes que el kit convencional comercial, tabla 6.

d) Basándose en los estudios de evaluación global, se consideró que SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 eran los mejores para la detección del VHB con respecto a con los kits comerciales.

PERU

15

e) Finalmente las sondas de oligonucleótidos denominadas SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2 pueden usarse para cuantificar la carga viral en una muestra infectada.

37

PERU 16

LISTA DE SECUENCIAS

	<110> Bigtec Private Limited	
5	<120> Sondas de oligonucleótidos y cebadores para la detección del virus de la hepatitis B	
	<130> PCT0940	
10	<150> 314/CHE/2009	
	<151> 13-02-2009	
	<160> 6	
15	<170> PatentIn versión 3.5	
	<210> 1	
	<211> 27	
	<212> ADN	
20	<213> Virus de la hepatitis B	
	<400> 1	
	cctcagtcgcg tttctctctgg ctcagtt	27
	<210> 2	
25	<211> 19	
	<212> ADN	
	<213> Virus de la hepatitis B	
	<400> 2	
	ccccttcttc gtctgcgcg	19
30	<210> 3	
	<211> 20	
	<212> ADN	
	<213> Virus de la hepatitis B	
35	<220>	

38

PERU

17

<221> cebador_unión

<222> (1)..(20)

<400> 3

tgcacctgta ttcccatccc

20

5

<210> 4

<211> 26

<212> ADN

<213> Virus de la hepatitis B

10

<220>

<221> cebador_unión

<222> (1)..(26)

<400> 4

ccacatcata catataactg aaagcc

26

15

<210> 5

<211> 16

<212> ADN

<213> Virus de la hepatitis B

20

<220>

<221> cebador_unión

<222> (1)..(16)

<400> 5

cgtcggcgct gaatcc

16

25

<210> 6

<211> 18

<212> ADN

<213> Virus de la hepatitis B

30

<220>

<221> cebador_unión

<222> (1)..(18)

<400> 6

gaagcgaagt gcacacgg

18

35

REIVINDICACIONES

1. Sondas oligonucleotídicas de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2.
2. Las sondas como se reivindican en la reivindicación 1, en donde las citadas sondas son sondas con marcaje doble.
3. Las sondas como se reivindican en la reivindicación 1, en donde las citadas sondas detectan el virus de la hepatitis B.
4. Las sondas como se reivindican en la reivindicación 1, en donde las citadas sondas se conjugan con marcadores detectables que tienen un fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en una región interna o en el extremo 3'.
5. Las sondas como se reivindican en la reivindicación 1, en donde la SEQ ID No. 1 se diseña para el gen de superficie del virus de la hepatitis B y la SEQ ID No. 2 se diseña para la región del gen X del virus de la hepatitis B.
6. Los cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6.
7. Los cebadores como se reivindican en la reivindicación 6, en donde los citados cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 5 son cebadores codificantes y SEQ ID No. 4 y SEQ ID No. 6 son cebadores no codificantes, respectivamente.
8. Los cebadores como se reivindican en la reivindicación 6, en donde los citados cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 4 son para la sonda con marcaje doble de SEQ ID No. 1 y los cebadores de SEQ ID No. 5 y SEQ ID No. 6 son para la sonda con marcaje doble de SEQ ID No. 2.
9. Una mezcla de reacción de PCR para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo dicha mezcla reactivos de amplificación de ácido nucleico, sondas con marcaje doble expuestas en SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, los cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, 5, 6 y una muestra de prueba.

10. La mezcla de reacción de PCR como se reivindica en la reivindicación 9, en donde la citada muestra se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.
11. El método como se reivindica en la reivindicación 11, en donde la citada PCR es PCR en tiempo real.
12. Un método para detectar el virus de la hepatitis B, comprendiendo el citado método los pasos de:
 - (a) formar una mezcla de reacción que comprende reactivos de amplificación de ácido nucleico, una sonda oligonucleotídica de SEQ ID No. 1 o SEQ ID No. 2 con los cebadores correspondientes de SEQ ID Nos. 3 y 4 o SEQ ID Nos. 5 y 6 respectivamente, una muestra de prueba; y
 - (b) someter la mezcla de reacción a PCR para obtener copias de la secuencia diana seguida por la medición del aumento de la señal de fluorescencia para detectar el virus de la hepatitis B.
13. El método como se reivindica en la reivindicación 12, en donde las citadas sondas se conjugan con marcadores detectables que tienen un fluoróforo en el extremo 5' y un extintor en una región interna o en el extremo 3'.
14. El método como se reivindica en la reivindicación 12, en donde los citados cebadores de SEQ ID No. 3 y SEQ ID No. 5 son cebadores codificantes y SEQ ID No. 4 y SEQ ID No. 6 son cebadores no codificantes, respectivamente.
15. El método como se reivindica en la reivindicación 12, en donde la citada muestra de prueba se selecciona de un grupo que comprende sangre, suero y plasma.
16. El método como se reivindica en la reivindicación 12, en donde los citados reactivos de amplificación incluyen cloruro de magnesio, Taq polimerasa y amortiguador para amplificación.

17. El método como se reivindica en la reivindicación 12, en donde la citada detección es de naturaleza cualitativa o cuantitativa.
18. El método como se reivindica en la reivindicación 13, en donde el citado fluoróforo se selecciona de un grupo que comprende fluoresceína y derivados de fluoresceína FAM, VIC, JOE, ácido 5-(2'-aminoetil)aminonaftaleno-1-sulfónico, cumarina y derivados de cumarina, amarillo Lucifer, rojo Texas, tetrametilrrodamina, 6-carboxifluoresceína, tetracloro-6-carboxifluoresceína, 5-carboxirrodamina y colorantes de cianina.
19. El método como se reivindica en la reivindicación 13, en donde el citado extintor se selecciona de un grupo que comprende tetrametilrrodamina [TAMRA], ácido 4'-(4-dimetilaminofenilazo)benzoico, 4-dimetilaminofenilazofenil-4'-maleimida, tetrametilrrodamina, carboxitetrametilrrodamina y colorantes BHQ.
20. El método como se reivindica en las reivindicaciones 18 y 19, en donde el citado fluoróforo es preferiblemente 6-carboxifluoresceína en el extremo 5' y el citado extintor es preferiblemente tetrametilrrodamina en el extremo 3' o extintor 1 Black Hole [BHQ1] en la región interna o en el extremo 3'.
21. Un kit para la detección del virus de la hepatitis B, comprendiendo el citado kit sondas con marcaje doble de SEQ ID No. 1 y SEQ ID No. 2, individualmente o en combinación; un par correspondiente de cebadores de SEQ ID Nos. 3, 4, y 5, 6, individualmente o en combinación y reactivos de amplificación.
22. El método como se reivindica en la reivindicación 21, en donde los citados reactivos de amplificación incluyen cloruro de magnesio, Taq polimerasa y amortiguador para amplificación.

PERU

RESUMEN

La presente descripción proporciona un método para la
detección y cuantificación del virus de la hepatitis B. Da a
conocer sondas de oligonucleótidos expuestas en SEQ ID Nos. 1
y 2 para la detección del virus de la hepatitis B junto con
sus respectivos cebadores [sentido y antisentido] expuestos en
SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6. También proporciona una mezcla de
reacción de PCR para la detección del virus de la hepatitis B
y un kit para la detección del VHB que comprende dicha mezcla
junto con un paquete de instrucciones.

PERU

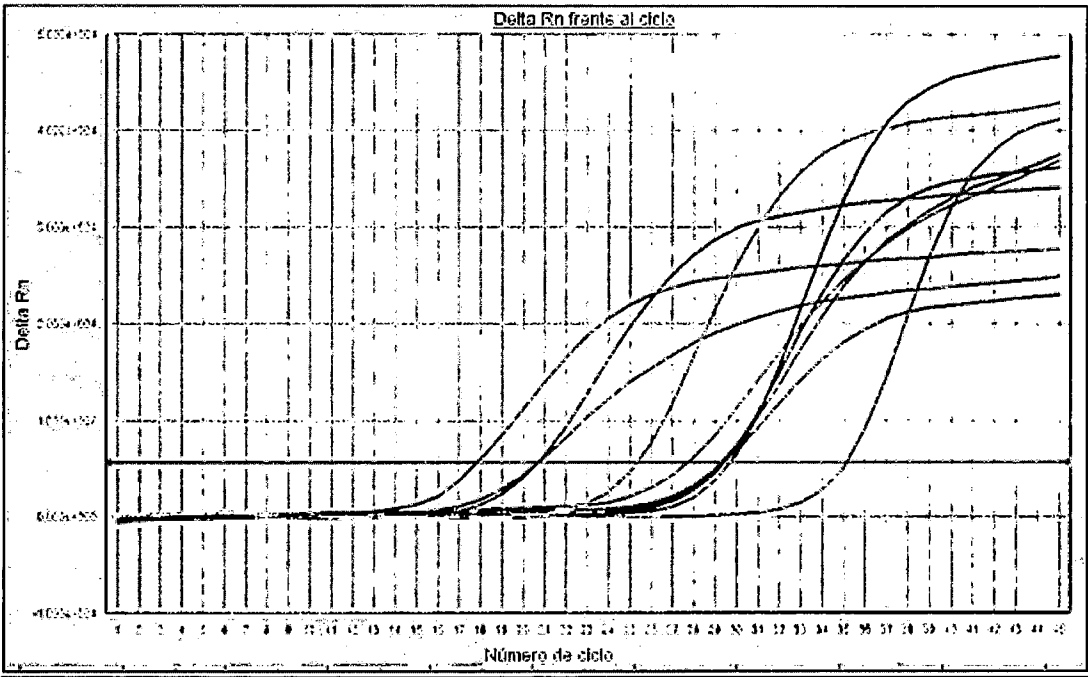


Figura 1

5

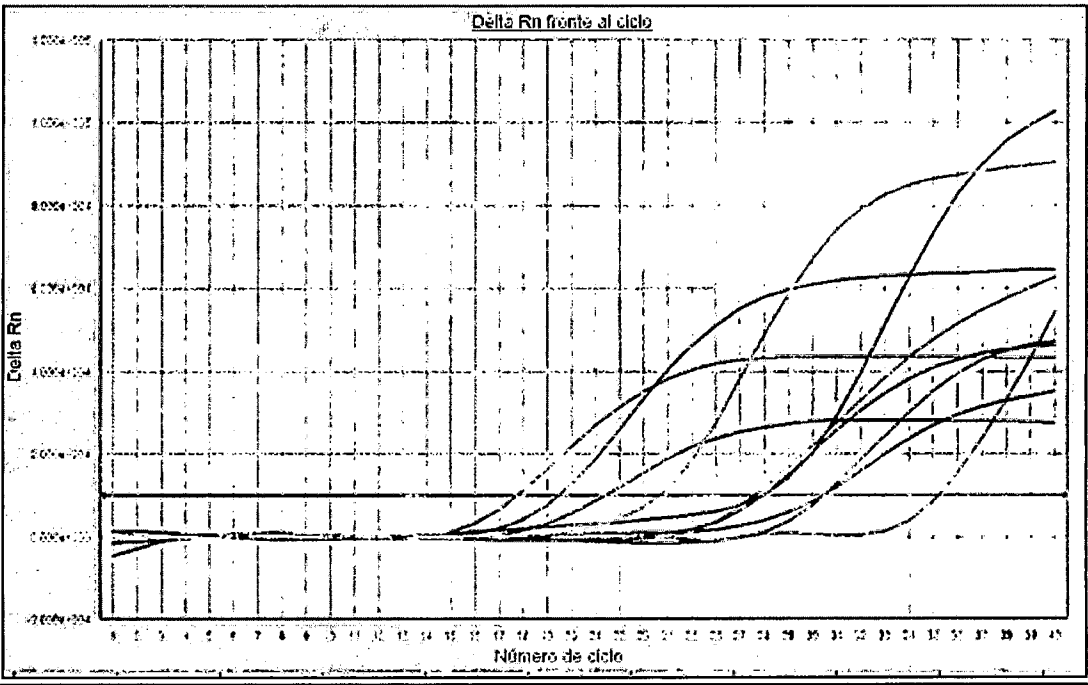


Figura 2

PERU

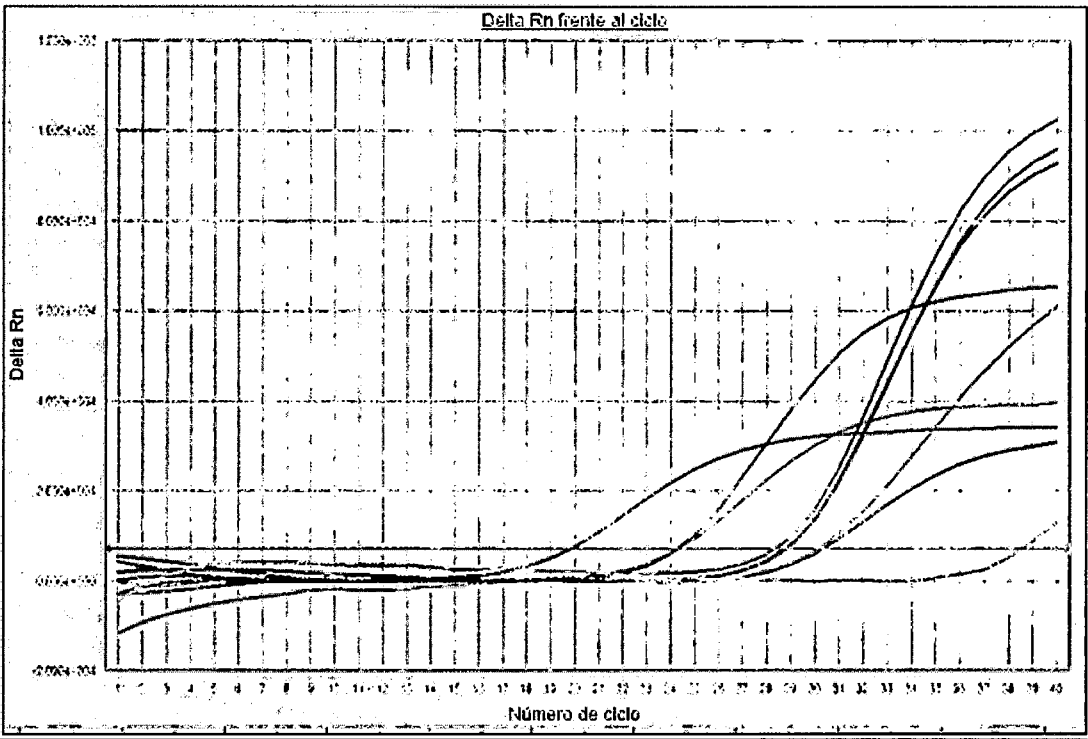


Figura 3

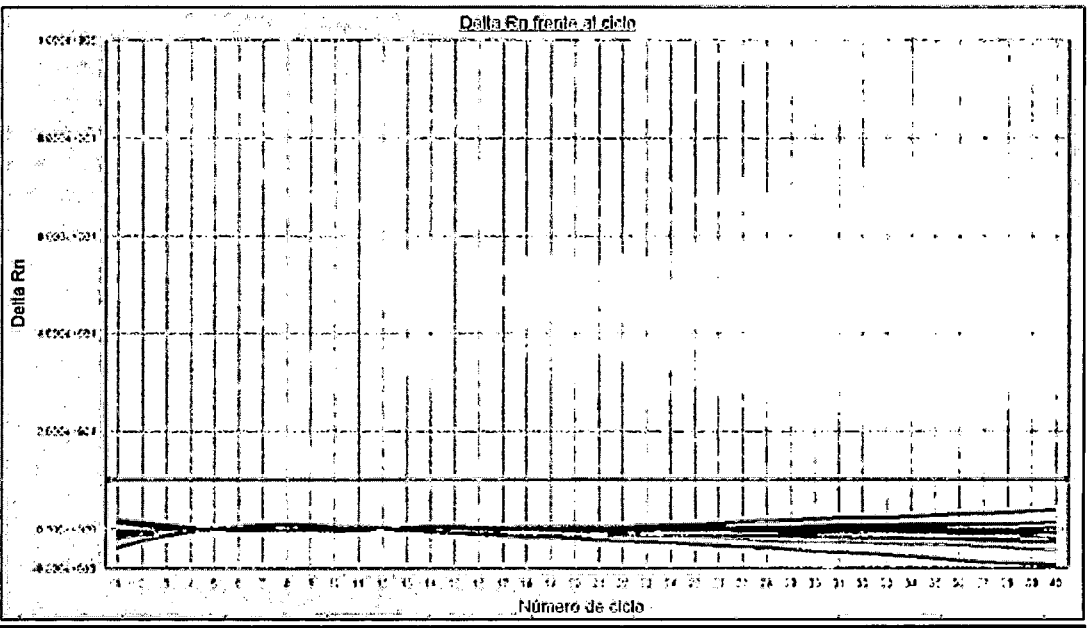


Figura 4

PERU

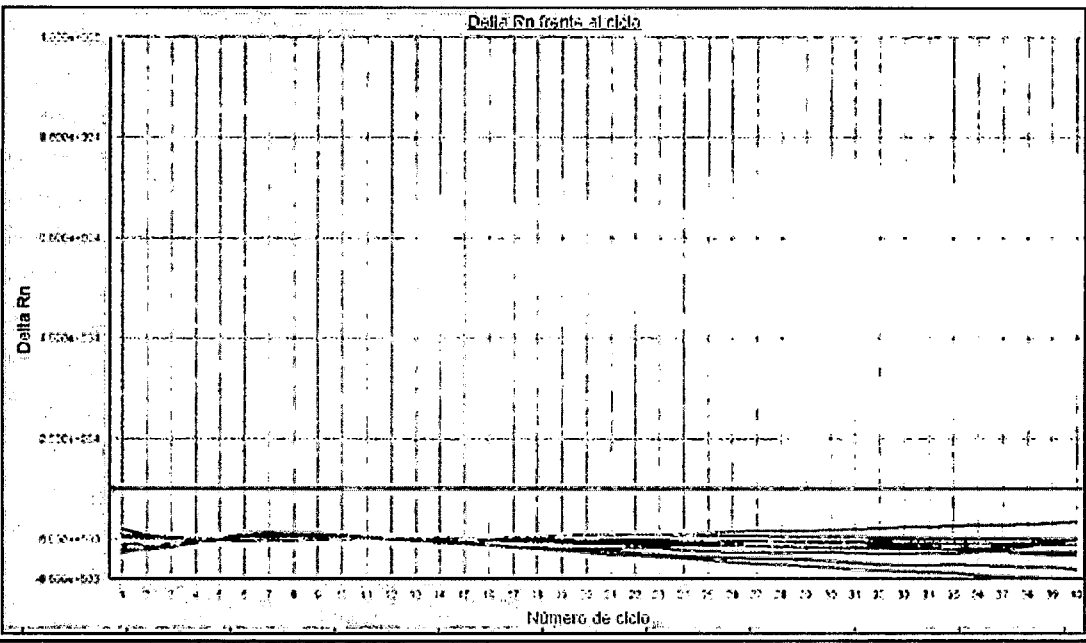


Figura 5

5

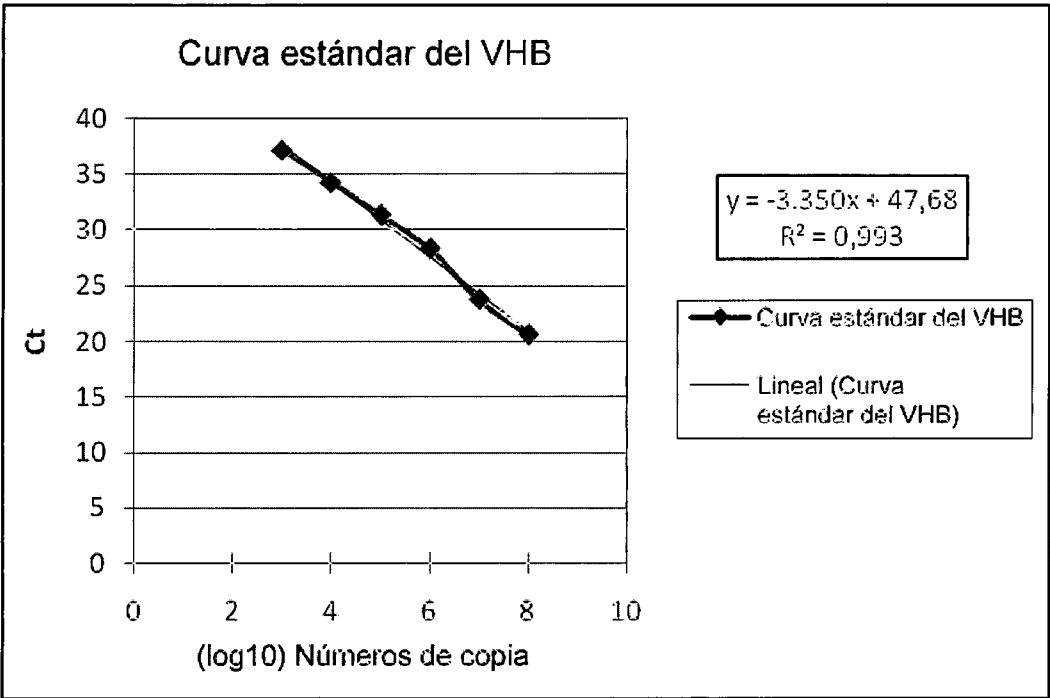


Figura 6

46

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IN2010/000048

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int. Cl. C12Q 1/68 (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) GenomeQuest search of SEQ ID Nos: 1-6		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2003/031934 A2 (CHIRON CORPORATION), 17 April 2003 (p.14 l.15-27, p.16 l.3-18, p.25 l.1-25)	1-22
X	WO 2007/033444 A2 (K.U. LEUVEN RESEARCH AND DEVELOPMENT), 29 March 2007 (p. 41 l.30-p. 42 l.8)	1-22
X	Abe A. et al. Quantitation of hepatitis B virus genomic DNA by real-time detection PCR. Journal of Clinical Microbiology, 1999, vol. 37, no. 9, pp. 2899-2903 (Abstract, section Material and Methods Oligonucleotides Primers and Probes)	1-22
P, X	WO 2009/122422 A1 (BIGTEC PRIVATE LIMITED), 8 October 2009 (the whole document, e.g. p.6 1 st paragraph-p.7 1 st paragraph)	1-22
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C ☒ See patent family annex		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underact and the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 03 June 2010		Date of mailing of the international search report 04 AUG 2010
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaaustralia.gov.au Facsimile No. +61 2 6283 7999		Authorized officer GUSTAVO GUALTIERI, Ph.D. AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No : (02) 6283 2736

47

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.
PCT/IN2010/000048

This Annex lists the known "A" publication level patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent Document Cited in Search Report			Patent Family Member		
WO	03031934	EP	1451352	US	2003143527
WO	2007033444	AU	2006294358	CA	2623351
		US	2009042793	EP	1937256
WO	2009122422	NONE			
Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001.					
END OF ANNEX					

48

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY
(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PCT0940	FOR FURTHER ACTION	See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/IN2010/000048	International filing date (<i>day/month/year</i>) 27 January 2010	Priority date (<i>day/month/year</i>) 13 February 2009
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC Int. Cl. C12Q 1/68 (2006.01)		
Applicant BIGTEC PRIVATE LIMITED et al		

1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of 3 sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets which supersede earlier sheets, but which this Authority considers contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box. b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in electronic form only, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3bis of Annex C of the Administrative Instructions). 4. This report contains indications relating to the following items: <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 10%;">☒</td> <td style="width: 15%;">Box No. I</td> <td>Basis of the report</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Box No. II</td> <td>Priority</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Box No. III</td> <td>Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Box No. IV</td> <td>Lack of unity of invention</td> </tr> <tr> <td>☒</td> <td>Box No. V</td> <td>Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Box No. VI</td> <td>Certain documents cited</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Box No. VII</td> <td>Certain defects in the international application</td> </tr> <tr> <td>☐</td> <td>Box No. VIII</td> <td>Certain observations on the international application</td> </tr> </table>	☒	Box No. I	Basis of the report	☒	Box No. II	Priority	☐	Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability	☐	Box No. IV	Lack of unity of invention	☒	Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement	☐	Box No. VI	Certain documents cited	☐	Box No. VII	Certain defects in the international application	☐	Box No. VIII	Certain observations on the international application	
☒	Box No. I	Basis of the report																							
☒	Box No. II	Priority																							
☐	Box No. III	Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability																							
☐	Box No. IV	Lack of unity of invention																							
☒	Box No. V	Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement																							
☐	Box No. VI	Certain documents cited																							
☐	Box No. VII	Certain defects in the international application																							
☐	Box No. VIII	Certain observations on the international application																							

Date of submission of the demand 28 September 2010	Date of completion of this report 11 April 2011
Name and mailing address of the IPEA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA E-mail address: pct@ipaustralia.gov.au Facsimile No. +61 2 6283 7999	Authorized Officer GUSTAVO GUALTIERI, Ph.D. AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. +61 2 6283 2736

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/IN2010/000048

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the language, this report is based on:

- ☒ The international application in the language in which it was filed
- ☐ A translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of:
- ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1 (b))
- ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
- ☐ international preliminary examination (Rules 55.2(a) and/or 55.3(a))

2. With regard to the elements of the international application, this report is based on (replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report):

☐ the international application as originally filed/furnished

☒ the description:

pages 1-12 as originally filed/furnished

pages* received by this Authority on _____ with the letter of _____

pages* received by this Authority on _____ with the letter of _____

☒ the claims:

pages as originally filed/furnished

pages* as amended (together with any statement) under Article 19

pages* 15-17 received by this Authority on 24 February 2011 with the letter of 24 February

2011

pages* received by this Authority on _____ with the letter of _____

☒ the drawings:

pages 1/3-3/3 as originally filed/furnished

pages* received by this Authority on _____ with the letter of _____

pages* received by this Authority on _____ with the letter of _____

☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.

3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages

☐ the claims, Nos.

☐ the drawings, sheets/figs

☐ the sequence listing (specify):

4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)).

☐ the description, pages

☐ the claims, Nos.

☐ the drawings, sheets/figs

☐ the sequence listing (specify):

5. ☐ This report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 70.2(e)).

6. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) _____ have been received and taken into account in drawing up this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded."

50

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/IN2010/000048

Box No. II Priority

- 1. ☐ This report has been established as if no priority had been claimed due to the failure to furnish within the prescribed time limit the requested:
 - ☐ copy of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(a)).
 - ☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 66.7(b)).

- 2. ☐ This report has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rule 64.1). Thus for the purposes of this report, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

- 3. Additional observations, if necessary:

The priority date has been assessed and is found to be valid.

51

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/IN2010/000048

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims 1-22	YES
	Claims NONE	NO
Inventive step (IS)	Claims 1-22	YES
	Claims NONE	NO
Industrial applicability (IA)	Claims 1-22	YES
	Claims NONE	NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The following documents cited in the International Search Report (ISR) were used for the purpose of this report:

- D1: WO 2003/031934 A2 (CHIRON CORPORATION), 17 April 2003
- D2: WO 2007/033444 A2 (K.U. LEUVEN RESEARCH AND DEVELOPMENT), 29 March 2007
- D3: Abe A. et al. Journal of Clinical Microbiology, 1999, vol. 37, no. 9, pp. 2899-2903
- D4: WO 2009/122422 A1 (BIGTEC PRIVATE LIMITED), 8 October 2009. This citation was considered P, X by in the ISR/ISO; however, it is no longer considered relevant.

The present invention is directed to a method of detecting Hepatitis B Virus (HVB) in a test sample such as blood, serum, or plasma, comprising a PCR amplification reaction (e.g. as in the TaqMan technique) comprising probe SEQ ID NO: 1 designated for the surface gene of HBV in combination with primers SEQ ID Nos: 3 and 4, or probe SEQ ID NO: 2 designated for the X-gene region of HBV in combination with SEQ ID Nos: 5 and 6; wherein said probes comprise a fluorophore (e.g. FAM) at the 5' end and a quencher (e.g. TAMRA) in an internal region or at the 3' end; and the invention is also directed to said probes and primers as well as to a kit for the detection of HBV.

D1 discloses a method of detecting HVB in a test sample such as blood, serum, or plasma, comprising a PCR amplification reaction such as in the TaqMan technique, wherein said reaction can comprise the 22 nucleotide-long primer SEQ ID NO: 7 which reverse complement comprises 18 nucleotides 100% identical to present 18 nucleotide-long primer SEQ ID NO: 6 used to amplify the X-gene (see p.14 l.15-27, p.16 l.3-18, p.25 l.1-25).

D2 discloses a method of detecting HVB in a culture supernatant, comprising a real time quantitative PCR (Q-PCR) amplification reaction such as in the TaqMan technique, wherein said reaction comprises a forward and a reverse primer pair in combination with a 26 nucleotide long Taqman probe (SEQ ID NO: 3) comprising a 5' FAM fluorophore and a 3' TAMRA quencher (see p. 41 l.30-p. 42 l.8). It is noted that said probe comprises 18 continuous nucleotides that are 100% identical to preset primer SEQ ID NO: 6 used to amplify the X-gene.

D3 discloses a method of detecting HVB in serum samples, comprising a real time quantitative PCR based on the Taq Man chemistry, wherein said reaction comprises a forward and a reverse primer pair for amplification of segments of the HBV surface gene or the X gene, in combination with corresponding Taqman probes, wherein a reporter dye (6-carboxy-fluorescein) is attached to the 5' end of said probe whereas a quencher dye (6-carboxy-tetramethyl-rhodamine) is attached to the 3' end of said probe (see Abstract, section Material and Methods Oligonucleotides Primers and Probes).

Continued in Supplemental Box I

52

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/IN2010/000048

Supplemental Box Relating to Sequence Listing

Continuation of Box No. I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☒ on paper
 - ☐ in electronic form
 - b. (time)
 - ☒ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search and/or examination
 - ☐ to this Authority as an amendment* on
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

The PCT request indicates that an electronic copy of the sequence listing was filed with the receiving office; however, this copy was not provided to the International Search Authority. An electronic sequence listing accompanied the Demand on 28 September 2010, but was not used for the purpose of this report.

* If item 4 in Box No. I applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."

53

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

International application No.
PCT/IN2010/000048

Supplemental Box I

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: Box No. V

NOVELTY (N)

Claims 1-22 meet the requirements of PCT Article 33(2) with regard to novelty because the cited art does not disclose a method of detecting Hepatitis B Virus (HVB) comprising a PCR amplification reaction comprising the instant probe SEQ ID NO: 1 in combination with the instant primers SEQ ID Nos: 3 and 4, or the instant probe SEQ ID NO: 2 in combination with the instant primers SEQ ID NOs: 5 and 6; and does not disclose the instant probe and/or primer sequences, and kits thereof, of the present invention.

INVENTIVE STEP (IS)

Claims 1-22 meet the requirements of PCT Article 33(3) with regard to inventive step because considering the cited art, alone or in combination, it would not be obvious to a person skilled in the art (PSA), a method of detecting Hepatitis B Virus (HVB) comprising a PCR amplification reaction comprising the instant probe SEQ ID NO: 1 in combination with the instant primers SEQ ID Nos: 3 and 4, or the instant probe SEQ ID NO: 2 in combination with the instant primers SEQ ID NOs: 5 and 6; and it would also not be obvious to a PSA the instant probe and/or primer sequences, and kits thereof, of the present invention.

INDUSTRIAL APPLICABILITY (IA)

The invention defined in claims 1-22 is considered to meet the requirement of PCT Article 33(4) with regards to industrial applicability, because it can be made by, or used in, industry.

54

We claim:

- 1) Oligonucleotide probes as set forth in SEQ ID No. 1 or SEQ ID No. 2.
- 2) The probes as claimed in claim 1, wherein said probes are dual labeled probes.
- 5 3) The probes as claimed in claim 1, wherein said probes detect Hepatitis B Virus.
- 4) The probes as claimed in claim 1, wherein said probes are conjugated with detectable labels having fluorophore at 5' end and a quencher in an internal region or at 3' end.
- 10 5) The probes as claimed in claim 1, wherein the SEQ ID No. 1 is designated for surface gene of Hepatitis B virus and SEQ ID No. 2 is designated for X-gene region of Hepatitis B virus.
- 6) Primers as set forth in SEQ ID Nos. 3, 4, 5 or 6.
- 7) The primers as claimed in claim 6, wherein said primers of SEQ ID No.3 and SEQ ID No.5 are sense and SEQ ID No.4 and SEQ ID No.6 are anti sense primers respectively.
- 15 8) The primers as claimed in claim 6, wherein said primers of SEQ ID No.3 and SEQ ID No.4 are for dual labeled probe of SEQ ID No. 1 and primers of SEQ ID No.5 and SEQ ID No.6 are for dual labeled probe of SEQ ID No. 2.
- 20 9) A PCR reaction mixture for detection of Hepatitis B Virus, said mixture comprising nucleic acid amplification reagents, dual labeled probes as set forth in SEQ ID No. 1 or SEQ ID No.2, corresponding primers as set forth in SEQ ID Nos. 3 and 4 or SEQ ID Nos. 5 and 6 respectively, and test sample.
- 10) The PCR reaction mixture as claimed in claim 9, wherein said sample is selected from a group comprising blood, serum and plasma.
- 25 11) The PCR reaction mixture as claimed in claim 10, wherein said mixture is used in real time PCR.
- 12) A method of detecting Hepatitis B Virus, said method comprising steps of:
 - (a) forming a reaction mixture comprising nucleic acid amplification reagents, oligonucleotide probe as set forth in SEQ ID No. 1 or SEQ ID No.2 with
30 corresponding primers as set forth in SEQ ID Nos. 3 and 4 or SEQ ID Nos. 5 and 6 respectively, a test sample; and

16

(b) subjecting the reaction mixture to PCR to obtain copies of the target sequence followed by measuring the increase in fluorescence signal for detecting the Hepatitis B Virus.

- 13) The method as claimed in claim 12, wherein said probes are conjugated with detectable labels having fluorophore at 5' end and a quencher in an internal region or at 3' end.
- 14) The method as claimed in claim 12, wherein said primers of SEQ ID No.3 and SEQ ID No.5 are sense and SEQ ID No.4 and SEQ ID No.6 are anti sense primers respectively.
- 15) The method as claimed in claim 12, wherein said test sample is selected from a group comprising blood, serum and plasma.
- 16) The method as claimed in claim 12, wherein said amplification reagents include magnesium chloride, Taq polymerase and buffer for amplification.
- 17) The method as claimed in claim 12, wherein said detection is qualitative or quantitative in nature.
- 18) The method as claimed in claim 13, wherein said fluorophore is selected from a group comprising fluorescein and fluorescein derivatives FAM, VIC, JOE, 5-(2'-aminoethyl)aminonaphthalene-1-sulphonic acid, coumarin and coumarin derivatives, lucifer yellow, texas red, tetramethylrhodamine, 6-Carboxy Fluorescein, tetrachloro-6-carboxyfluorescein, 5-carboxyrhodamine and cyanine dyes.
- 19) The method as claimed in claim 13, wherein said quencher is selected from a group comprising Tetra Methyl Rhodamine [TAMRA], 4'-(4-dimethylaminophenylazo)benzoic acid, 4-dimethylaminophenylazophenyl-4'-maleimide, tetramethylrhodamine, carboxytetramethylrhodamine and BHQ dyes.
- 20) The method as claimed in claims 18 and 19, wherein said fluorophore is preferably 6-Carboxy Fluorescein at 5' end and said quencher is preferably tetra methyl rhodamine at 3' end or Black hole quencher 1 [BHQ1] in the internal region or at the 3' end.
- 21) A kit for detection of Hepatitis B Virus, said kit comprising dual labeled probes as set forth in SEQ ID No. 1 and SEQ ID No. 2, individually or in combination;

56

DI/PA-1541

PCT/IN2010/000048
Received 24 February 2011

17

corresponding pair of primers as set forth in SEQ ID Nos. 3, 4, and 5, 6, individually or in combination and amplification reagents.

22) The kit as claimed in claim 21, wherein said amplification reagents include magnesium chloride, Taq polymerase and buffer for amplification.

5

10

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: C12Q 001/068	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) BIGTEC PRIVATE LIMITED	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 00314/CHE/2009	(32) Fecha 13/02/2009	(33) País IN
		(72) Inventor(es) MANJULA JAGANNATH Y OTROS	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(35)	Fecha limite inicio fase nacional:	13/09/2011	
(36)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		(37) Publicación internacional
	Fecha de presentación de la solicitud:	19/08/2010	
	No. de solicitud PCT/IN2010/000048	N° publicación: WO 2010/092595 A3	
(54) Título: SONDAS DE OLIGONUCLEÓTIDOS Y CEBADORES PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B			

Resumen:

La presente descripción proporciona un método para la detección y cuantificación del virus de la hepatitis B. Da a conocer sondas de oligonucleótidos expuestas en SEQ ID Nos. 1 y 2 para la detección del virus de la hepatitis B junto con sus respectivos cebadores [sentido y antisentido] expuestos en SEQ ID Nos. 3, 4, 5 y 6. También proporciona una mezcla de reacción de PCR para la detección del virus de la hepatitis B y un kit para la detección del VHB que comprende dicha mezcla junto con un paquete de instrucciones.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

58



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0078912

Bogotá D.C., Agosto 16 de 2011 - 17:18:01

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 960.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VF PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411764091	16/08/2011	55.696.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. REUTISTICO	CONCEPTO	VL. UUDITARIO	VL. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	571.000.00	571.000.00
			<u>\$571.000.00</u>

SON: **QUINIENTOS SETENTA Y UN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-108508- -00000-0000

Fecha: 2011-08-25 12:29:56
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR. NUEVAS CR
Eva 379 FASE NACIONAL II
Folios: 58

Cow: 17626-541-CCB-0

Sede: Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C. - Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Comunicador: (571) 5370000 Fax: (571) 5370224 Línea: 015000-910165 Call Center: (571) 6513240

Agosto 16 de 2011 - 17:18:11

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

- / -



RECIBO DE CAJA

No. 11 - 0073922

Bogotá D.C., Agosto 02 de 2011 - 07:43:46

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	411764150	01/08/2011	41.188.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. JUDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	113 PTC CAP-I EXAMEN DE PATENTIBILIDAD DE MODELO DE UTILIDA	324.000.00	324.000.00
				\$324.000.00

SON: **TRESCIENTOS VEINTICUATRO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 11-108508-00000-0000

Fecha: 2011-08-25 12:29:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 58

COW: 17626-841-003-0

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5370000 Fax: (571) 5370334 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Agosto 2 de 2011 - 07:44:03

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILID

☐ Indicación que se solicita una patente.

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Descripción de la invención

☐ Dibujos de ser estos pertinentes

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐ Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒ Indicación que se solicita una PCT

☒ Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☒ Dibujos de ser estos pertinentes

☒ Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☒ Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐ Indicación que se solicita Diseño industrial

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐ Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐ Representación gráfica de un esquema de trazado

☐ Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐ Incompleta ☐

Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
BIGTEC PRIVATE LIMITED

REFERENCIA	Radicación No.	11 108508
	Solicitud internacional	PCT/IN2010/000048
	Fecha inicio fase nacional	13/09/2011
	Trámite	11
	Evento	379
	Actuación	430
	Oficio No.	<u>Nº 15115</u>

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 28 literal f) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.



JOSE LUIS SALAZAR LOPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

23 SET. 2011

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____
adpa11