

Señor Jefe
Dirección de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-052194-A-00003-0000

Fecha: 2012-07-12 14:41:20 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 13

Referencia: Solicitud de Privilegio para patente para invención
Titular: The University of British Columbia y Universidad Autónoma de México
Invención: Método para aumentar la producción de polipéptidos en células patogénicas A/E através del factor ORF11/GR1A y células obtenidas
Expediente No. 06-052.194A
Asunto: Respuesta a requerimiento, oficio No 03117 del 29 de Febrero de 2012.

Yo, MÓNICA WOLF WASSERMAN, identificada con cédula de ciudadanía No. 51.711.267 de Bogotá y con Tarjeta Profesional de Abogado No. 46.034 expedida por el Consejo Superior de la Judicatura, actuando como apoderada de THE UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA y de la UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO, amablemente me permito dar respuesta al requerimiento formulado dentro del proceso de la referencia mediante Oficio No. 03117 del día 29 de Febrero de 2012, de la siguiente manera:

1. Reivindicaciones (Art. 30 D 486)

Para atender a las objeciones presentadas al capítulo de reivindicaciones, en primer lugar la solicitante presenta un nuevo capítulo de reivindicaciones como sustitutivo del anterior. En los argumentos siguientes se explica la modificación hecha al presente capítulo de reivindicaciones.

- 1.1. La reivindicación 1 ha sido modificada para especificar que los polipéptidos reclamados son "factores de virulencia". Como lo saben los versados en la materia, los factores de virulencia son aquellas moléculas requeridas para causar una enfermedad, que no son requeridos normalmente para la viabilidad de un microorganismo en situaciones que no son enfermedades. Como tal, los factores de virulencia se consideran útiles para provocar una respuesta inmune contra los microorganismos.
- 1.2. Con el objeto de atender a la objeción hecha con respecto al término "sustancialmente idéntico" que según su opinión no permite limitar ó definir la invención, aunque en la descripción se define de manera exacta lo que este término significa, se han modificado las reivindicaciones en donde aparece este término remplazándolo por el término "al menos 50% idéntico" de acuerdo con el lenguaje expresado en la descripción (Ver pag. 14, último párrafo) al definir el término "sustancialmente idéntico".
- 1.3. Con relación a la objeción en cuanto a si las reivindicaciones 1 y 2 se refieren a las SEQ ID 22 a 43 ó 22 y 43, le aclaro que debido a un error de transcripción se escribió "22 43" cuando debería ser "22 a 43" como se deriva de la PCT originalmente presentada. Las reivindicaciones han sido modificadas para corregir este error.
- 1.4. Con relación a la solicitud hecha por su Despacho en cuanto a caracterizar el sobrenadante del cultivo celular de la reivindicación 4, esta reivindicación ha sido modificada para indicar que el sobrenadante es derivado de una célula bacteriana,

una célula de levadura ó una célula de insecto, lo cual está soportado en la descripción (Pag. 10). De igual manera, para atender la objeción respecto de la reivindicación 42, esta ha sido modificada de manera que se elimina la palabra “extracto” y se deja simplemente “pared de célula micobacteriana”, aunque no se entiende con claridad la objeción.

- 1.5. Con respecto a la objeción hecha a la reivindicación 6 en cuanto a que agrega un segundo componente de proteína que según su Despacho no está soportado en la descripción, quiero invitar a su Despacho a verificar que todos los componentes de proteína están soportados en la descripción (Pag. 49).
- 1.6. Con respecto a la reivindicación 8 (y quizás la 9), se han modificado estas reivindicaciones para incorporar en estas lo recitado en la reivindicación 14 (es decir, que la mutación atenúa la virulencia) y la reivindicación 14 ha sido eliminada. Una persona versada en la materia es capaz de determinar las mutaciones que atenúan la virulencia, tal como se menciona para la proteína NleA en los ejemplos. El nuevo capítulo reivindicatorio propuesto aquí refleja estas modificaciones.
- 1.7. La reivindicación 14 ha sido eliminada.
- 1.8. Con respecto a la objeción hecha por su Despacho a los adyuvantes de reivindicación 23 que son inconsistentes con la descripción, quiero manifestarle que no estoy de acuerdo con su opinión y respetuosamente afirmo que todos los adyuvantes están soportados en la descripción (Pag. 56 y 57).
- 1.9. Con relación a la objeción hecha a las reivindicaciones 40 y 41, estas han sido eliminadas del capítulo de reivindicaciones que presento.
- 1.10. Respecto de la reivindicación 49, esta ha sido modificada para indicar que se trata de un método in vitro. Esto se refleja en el nuevo capítulo de reivindicaciones (por ejemplo, reivindicación 46).
- 1.11. Respecto de la objeción a la reivindicación 52, dicha reivindicación es clara para una persona versada en la materia, ya que una persona versada en la materia estaría en capacidad de obtener anticuerpos adecuados ya que muchos anticuerpos, tales como los anticuerpos policlonales, se obtienen sin tener ningún conocimiento de la estructura del anticuerpo, véase por ejemplo en la descripción (pág. 46).
- 1.12. Con respecto a la objeción planteada para la reivindicación 53, de igual manera una persona versada en la materia estaría en capacidad de determinar aquellas mutaciones que atenúan la virulencia, como se ha provisto para la proteína NleA en los ejemplos. Por eso no es necesario especificar algo que es entendible para una persona versada en la materia y que como tal lo puede efectuar y lograr utilizando sus conocimientos. Solicito de su Despacho que retire estas objeciones ya que no están fundadas.
- 1.13. Con respecto a la objeción planteada por su Despacho a la reivindicación 54, llamo su atención al hecho que lo que es importante es la identificación de las secuencias Nle como factores de virulencia. En la ausencia de tal identificación, no habría razón para creer que la escogencia de compuestos que atenúen la virulencia de un patógeno A/E sea exitosa. Así que la persona versada en la técnica se centraría en el tema específico.
- 1.14. Las reivindicaciones 65 y 66 han sido eliminadas y ya no están en el nuevo capítulo de reivindicaciones presentado.

Habiendo atendido las objeciones e inquietudes planteadas por su Despacho paso ahora a rebatir las objeciones a la patentabilidad.

2. Análisis de la patentabilidad.

Después de efectuada la búsqueda de antecedentes, su Despacho encontró los siguientes documentos:

D1 Hipotetical proteína Z6024 “Putative uncharacterized protein ECs1812” del 01/03/2002

D2 WO 02/053181 "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Vaccine" del 11/01/2002

D3 JP2002 355074 "Nucleic Acid Molecule and polypeptide specific to enteropathogenic *Escherichia coli* O 157:H7 and Method for using the same" del 24/01/2002,

Y con base en estos concluye que la presente invención no tiene nivel inventivo.

Con el objeto de mostrar que su conclusión es errada, respetuosamente le pido poner atención a los siguientes argumentos.

1. Rechazo de la reivindicación 1 y dependientes con base en D1 (Hypothetical protein Z6024)

Su Despacho afirma que D1 divulga la secuencia de SEQ ID NO: 24 y divulga secuencias con 81% u 89% idénticas a las SEQ ID Nos: 22 y 23. Su despacho reconoce que la diferencia entre D1 y la presente invención es que las presentes reivindicaciones están dirigidas a una composición farmacéutica mientras que D1 informa la secuencia del polipéptido. Sin embargo, su Despacho afirma que la necesidad de una composición es evidente.

De manera respetuosa, la solicitante manifiesta estar en desacuerdo con su Despacho. La presente solicitud muestra, por la primera vez, que los polipéptidos NleA (SEQ ID Nos: 22 a 24) son factores de virulencia fuertes, como se evidenció en los ejemplos. Se entiende que los factores de virulencia son esas moléculas requeridas para causar enfermedad, que no son normalmente requeridas para la viabilidad de un microorganismo en situaciones donde no hay enfermedad. Como tal, los factores de virulencia son considerados útiles en la producción de una respuesta inmune contra el microorganismo. Por lo tanto, una persona versada en la materia concluiría que las composiciones que contienen los polipéptidos NleA serían útiles. En la ausencia de tal identificación sin embargo la persona versada no tendría razón alguna para creer que las composiciones que contienen polipéptidos NleA tengan alguna utilidad.

D1 no suministra ninguna sugerencia de que los polipéptidos NleA (SEQ ID Nos: 22-24) sean factores de virulencia. De hecho, D1 ni siquiera demuestra que la secuencia descrita es una proteína expresada. D1 es solamente una "traducción conceptual" de una secuencia genómica, como se ve claro a partir del título de "proteína hipotética". Por lo tanto, contrario a la afirmación hecha por su Despacho, la composición reivindicada no es evidente a partir de D1.

2. Rechazo de las reivindicaciones 8 a 72 con base en D2 (WO 02/053181) y D3 (JP2002 355074)

Su despacho afirma que D2 divulga secuencias específicas a *E. coli* O157:H7, incluyendo secuencias que son idénticas a las SEQ ID Nos: 3 y 24 de la presente solicitud. Su Despacho, por lo tanto, afirma que la divulgación de D2 y D3 hace obvia la invención reclamada.

La solicitante respetuosamente está en desacuerdo con la opinión de su Despacho. Como se indicó antes, la presente solicitud identifica, por la primera vez, que los polipéptidos NleA (SEQ ID Nos: 22 a 24) son factores de virulencia. Ni D2 ni D3 hacen tal identificación y, en la ausencia de tal identificación sin embargo la persona versada en la materia no tendría razón para creer que las composiciones que contienen los polipéptidos reclamados tuvieran algún uso. Más específicamente, D2 no divulga ninguno de los polipéptidos reivindicados (SEQ ID Nos: 22-43, 49. Y 73-84). D3 examina secuencias nucleotídicas del *E. coli* enterohemorrágico (EHEC)

O157:H7 SAKAI y afirma que aproximadamente dos mil (2000) secuencias (llamadas de aquí en adelante las “secuencias específicas a EHEC”) no están presentes en el *E. coli* K-12 no patógeno. Con base en esta afirmación, D3 concluye que las secuencias específicas a EHEC son patógenas, simplemente porque EHEC O157:H7 es altamente patógeno y la *E. coli* K-12 no lo es.

Es entendido por aquellos versados en la técnica que K-12 no patógeno y EHEC O157:H7 comparten cerca del 80% de identidad de secuencia y son diferentes en un 20%. Dado que los genomas de estos organismos tienen cerca de 4 millones de pares base, la diferencia se calcula en cerca de 800.000 pares base. En el momento de la presentación de la solicitud, por lo tanto, los factores de virulencia conocidos eran solo una pequeña fracción de las diferencias genómicas entre K-12 no patógeno y EHEC O157:H7 patógeno (por ejemplo, la región LEE, que codifica el sistema de secreción Tipo III tiene 34000 pares base, la toxina Shiga tiene 1000 pares base, etc). De acuerdo a lo anterior, una persona versada en la materia reconocería que no todas las secuencias específicas a EHEC dadas en D3 codifican factores de virulencia y además que D3 no suministra ninguna guía ó pista de cual entre el número grande de secuencias específicas a EHEC funciona como factores de virulencia y por lo tanto es útil como se reivindica en la presente solicitud. Por lo tanto, D2 y D3 no hacen la presente invención obvia.

De acuerdo con lo anterior, se ha demostrado que la presente invención si cumple con el requisito de nivel inventivo y por lo tanto es merecedora de patente. Así las cosas amablemente le solicito se continúe con el trámite de la solicitud y se conceda la patente de invención en referencia.

NOTIFICACIONES

Recibiré notificaciones en la Secretaría de ése Despacho y en mi oficina, ubicada en la Calle 83 A No. 23-90 de esta ciudad.

ANEXOS

Nuevo Capitulo reivindicatorio modificado según las observaciones hechas por su despacho.

Del Señor Jefe,



MÓNICA WOLF WASSERMAN
C.C. No. 51.711.267 de Bogotá
T.P.A. No. 46.034 del C. S. de la J.

REIVINDICACIONES

1. Una composición caracterizada porque comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 50% idéntica a la secuencia de las SEQ ID Nos.: 22 a 43, 49 o 73 a 84; o un fragmento o variante de estas, en combinación con un portador fisiológicamente aceptable, en donde el polipéptido reivindicado es un factor de virulencia.
2. Una composición caracterizada porque comprende una molécula de ácido nucleico codificadora de un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 50% idéntica a la secuencia de las SEQ ID Nos 22 a 43, 59 o 73 a 84, o un fragmento o variante de ellos, en combinación con un portador fisiológicamente aceptable.
3. Una composición caracterizada porque comprende una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia nucleotídica al menos 50% idéntica a la secuencia de las SEQ ID Nos 1 a 21 o 60 a 72 o un fragmento o variante de ellos, en combinación con un portador fisiológicamente aceptable.
4. Una composición caracterizada porque comprende un sobrenadante de cultivo celular que comprende un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 50% idéntica a la secuencia de las SEQ ID Nos 22 a 43, 59 o 73 a 84, o un fragmento o variante de estas, en combinación con un portador fisiológicamente aceptable, en donde el sobrenadante del cultivo celular se deriva de un organismo seleccionado entre una célula bacteriana, una célula de levadura ó una célula de insecto.
5. La composición tal y como se reivindica en la reivindicación 4, caracterizada por que el polipéptido comprende 20% de la proteína celular presente en la composición.
6. La composición tal y como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 caracterizada además porque comprende EspA, EspB, EspD, EspP, Tir, toxina Shiga 1, Toxina Shiga 2 o polipéptido de intimina.
7. La composición de cualquiera de las reivindicación 1 a 6 caracterizada además porque comprende un adyuvante.
8. Una bacteria o una preparación de la misma, caracterizada porque la bacteria comprende una mutación en el genoma bacteriano en una secuencia nucleotídica que es al

6

menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 1 a 21 o 60 a 72, en donde la mutación atenúa la virulencia.

9. una bacteria o una preparación de la misma, caracterizada porque la bacteria comprende una mutación en un gen al menos 50% idéntico *nleA*, *nleB*, *nleC*, *nleD*, *nleE*, *nleF*, *nleG*, *nleH* o un homólogo de estps.
10. La bacteria de las reivindicaciones 8 o 9 caracterizada porque la bacteria es un patógeno A/E.
11. La bacteria de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10 caracterizada porque la bacteria es *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteropatogénica (EPEC) o *citrobacter rodentium*.
12. La bacteria tal y como se reivindica en la reivindicación 11, caracterizada porque la EHEC es EHEC O157:H7 o EHEC O157:NM
13. La bacteria tal y como se reivindica en la reivindicación 11, caracterizada porque la EPEC es EPEC O127:H6.
14. Una composición caracterizada porque comprende la bacteria de cualquiera de las reivindicaciones 8 a 13, en combinación con un portador fisiológicamente aceptable.
15. La composición tal y como se reivindica en la reivindicación 14 caracterizada porque la bacteria esta viva.
16. La composición tal y como se reivindica en la reivindicación 15 caracterizada porque la bacteria es administrada por vía oral.
17. La composición tal y como se reivindica en la reivindicación 14, caracterizada porque la bacteria esta muerta.
18. La composición tal y como se reivindica en la reivindicación 17 caracterizada porque la bacteria es administrada por vía parenteral.
19. La composición tal y como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 14 a 18 caracterizada porque comprende además un adyuvante.

20. La composición tal y como se reivindica en las reivindicaciones 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante es una emulsión de aceite o una emulsión de no aceite en agua.
21. La composición tal y como se reivindica en las reivindicaciones 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende un aceite mineral y bromuro de dimetildioctadecilamonio.
22. La composición tal y como se reivindica en las reivindicaciones 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende uno o mas agentes seleccionados del grupo que consiste en un agente emulsionante, un dipéptido de muramilo, un agente acuoso, un agente a base de quitosano, un saponino, un aceite, un lipopolisacárido un extracto de pared de célula bacteriana, un ADN bacteriano, un complejo bacteriano, un oligonucleotido sintético y una base nitrogenosa alifática.
23. La composición de la reivindicación 22 caracterizada porque el agente emulsionante es seleccionado del grupo que consiste en uno o mas de un agente emulsionante natural, un agente emulsionante sintético, un agente emulsionante aniónico, un agente emulsionante catiónico y un agente no iónico.
24. La composición de la reivindicación 23, caracterizada porque el agente emulsionante natural es seleccionado del grupo que consisten uno o más entre acacia, gelatina, lecitina y colesterol.
25. la composición de la reivindicación 23, caracterizada por que el agente emulsionante aniónico es seleccionado de uno o mas del grupo que consiste en una sal de potasio de ácido láurico, una sal de potasio de ácido oleico, una sal de sodio de ácido láurico, una sal de sodio de ácido oleico, una sal de amonio de ácido láurico, una sal de amonio de ácido oleico, una sal de calcio de un ácido graso, una sal de magnesio de un ácido graso, una sal de aluminio de un ácido graso, un jabón metálico y un sulfonato orgánico.
26. la composición de la reivindicación 25, caracterizada porque el sulfonato orgánico es sulfato laurilo de sodio.

27. La composición de la reivindicación 23 caracterizada porque el agente emulsionante catiónico es bromuro cetiltrimetilamonio.
28. la composición de la reivindicación 23 caracterizada porque el agente emulsionante sintético es seleccionado del grupo que consiste en uno o más entre éster de glicerilo, éster de polioxietilenglicol, polioxietilenglicol éter y éster de ácido graso de sorbitan.
29. la composición de la reivindicación 28 caracterizada porque el éster de glicerilo es monoestearato de glicerilo.
30. la composición de la reivindicación 28 caracterizada porque el éster de ácido graso de sorbitán es seleccionado entre uno o mas del grupo que consiste en monopalmitato de sorbitan y un derivado de polioxietileno del mismo.
31. La composición de la reivindicación 30 caracterizada porque el derivado de polioxietileno es monopalmitato de sorbitan polioxitilenado.
32. La composición de la reivindicación 22 caracterizada porque el agente acuoso es hidróxido de aluminio.
33. La composición de la reivindicación 22 caracterizada porque el aceite es seleccionado del grupo que consiste en uno o más entre un aceite mineral, un aceite vegetal o un aceite animal.
34. la composición de la reivindicación 33 caracterizada porque el aceite vegetal es seleccionado del grupo que consiste en uno o mas entre aceite de canola, aceite de almendra, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de maní, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí y aceite de soja.
35. La composición de la reivindicación 33 caracterizada porque el aceite animal es seleccionado del grupo que consiste en uno o mas entre aceite de hígado de bacalao, aceite de hipogloso, aceite de lacha, aceite de "reloj anaranjado" y aceite de hígado de tiburón.

- 9
36. la composición de las reivindicaciones 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende un componente de aceite.
 37. la composición de la reivindicación 36 caracterizada porque el componente de aceite es seleccionado del grupo que consiste en uno o mas entre un solo aceite, y una mezcla de aceites.
 38. La composición de la reivindicación 19, caracterizada porque la emulsión de no aceite en agua es seleccionada del grupo que consiste en uno o más entre una emulsión en aceite, una emulsión de agua en aceite, y una emulsión de agua en aceite en agua.
 39. La composición de la reivindicación 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende un extracto de pared celular micobacteriana.
 40. la composición de la reivindicación 7 o 19 caracterizada porque el adyuvante comprende un ADN micobacteriano.
 41. La composición de la reivindicación 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende un complejo de pared de célula micobacteriana.
 42. La composición de la reivindicación 22 caracterizada porque la base nitrogenada alifática se selecciona del grupo que consiste en uno ó más entre O17:H6 de una amina, un compuesto de amonio cuaternario, una guanidina, una benzamidina y un tioronio.
 43. La composición de la reivindicación 22 caracterizada porque la base nitrogenosa alifática es N,N-dioctadecil-N,N-bis(hidroxietil)propanodiamina.
 44. La composición de la reivindicación 7 ó 19 caracterizada porque el adyuvante comprende bromuro de dimethyl-dioctadecilamonio.
 45. La composición de cualquiera de las reivindicaciones 19 a 44 caracterizada porque el adyuvante está presente en la composición en una concentración entre 20% y 40% (v/v).

46. Un método *in vitro* para detectar la presencia de un agente patógeno A/E en una muestra, caracterizada porque el método comprende:

- a) proporcionar una muestra; y
- b) detectar la presencia de una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia nucleotídica al menos 50% idéntica a una secuencia seleccionada de uno o mas del grupo que consiste en las SEQ ID Nos 1 a 21 ó 60 a 72 o un fragmento o una variante de estas.
- c) Detectar la presencia de una molécula de ácido nucleico que codifica para un polipéptido al menos 50% idéntico a una secuencia seleccionada de uno o mas del grupo que consiste en las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento de una variante de estas;
- d) detectar la presencia de un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 50% idéntica a una secuencia seleccionada de uno o mas del grupo que consiste en las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento de una variante de estas,

en donde la presencia de una molécula de ácido nucleico o el polipéptido indica la presencia de un agente patógeno A/E en la muestra.

47. El método de la reivindicación 46 caracterizado porque la muestra es materia fecal o sangre.

48. El método de la reivindicación 46 ó 47 caracterizado porque el paso de detectar comprende poner en contacto la secuencia nucleotídica con una sonda o iniciador al menos 50% idénticos a:

- a) Una secuencia nucleotídica del grupo que consiste en uno o mas entre las SEQ ID Nos 1 a 21 o 60 a 72 o un fragmento de una variante de estas, ó
- b) Una secuencia nucleotídica codificadora de un polipéptido al menos 50% idéntica a una o más entre las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento de una variante de estas.

49. El método de las reivindicaciones 46 ó 47, caracterizado porque la detección comprende poner en contacto la secuencia de aminoácido con un anticuerpo que específicamente se une a una secuencia seleccionada del grupo

que consiste en una o mas entre las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento o una variante de estas.

50. Un método para atenuar la virulencia de un agente patógeno A/E, caracterizado porque el método comprende mutar uno ó más genes seleccionados del grupo que consiste en *nleA*, *nleB*, *nleC*, *nleD*, *nleE*, *nleF*, *nleG* y *nleH*, o un homologo de los mismos en el agente patógeno A/E, o mutar una o mas de una secuencia nucleotídica en el genoma del patógeno A/E, en donde la secuencia nucleotídica es seleccionada entre las SEQ ID Nos 1 a 21 ó 60 a 72, atenuando así la virulencia.

51. Un método para seleccionar un compuesto que atenúa la virulencia de un agente patógeno A/E, caracterizado porque el método comprende:

a) Proporcionar un sistema que comprende:

(i) Un molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia nucleotídica al menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 1 a 21 ó 60 a 72 o un fragmento o una variante de estas; ó

(ii) Una molécula de ácido nucleico codificadora de un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácido al menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento o una variante de estas; ó

(iii) Un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 22 a 43, 59, 73 a 84 o un fragmento o una variante de estas.

b) proporcionar un compuesto de prueba; y

c) determinar si el compuesto de prueba modula la expresión, secreción o actividad biológica del polipéptido o la molécula de ácido nucleico, en donde un cambio en la expresión, secreción o actividad biológica del polipéptido ó de la molécula de ácido nucleico indica un compuesto que atenúa la virulencia de un agente patógeno A/E.

52. El método de la reivindicación 51, caracterizado porque el sistema es una célula.

53. EL método de la reivindicación 52, caracterizado porque la célula es *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. Coli* enteropatogénica (EPEC) o *Citrobacter rodentium*.

54. Un método para producir un polipéptido de agente patógeno A/E caracterizado porque comprende:

a) proporcionar una célula recombinante que comprende:

- i) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia nucleotídica al menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 1 a 21 ó 60 a 72; ó
 - ii) una molécula de ácido nucleico codificadora de un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácido al menos 50% idéntica a las SEQ ID Nos 22 a 43, 59 o 73 a 84; y
- b) cultivar la célula recombinante en condiciones que permitan la expresión del polipéptido.

55. El método de la reivindicación 54 caracterizado además porque comprende cultivar la célula recombinante en condiciones que permitan la secreción del polipéptido.

56. El método de la reivindicación 54 ó 55 caracterizado porque el polipéptido es secretado desde la célula.

57. El método de cualquiera de las reivindicaciones 54 a 56 caracterizado además porque comprende aislar el polipéptido.

58. El método de cualquiera de las reivindicaciones 46 a 57 caracterizado porque el agente patógeno A/E es *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. Coli* enteropatogénica (EPEC) o *Citrobacter rodentium*.

59. El método de la reivindicación 58, caracterizado la EHEC es EHEC O157:H7 o EHEC O157:NM.

60. El método de la reivindicación 59 caracterizado porque la EPEC es EPEC O127:H6.

61. Un vector caracterizado porque comprende una secuencia nucleotídica al menos 50% idéntica a la secuencia de las SEQ ID Nos: 1 a 21 ó 60 a 72.

62. El vector de la reivindicación 61 caracterizado porque el vector es capaz de integrarse en el genoma de un patógeno A/E.

63. El vector de la reivindicación 61 caracterizado porque el vector es incapaz de integrarse en el genoma del patógeno A/E.
64. Una célula anfitriona caracterizada porque comprende el vector de cualquiera de las reivindicaciones 61 a 63.
65. La célula anfitriona de la reivindicación 64, caracterizada porque la célula anfitriona es un agente patógeno A/E.
66. La célula anfitriona de la reivindicación 65 caracterizada porque el agente patógeno A/E es *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E.coli* enteropatogenica (EPEC) o *citrobacter rodentium*.