

ÁLVARO CASTELLANOS M. & CIA.
A B O G A D O S
Carrera 9 No. 93 - 09
A.A. 6349
Bogotá, D.C., COLOMBIA

402
424

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 04017803 00000002 Folios: 16
Fecha (AMD): 2004-06-09 15:24:34
Trámite : 011 PCT-PATENT 279 FASE NACI 329 COMPLETADO
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Señor

Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Desarrollo, Industria y Turismo

E. S. D.

Ref.: Expediente No. 04.017.803

Solicitud de Patente PCT entrada fase nacional para: "TOXINAS DE CRY3A MODIFICADAS Y SECUENCIAS DE ACIDO NUCLEICO QUE LAS MODIFICAN".

Solicitante: SYNGENTA PARTICIPATIONS AG.

PRESENTACION DEL EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, atentamente me permito presentar copia en inglés del examen preliminar internacional junto con su traducción simple al español.

En consecuencia, atentamente solicito a Ud. se anexe dicho documento al expediente correspondiente a esta solicitud de Patente de Invención.

Del Señor Jefe,


Margarita Castellanos Abondano
C.C. No. 39.779.654 de Usaquén
T.P.A. No. 70819 del C. Sup. de la Judicatura.
Carrera 9 No. 93 - 09 - Bogotá
Teléfonos: 810 74 80 y 810 74 60

Bogotá, 09 JUN. 2004
xgv/4916FNPT

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

SYNGENTA

by fax and post

RECEIVE

MAR 12 2004

SYNGENTA
PATENT DEPT (RTP, NC)

To:

HUSKISSON, Frank Mackie
SYNGENTA LIMITED
Intellectual Property Department
P.O. Box 3538
Bracknell
Berkshire, RG42 6YA
GRANDE BRETAGNE

ATTORNEY INITIALS

Greg Warren

9 MAR 2004

SCANNED ALL

PAGES

Date of mailing
(day/month/year)

12.03.2004

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Applicant's or agent's file reference
S-60065A

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/EP 02/09789International filing date (day/month/year)
02.09.2002Priority date (day/month/year)
31.08.2001Applicant
SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Sölberg, A

Tel. +49 89 2399-7348



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference S-60085A		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEA/416)	
International application No. PCT/EP 02/09789	International filing date (day/month/year) 02.09.2002	Priority date (day/month/year) 31.08.2001	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC C12N15/31			
Applicant SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.			
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 6 sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 807 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: I ☒ Basis of the opinion II ☐ Priority III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV ☐ Lack of unity of invention V ☒ Reasoned statement under Rule 66.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI ☐ Certain documents cited VII ☐ Certain defects in the international application VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 28.03.2003		Date of completion of this report 12.03.2004	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80289 Munich Tel. +49 89 2339 - 0 Tlx 523856 epmu d Fax +49 89 2339 - 4465		Authorized Officer Parascio, D Telephone No. +49 89 2339-5995 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/EP 02/09789**

45
427

Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application (*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 since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17)*):

Description, Pages

1-52 as originally filed

Claims, Numbers

1-105 as originally filed

Sequence listing part of the description, pages:

1-62, as originally filed

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
☒ filed together with the international application in computer readable form.
☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

406
476

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/EP 02/09789**

6. Additional observations, if necessary:

7. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-105
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-105
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-105
	No: Claims	

Citations and explanations
see separate sheet

Re Item V

Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1) The documents mentioned in this communication are numbered as in the search report, i.e. D1 corresponds to the first document of the International search report.

2) Novelty

The subject-matter of claims 1-105 has not been made available to the public by any of the available prior art documents and can therefore be regarded as novel.

3) Inventive Step: Article 33(3) PCT

The subject-matter of claims 1-105 of the present application cannot be considered as involving an inventive step (Article 33(3) PCT) for the following reasons.

The documents D1 or D2 are regarded as being the closest prior art to the subject-matter of claims 1-105.

D1 discloses methods for increasing the activity of *B. thuringiensis* δ -endotoxins against Coleopteran insects (such as rootworm). Cry3A, Cry3B, and Cry3C toxins are described in D1. D1 discloses a method of improving the insecticidal activity of a *B. thuringiensis* Cry3Bb δ -endotoxin, which comprises inserting one or more protease sensitive sites into one or more loop regions of domain 1 of the δ -endotoxin (see p. 33). Two of the designed CryBb proteins (Cry3Bb.60 and Cry3Bb.11221) were engineered by identification and alteration of protease-sensitive sites and proteolytic processing. It is also mentioned in D1 that treatment of Cry3A toxin protein with trypsin, yields a stable cleavage product of 55 kDa from the 67 kDa native protein. The truncated Cry3A protein was found to retain the same level of insecticidal activity as the native protein. Cry3Bb toxin protein was also treated with trypsin. Unexpectedly, the bioactivity of the truncated Cry3Bb toxin was found to increase. Using this method, protease digestion of a *B. thuringiensis* toxin protein, a proteolytically sensitive site was identified on Cry3Bb,

and a more highly active form of the protein (Cry3Bb. 60) was identified. Modifications to this proteolytically-sensitive site by introducing an additional protease recognition site also resulted in the isolation of a biologically more active protein (Cry3Bb. 11221). It is mentioned that Cry3Bb. 11221 is produced by *B. thuringiensis* as a full length toxin protein but is probably digested by insect gut proteases to the same size as Cry3Bb. 60 (see example 7). The additional protease recognition site may make the Ia3,4 region even more sensitive to digestion, thereby increasing activity. D1 also mentions that proteolytically sensitive regions, once identified, may be modified or utilized to produce biologically more active toxins.

D2 also discloses methods for increasing the activity of *B. thuringiensis* δ -endotoxins against Coleopteran insects (such as rootworm). Isolated Cry3Bb polypeptides were modified to have improved insecticidal activity. Cry3B endotoxins, nucleic acid sequences and transgenic plants expressing said genes are disclosed. D2 discloses a method of improving the insecticidal activity of a Cry3Bb endotoxin, which comprises inserting one or more protease sensitive sites into one or more loop regions of domain 1 of the endotoxin. (see column 18, example 7).

D3 discloses modified Cry proteins, particularly modified CryIIIA proteins, having significantly altered toxicity, and DNA sequences encoding these proteins. Analysis of solvent-accessible amino acid positions in domain II of the CryIIIA protein by alanine-scanning mutagenesis identified individual amino acids involved in corn rootworm toxicity. The modified CryIIIA proteins AAW34811-41 have increased toxicity to Coleopteran insects (eg. corn rootworm).

D5 discloses that the insecticidal activity and specificity of different *B. thuringiensis* δ -endotoxins depends not only on the amino acid sequence of the endotoxin but also differential proteolytic processing within larval guts can determine the activity and specificity of the toxin (see p. 531 and 539)

The IPEA is of the opinion that the addition of a protease recognition site to a CryA toxin is not inventive in view of D1 or D2. The documents disclose the addition of a protease recognition site to a CryB toxin. Introducing an additional protease recognition site resulted in the isolation of a biologically more active

429
431

protein. It would be obvious to the person skilled in the art, namely when the same result is to be achieved, to apply the methods according to D1 or D2 with corresponding effect to a CryA toxin polypeptide as in D3 in which CryIIIA proteins are modified to have increased toxicity.

3) Clarity: Article 6 PCT

The application contains an unacceptable number of claims. Therefore, the requirements of Article 6 PCT regarding conciseness of claims has not been met and a detailed examination of the claims is difficult until a reasonable number of claims is on file. In this context, the attention of the applicant is drawn to the fact that undue repetition of wording between one claim and another should be avoided by use of the dependent form and that the relationship between the claims should be clearly visible.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De: ADMINISTRACIÓN ENCARGADA DEL EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL

PCT

NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL
INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR
INTERNACIONAL

(Regla 71.1 del PCT)

A:

HUSKISSON, Frank Mackie
SYNGENTA LIMITED
Intellectual Property Department
P.O. Box 3538
Bracknell
Berkshire, RG42 6YA
GRAN BRETAÑA

Fax: 01344481112

Fecha de expedición
(día/mes/año) 12.03.2004Referencia del expediente del solicitante o del mandatario
S-60065A

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

Solicitud internacional N°

PCT/EP 02/09789

Fecha de presentación internacional
(día/mes/año)

02.09.2002

Fecha de prioridad (día/mes/año)

31.08.2001

Solicitante

SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.

1. Se notifica al solicitante que la Administración encargada del examen preliminar internacional ha emitido el informe de examen preliminar internacional para la solicitud internacional y se lo transmite adjunto, acompañado, si procede, de sus anexos.

2. Se transmite una copia del presente informe y, si procede, de sus anexos, a la Oficina Internacional para comunicación a todas las Oficinas elegidas.

3. Si alguna Oficina elegida lo exige, la Oficina Internacional realizará una traducción en inglés del informe (con exclusión de sus anexos) y la transmitirá a las Oficinas interesadas.

4. RECORDATORIO

Para iniciar la fase nacional ante cada Oficina elegida, el solicitante debe cumplir ciertos actos (presentación de traducción y pago de las tasas nacionales) en el plazo de 30 meses desde la fecha de prioridad (o más tarde por lo que respecta a ciertas Oficinas) (Artículo 39.1)) (véase también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional en el formulario PCT/IB/301).

Cuando debe entregarse una traducción de la solicitud internacional a una Oficina elegida, debe incluir la traducción de cualquier anexo del informe de examen preliminar internacional. Corresponde al solicitante preparar la traducción en cuestión y entregarla directamente a cada Oficina elegida interesada.

Para más amplios detalles en lo relativo a los plazos aplicables y las exigencias de las Oficinas elegidas, véase el Volumen II de la Guía del solicitante PCT.

El solicitante debe dirigir su atención al Artículo 33(5), el cual provee que los criterios de novedad, etapa inventiva y aplicabilidad industrial descritos en el Artículo 33(2) al (4) simplemente sirven los propósitos del examen preliminar internacional y que "cualquier Estado contratante podrá aplicar criterios adicionales o diferentes para decidir si la invención reivindicada es o no patentable en ese Estado" (ver también Artículo 27(5)). Tales criterios adicionales podrán relacionarse, por ejemplo, a exenciones de la patentabilidad, requisitos para permitir la divulgación, claridad y apoyo para las reivindicaciones.

Nombre y dirección postal de la Administración encargada del
examen preliminar internacional
Oficina de Patentes Europeas
D-80798 München
Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx: 52366 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Funcionario autorizado

Sülberg, A

N° de teléfono +49 89 2399-7548

Formulario PCT/IPEA/416 (enero 2004)

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia del expediente del solicitante o del mandatario S-60065A	PARA ACCIÓN Véase la notificación de transmisión del informe de examen preliminar internacional (formulario PCT/IPEA/416)	
Solicitud internacional N° PCT/EP 02/09789	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 02.09.2002	Fecha de prioridad (día/mes/año) 31.08.2001
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o a la vez clasificación nacional e IPC C12N15/31		
Solicitante SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.		

1. El presente informe de examen preliminar internacional, emitido por la Administración encargada del examen preliminar internacional, se transmite al solicitante conforme al Artículo 36. 2. Este INFORME comprende <u>6</u> hojas, incluida la presente hoja de portada. ☐ Está acompañado de ANEXOS, es decir, de hojas de la descripción, las reivindicaciones o los dibujos que han sido modificados y que sirven de base al presente informe o de hojas que contienen rectificaciones efectuadas ante la Administración encargada del examen preliminar internacional (véase la Regla 70.16 y la Instrucción 607 de las Instrucciones Administrativas del PCT). Esos anexos comprenden _____ hojas.
3. El presente informe contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes: I ☒ Base del informe II ☐ Prioridad III ☐ Falta de formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial IV ☐ Falta de unidad de la invención V ☒ Declaración motivada según la Regla 66.2 sobre la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración VI ☐ Ciertos documentos citados VII ☐ Defectos en la solicitud internacional VIII ☐ Observaciones relativas a la solicitud internacional

Fecha de presentación de la solicitud de examen preliminar internacional 28.03.2003	Fecha de finalización del presente informe 12.03.2004
Nombre y dirección postal de la Administración encargada del examen preliminar internacional Oficina de Patentes Europea D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 -4465	Funcionario autorizado Paresce, D N° de teléfono No. +49 89 2399-8995

Formulario PCT/IPEA/409 (hoja de portada) (enero 2004)

#32
434

**INFORME DE EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional N° PCT/EPO 02/09789

Base del Informe

1. Por lo que respecta a los elementos de la solicitud internacional (Las hojas de reemplazo entregadas a la Oficina receptora en respuesta a un requerimiento efectuado según el Artículo 14 se consideran en el presente informe como "inicialmente presentadas" y no se adjuntan como anexo al informe debido a que no contienen modificaciones (Reglas 70.16 y 70.17):

1.a descripción, Páginas

1-52, tal como se presentaron inicialmente

Las reivindicaciones, Números

1-105, tal como se presentaron inicialmente

1.a parte de la descripción reservada a la lista de secuencias, páginas:

1-62, tal como se presentaron inicialmente

2. Por lo que respecta al idioma, todos los elementos indicados a continuación estaban a disposición de la Administración o se le han entregado en el idioma de presentación de la solicitud internacional, salvo que en este punto se indique otra cosa.

Estos elementos estaban a disposición de la Administración o se le han entregado en el idioma siguiente: __ que es:

- ☐ el idioma de una traducción entregada a los fines de la búsqueda internacional (según la Regla 23.1.b))
- ☐ el idioma de publicación de la solicitud internacional (según la Regla 48.3.b))
- ☐ el idioma de la traducción entregada a los fines del examen preliminar internacional (según la Regla 55.2 o 55.3)

3. Por lo que respecta a las secuencias de nucleótidos o de aminoácidos divulgadas en la solicitud internacional, la opinión escrita se ha formulado sobre la base de la lista de secuencias:

- ☐ contenida en la solicitud internacional, en forma escrita
- ☐ presentada con la solicitud internacional, en forma legible por ordenador.
- ☐ entregada posteriormente a la Administración, en forma escrita.
- ☐ entregada posteriormente a la Administración, en forma legible por ordenador.
- ☐ Ha sido entregada la declaración, según la cual la lista de secuencias presentada por escrito y entregada posteriormente no va más allá de la divulgación contenida en la solicitud tal como fue presentada por escrito.

4. Las modificaciones han ocasionado la anulación:

- ☐ de la descripción, páginas:
- ☐ de las reivindicaciones, Nos.:
- ☐ de los dibujos, hojas:

5. ☐ El presente informe ha sido formulado como si no se hubiesen presentado (algunas) de las modificaciones, que se ha considerado que iban más allá de la exposición de la invención tal como fue presentada, como se indica en el recuadro suplementario (Regla 70.2.e))

(Toda hoja de reemplazo que contenga modificaciones de esta naturaleza debe indicarse en el punto 1 y adjuntarse al presente informe.)

Formulario PCT/IPEA/409 (enero de 2004)

14
11
11
11
11

435
435

**INFORME DE EXAMEN
PRELIMINAR INTERNACIONAL**

Solicitud Internacional No. PCT/EP 02/09789

6.. Observaciones adicionales, si es necesario:

V. Declaración motivada según el Artículo 35.(2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la posibilidad de aplicación industrial: citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Si: Reivindicaciones	1-105
	No: Reivindicaciones	
Actividad Inventiva (AI)	Si: Reivindicaciones	
	No: Reivindicaciones	1-105
Aplicación Industrial (AI)	Si: Reivindicaciones	1-105
	No: Reivindicaciones	

Citas y explicaciones

Ver hoja aparte

434
436

INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL – FOLIO SEPARAD

Solicitud internacional No.: PCT/EP02/09789

Re Item V

Declaración motivada según el Artículo 35(2) sobre la novedad, la actividad inventiva o aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de tal declaración

1) Los documentos mencionados en esta comunicación están numerados como en el informe de búsqueda, es decir D1 corresponde al primer documento del informe de búsqueda Internacional.

2) Novedad

El tema de las reivindicaciones 1-105 no ha sido puesto a disposición del público por ninguno de los documentos disponibles del arte previo y puede, por lo tanto, considerarse novedoso.

3) Actividad inventiva; Artículo 33(3) PCT

El tema de las reivindicaciones 1-105 de la presente solicitud no puede considerarse que implique una actividad inventiva (Artículo 33(3) PCT) por las siguientes razones:

Los documentos D1 o D2 se consideran el arte previo más cercano al tema de las reivindicaciones 1-105.

D1 revela métodos para aumentar la actividad de las δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* contra insectos coleópteros (tales como el gusano de la raíz). Las toxinas Cry3A, Cry3B y Cry3C se describen en D1, D1 revela un método para mejorar la actividad insecticida de una δ -endotoxina Cry3Bb de *B. thuringiensis*, que comprende insertar uno o más sitios sensibles a proteasas en una o más regiones de bucle del dominio 1 de la δ -endotoxina (ver pág. 33). Dos de las proteínas Cry3Bb (Cry3Bb.60 y Cry3Bb.11221) se diseñaron por ingeniería genética por identificación y alteración de sitios sensibles a proteasas y

procesamiento proteolítico. También se menciona en D1 que el tratamiento de la proteína tóxica Cry3A con tripsina da un producto de ruptura estable de 55 kDa a partir de la proteína nativa de 67 kDa. Se descubrió que la proteína truncada Cry3A retiene el mismo nivel de actividad insecticida que la proteína nativa. La proteína tóxica Cry3Bb también se trató con tripsina. Inesperadamente, se descubrió que la actividad biológica de la toxina truncada Cry3Bb aumentaba. Utilizando este método, la digestión con proteasas de una proteína tóxica de *B. thuringiensis*, se identificó un sitio sensible a la proteólisis sobre Cry3Bb, y se identificó una forma más altamente activa de la proteína (Cry3Bb. 60). Las modificaciones a este sitio sensible a la proteólisis por introducción de un sitio de reconocimiento de proteasas adicional dieron lugar al aislamiento de una proteína biológicamente más activa (Cry3Bb. 11221). Se menciona que Cry3Bb 11221 es producida por *B. thuringiensis* como proteína tóxica de extensión completa pero es digerida probablemente por proteasas intestinales de insectos al mismo tamaño de Cry3Bb. 60 (ver ejemplo 7). El sitio de reconocimiento de proteasas adicional puede tomar a la región la3,4 aún más sensible a la digestión, aumentando por ello la actividad. D1 también menciona que las regiones sensibles a la proteólisis, una vez identificadas, pueden modificarse o utilizarse para producir toxinas biológicamente más activas.

D2 también revela métodos para aumentar la actividad de δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* contra insectos coleópteros (tales como el gusano de la raíz). Los polipéptidos Cry3Bb aislados se modificaron para tener actividad insecticida mejorada. Se revelan endotoxinas Cry3B, secuencias de ácidos nucleicos y plantas transgénicas que expresan dichos genes. D2 revela un método para mejorar la actividad insecticida de una endotoxina Cry3Bb que comprende insertar uno o más sitios sensibles a proteasas en una o más regiones de bucle del dominio 1 de la endotoxina (ver columna 18, ejemplo 7).

D3 revela proteínas Cry modificadas, en particular proteínas CryIIIA modificadas, que poseen una toxicidad alterada de modo significativo, y secuencias de ADN que codifican estas proteínas. El análisis de posiciones de aminoácidos accesibles por solventes del dominio II de la proteína CryIIIA mediante mutagénesis de barrido de alanina, identificó aminoácidos individuales involucrados en la toxicidad del gusano de la raíz del maíz. Las proteínas CryIIIA modificadas AAW34811-41 han aumentado la toxicidad para con los insectos coleópteros (por ejemplo el gusano de la raíz del maíz).

D5 revela que la actividad insecticida y la especificidad de diferentes δ -endotoxinas de *B. thuringiensis* depende no sólo de la secuencia de aminoácidos de la endotoxina sino que también el procesamiento proteolítico diferencial dentro del intestino de las larvas puede determinar la actividad y especificidad de la toxina (ver págs. 531 y 539).

El IPEA es de la opinión que el agregado de un sitio de reconocimiento de proteasas a una toxina CryA no es inventivo en vista de D1 o D2. Los documentos revelan el agregado de un sitio de reconocimiento de proteasas a una toxina CryB. La introducción de un sitio de reconocimiento de proteasas adicional dio lugar al aislamiento de una proteína biológicamente más activa. Sería obvio para un experto en la técnica, en particular cuando ha de lograrse el mismo resultado, aplicar los métodos de acuerdo con D1 o D2 con el efecto correspondiente a un polipéptido tóxico CryA como en D3, en el cual se modifican proteínas CryIIIA para obtener una toxicidad aumentada.

3) Claridad: Artículo 6 PCT

La solicitud contiene un número inaceptable de reivindicaciones. Por ende, no se han cumplido los requisitos del Artículo 6 PCT concernientes al carácter conciso de las reivindicaciones y es difícil un examen detallado de las reivindicaciones hasta que un número razonable de reivindicaciones está en archivo. En este

~~437~~
439

contexto, se llama la atención al solicitante por el hecho de que debe evitarse la repetición indebida de palabras entre una reivindicación y otra mediante el uso de la forma dependiente, y que la relación entre las reivindicaciones debe ser claramente visible.