

# CAVELIER

ABOGADOS

www.cavelier.com  
cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI  
CARRERA 4 No. 72 - 35  
BOGOTA 8, COLOMBIA

175  
124

Teléfono: (57-1) 347 3611  
Telefax: (57-1) 211 8650  
(57-1) 540 0860  
Fax in U.S.A.: (1-305) 381 9660

Señora Jefe de la  
**DIVISION DE NUEVAS CREACIONES**  
Superintendencia de Industria y Comercio  
E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-052822- -00005-0000

Fecha: 2008-05-28 16:49:20 Dep. 2020 NUECREACIONE  
Tra. 11 PATENTEIIII Eve: 379 FASENACIONALII  
Act. 538 PETICION Folios: 2

Trámite : 011 Evento : 379 Actuación : 538

Referencia : Expediente No. 06052822  
Asunto : Solicitud de patente para METODO PARA  
PREVENIR LA FUSION VIRUS-CELULA AL INHIBIR LA  
FUNCION DE LA REGION DE INICIACION DE FUSION  
EN VIRUS ARN QUE TIENEN PROTEINAS DE CUBIERTA  
FUSOGENICA DE MEMBRANA CLASE I  
Solicitante : THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE EDUCATIONAL  
FUND  
Publicada en : La Gaceta No. 582 del 30 de noviembre de 2007

## SOLICITUD EXAMEN DE PATENTABILIDAD

1. Yo, Emilio FERRERO, identificado como aparece al pie de mi firma, actuando como apoderado de la sociedad THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE EDUCATIONAL FUND, atentamente solicito se efectúe el examen de patentabilidad de la solicitud en referencia presentada de acuerdo con las reglas del Capítulo II del PCT y según lo establecido en el artículo 44 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

Para tal efecto presento junto con este escrito el recibo por valor de la tasa legal fijada para el efecto según lo dispuesto en la Resolución No. 44372 del 26 de diciembre de 2007.

2. Por lo anterior, comedidamente solicito se prosiga con el trámite de este asunto.

Señora Jefe,

EMILIO FERRERO  
T.P.A. No. 31.929

COLO-11876-841-003-7  
SCT\SCT\ID-126797\WPC11876  
No. M-2008-126797\SCT

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

IMPORTE DE CASH : 08 - 30,145  
ABRIL 14 DE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-052822- -00005-0000

Fecha: 2008-05-28 16:49:20 Dep. 2020 NUECREACIONE  
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALI  
Act. 538 PETICION Folios: 2

\*\*\*\*\* CONSIGNACION \*\*\*\*\*

| DEPOSITANTE     | TIPO PAGO    | BANCO           | CUENTA    | No. PAGO | FECHA PGO  | Vr. PAGO      |
|-----------------|--------------|-----------------|-----------|----------|------------|---------------|
| CAVELIER RIVERA | CONSIGNACION | BANCO DE BOGOTA | 062750387 | 2677848  | 14/04/2008 | 63,540,000.00 |

\*\*\*\*\* CONCEPTO \*\*\*\*\*

| INT. RENTISTICO           | CONCEPTO                              | TOTAL CONCEPTO |
|---------------------------|---------------------------------------|----------------|
| 1 50000000-01 SOLICITUDES | 114 PTC CAP-II EXAMEN DE PATENTIBILID | 210,000.00     |
|                           | TOTAL :                               | \$ 210,000.00  |

SON: DOSCIENTOS DIEZ MIL PESOS

RESPONSABLE:

Colo 11876-841-003-7

RECIBO DE CASH ANEXADO AL EXPEDIENTE No.

**DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

RADICACIÓN EXPEDIENTE No. 06-52822

EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE **PATENTE DE INVENCION**

FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No **582** DE

FECHA **30 DE NOVIEMBRE DE 2007** EL TÉRMINO HÁBIL SEÑALADO POR LA

LEY EXPIRA EL **27 DE FEBRERO DE 2008**

NOTA: Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud caiga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000.

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS.

SI \_\_\_\_\_

NO       X

## Identification of an Immunodominant Neutralizing and Protective Epitope from Measles Virus Fusion Protein by Using Human Sera from Acute Infection

SOWSAN F. ATABANI,<sup>1</sup> OBEID E. OBEID,<sup>1</sup> DANIEL CHARGELEGUE,<sup>1</sup>  
PETER AABY,<sup>2</sup> HILTON WHITTLE,<sup>3</sup> AND MICHAEL W. STEWARD<sup>1\*</sup>

*Department of Clinical Sciences, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom<sup>1</sup>; Danish Epidemiology Science Centre, Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark<sup>2</sup>; and MRC Laboratories, Fajara, The Gambia<sup>3</sup>*

Received 3 March 1997/Accepted 20 June 1997

Polyclonal sera obtained from African children with acute measles were used to screen a panel of 15-mer overlapping peptides representing the sequence of measles virus (MV) fusion (F) protein. An immunodominant antigenic region from the F protein (p32; amino acids 388 to 402) was found to represent an amino acid sequence within the highly conserved cysteine-rich domain of the F protein of paramyxoviruses. Epitope mapping of this peptide indicated that the complete 15-amino-acid sequence was necessary for high-affinity interaction with anti-MV antibodies. Immunization of two strains of mice with the p32 peptide indicated that it was immunogenic and could induce antipeptide antibodies which cross-reacted with and neutralized MV infectivity *in vitro*. Moreover, passive transfer of antipeptide antibodies conferred significant protection against fatal rodent-adapted MV-induced encephalitis in susceptible mice. These results indicate that this epitope represents a candidate for inclusion in a future peptide vaccine for measles.

Despite the widespread use of a live attenuated vaccine, measles remains the leading killer among vaccine preventable diseases of childhood, responsible for approximately 1 million deaths annually, particularly among infants less than 9 months of age (31). This mortality is in part due to the rapid decline of maternal antibodies among infants in developing countries (11) and the policy of the World Health Organization to recommend only immunization with standard dose measles virus (MV) vaccine from 9 months of age.

Among the morbillivirus group of paramyxoviruses, the fusion (F) and hemagglutinin (HA) surface glycoproteins play a vital role in the induction of protective immunity. Fusion protein is synthesized as an inactive precursor, F<sub>0</sub>, that is subsequently cleaved by host cell proteases to yield two active disulfide-linked subunits, F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub>. The F protein is responsible for virus penetration through fusion of viral and host cell membranes, cell fusion, and hemolysis (4). Cell fusion mediated by F protein is responsible for the characteristic cytopathic effect seen in paramyxovirus infections. Vaccinia virus recombinants expressing either the H or F gene of rinderpest virus have been shown to induce virus-neutralizing antibodies and to completely protect against cattle plague (32). For MV, induction of antibody responses to F protein is essential for protection, as evidenced by the development of severe atypical disease in children years following immunization with inactivated MV vaccine, who developed adequate neutralizing and hemagglutination inhibiting antibodies but no antibodies to the F protein (15). Vaccinia virus recombinants encoding F protein have been shown to induce MV-neutralizing antibodies in mice and to protect them from fatal acute measles encephalitis (7). Furthermore, mouse monoclonal antibodies raised to recombinant F protein neutralize virus infectivity *in vitro* and

protect against measles encephalitis in mice (13). Therefore, any new MV vaccines must also induce neutralizing and hemolysis-inhibiting antibodies to the F protein.

As infants have a higher case fatality rate and suffer more from the delayed impact of MV infection (1), peptide-based vaccines against measles represent a stable alternative to live, attenuated vaccines which may be administered early in life, even in the presence of maternal immunity. Synthetic peptides representing specific linear epitopes of viral proteins have been shown to be immunogenic and to induce both antipeptide and neutralizing antiviral antibodies *in vivo* (8, 18). Identification of protective B- and T-cell epitopes on specific viral proteins is thus vital for the development of rationally designed synthetic peptide vaccines. Previous studies on the F protein of MV have identified an immunodominant helper T-cell epitope in mice and humans (19), while screening of a solid-phase peptide library with a mouse monoclonal anti-F antibody has allowed the identification of peptide mimics of conformational B-cell epitopes (23), one of which actively protected mice from fatal encephalitis. Mapping of linear F peptides by using serum from healthy human donors has previously identified 7 to 10 antigenic regions which were located along the whole F-protein sequence; however, the function of these antigenic regions remains unclear (28).

This study describes the identification of a major antigenic epitope, recognized by acute postinfection sera, using overlapping synthetic F peptides. The immunogenicity of a synthetic peptide representing this epitope was assessed in mice, and the antipeptide antibodies generated cross-reacted with MV and could be shown to inhibit MV infectivity *in vitro*. Finally, these antipeptide antibodies were shown to passively protect mice against fatal encephalitis following challenge with a neuroadapted strain of MV.

### MATERIALS AND METHODS

**Peptide synthesis.** Overlapping pentadecapeptides representing amino acids (aa) 33 to 550 (excluding the transmembrane regions) of the Edmonston strain

\* Corresponding author. Mailing address: Department of Clinical Sciences, London School of Hygiene & Tropical Medicine, Keppel St., London WC1E 7HT, United Kingdom. Phone: 44 171 927 2256. Fax: 44 171 637 4314. E-mail: m.steward@lshtm.ac.uk.

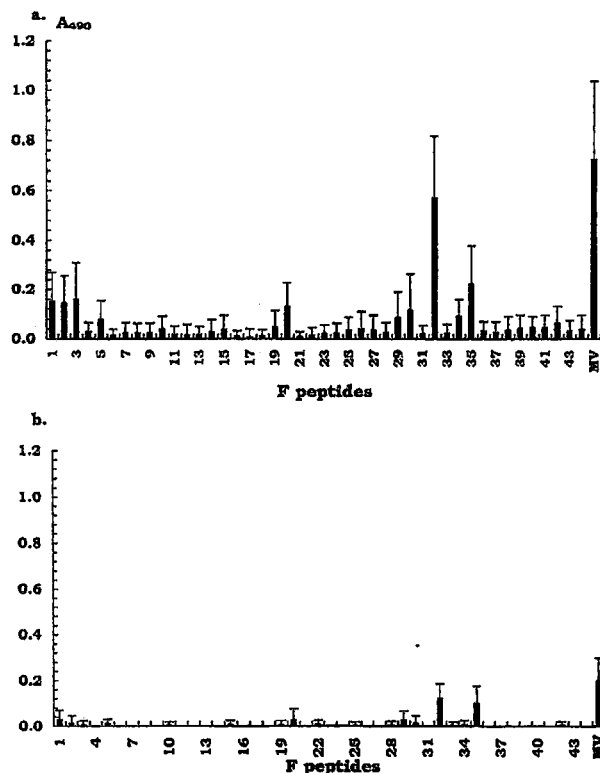


FIG. 1. Reactivities of 18 acute human postmeasles sera (a) and 15 prevaccination sera with undetectable anti-MV antibody (b) with 44 overlapping F peptides on ELISA. Each sample was tested at 1/200 dilution. The reactivity of each of the 18 postinfection human sera (a) and each of the 15 prevaccination sera (b) with each peptide, expressed as mean OD at  $A_{490}$ , was determined as the OD of serum in empty blocked wells subtracted from the OD of serum reacting with the specified peptide antigen well.

tested for cross-reactivity with MV in ELISA. Anti-p32 antibodies from both BALB/c and CBA mice were cross-reactive with MV at low dilutions (Fig. 2), neutralized MV infectivity in a plaque inhibition assay (Table 1), but did not inhibit MV-induced cell-cell fusion (fusion from within) (data not shown). Anti-p35 antibodies from both strains failed to cross-react with MV.

**Affinities of mouse anti-peptide antibodies for p32.** The relative affinities of anti-peptide antibodies to p32 raised in BALB/c and CBA mice were assessed by an inhibition enzyme immunoassay. The relative affinities of anti-peptide antibodies for the homologous peptide raised in CBA mice were significantly higher than those of anti-peptide antibodies raised in BALB/c mice ( $P = 0.03$  [Table 1]).

**Characterization of the fine specificity of binding of p32 sequence by human sera.** The 18 postinfection samples were tested for reactivity with overlapping 8-mer peptides representing the original 15-mer p32 peptide used as solid-phase antigens on ELISA. Table 2 (assay A) show that 33.3% of the human serum samples reacted with peptide p32-2. The relative antibody affinities of polyclonal human antisera for the 15-mer peptide and the overlapping 8-mer peptides were assessed by a solid-phase inhibition ELISA (Table 2, assay A). The polyclonal human antibodies had significantly higher relative affinities for the original 15-mer peptide p32 than the 8-mer peptides. To investigate further the role of cysteine residues and

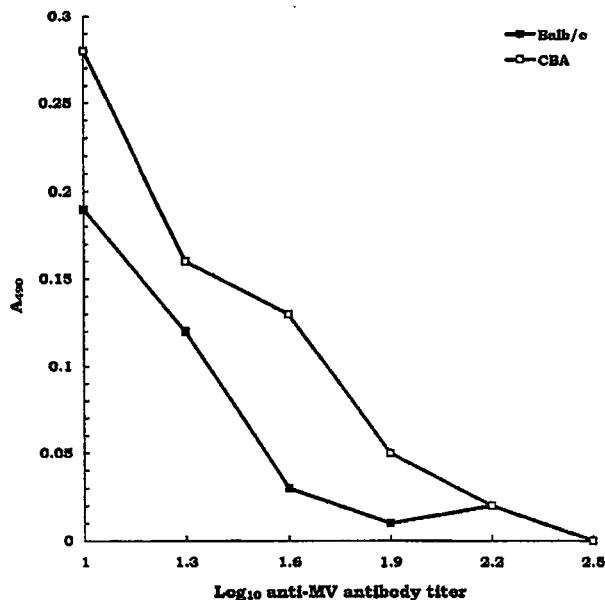


FIG. 2. Cross-reactivity of anti-p32 serum raised in BALB/c and CBA mice with purified MV as solid-phase antigen on ELISA. Values are means for groups of four mice, and results are expressed as the corrected OD value at  $A_{490}$  obtained for each sample by subtraction of the OD in control antigen wells from the OD obtained in the protein antigen wells. The OD at  $A_{490}$  for normal mouse sera did not exceed 0.05 at 1/10, the lowest dilution of serum tested.

possible disulfide bond formation in antigenic recognition, two additional 15-mer peptides containing conserved amino acid substitutions (serine for cysteine at positions 390, 395, and 397 and serine for cysteine at positions 390 and 397) were synthesized and used as solid-phase antigens on ELISA. None of the acute postinfection sera recognized the substituted peptides (Table 2, assay B).

**Passive protection studies.** Only p32 induced mouse anti-peptide antibodies which cross-reacted with MV on ELISA and also inhibited MV infectivity in a plaque assay. Therefore, each mouse in two groups of 12-day-old BALB/c offspring was passively immunized with 150  $\mu$ l of anti-p32 antiserum raised in BALB/c mice (with an average anti-peptide titer of  $\log_{10}$  4.1) (6 mice) or CBA mice (with an average anti-peptide titer of  $\log_{10}$  3.1) (5 mice) or with normal mouse serum (10 mice), followed by intracranial inoculation of neuroadapted MV 1 day later. The passive transfer of either BALB/c or CBA immune serum conferred significant protection against fatal MV encephalitis ( $P = 0.001$  and  $P = 0.022$ , respectively). No significant difference in protection was observed between mice receiving anti-peptide serum from either BALB/c or CBA mice ( $P = 0.545$  [Fig. 3]).

TABLE 1. Functional anti-peptide antibody responses in groups of four BALB/c and CBA mice 8 weeks following intraperitoneal priming with p32

| Mouse strain | Mean antibody affinity for p32 ( $M^{-1}$ ) $\pm$ SE | Mean plaque inhibition titer <sup>a</sup> $\pm$ SE |
|--------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| BALB/c       | $(6.98 \pm 1.9) \times 10^6$                         | $1.05 \pm 0.15$                                    |
| CBA          | $(1.75 \pm 1.3) \times 10^7$                         | $1.43 \pm 0.07$                                    |

<sup>a</sup>  $\log_{10}$  MV plaque inhibition titer of anti-peptide antisera.

TABLE 3. Comparison of the amino acid sequence of identified antigenic peptide p32 of the MV F glycoprotein (20) with sequences from other morbilliviruses (6) and other paramyxoviruses (3)

| Source of peptide <sup>a</sup> | Comparison with MV p32 (aa 388–402) <sup>b</sup> |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|--------------------------------|--------------------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
|                                | A                                                | N | C | A | S | I | L | C | K | C | Y | T | G |
| Morbilliviruses                |                                                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| PDV                            | *                                                | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |
| CDV                            | *                                                | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |
| RPV                            | *                                                | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |
| Paramyxoviruses                |                                                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
| SNV                            | *                                                | * |   |   |   |   |   | * |   | * |   |   |   |
| PF3                            | *                                                | * | * |   |   |   |   | * |   | * |   |   |   |
| NDV                            | *                                                | * | * |   |   |   |   | * |   | * |   |   |   |
| SV5                            | *                                                | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |

<sup>a</sup> PDV, phocine distemper virus; CDV, canine distemper virus; RPV, rinderpest virus; SNV, Sendai virus; PF3, parainfluenza type 3; NDV, Newcastle disease virus; SV5, simian virus 5.

<sup>b</sup> Asterisks indicate conserved residues.

the site of the cysteine residues, thus establishing the requirement of cysteines for the antigenic conformation of the peptide. The cysteine-rich region of the MV F glycoprotein (aa 337 to 423), comprising eight cysteine residues, interacts specifically with MV H protein to induce cell fusion, and a limited region, Cys<sub>337</sub> to Arg<sub>381</sub>, is all that is required for fusion (30). Furthermore, in an MV F-protein mutant in which two amino acid changes occurred within the cysteine-rich region (aa 330 to 390), replication could no longer be inhibited by a fusion-inhibiting peptide (12). However, the lack of recognition of all peptides representing the regions within the cysteine-rich domain by polyclonal human serum samples in this study suggests that these peptides do not assume the correct conformation on a solid-phase support.

Peptide p32 was shown to be immunogenic in two strains of mice and induced anti-peptide antibodies which cross-reacted with MV and inhibited MV infectivity in vitro. The anti-p32 antibodies were effective in a plaque inhibition assay but did not inhibit MV-induced cell-cell fusion. It therefore appears that these antibodies inhibit fusion from without (23, 29) by binding to the appropriate epitope on the F protein of the virus.

The ability of p32 peptide alone to induce an antibody response indicates the existence of both an antigenic B-cell epitope and a helper T-cell epitope within its sequence. Furthermore, a boosting effect observed 3 weeks following priming in the two strains of mice provides further evidence of T-cell help in the induction of memory B cells. The immunogenicity of this peptide in two inbred strains of mice (*H-2<sup>d</sup>* and *H-2<sup>k</sup>*) suggests that the helper T-cell epitope is non-major histocompatibility complex restricted. However, determining whether the amino acid sequence of p32 comprises a promiscuous helper T-cell epitope, capable of presentation by a wide range of major histocompatibility complex class II molecules, would require immunogenic studies on further inbred strains of experimental animals. Linear sequences which comprise both B- and T-cell epitopes have been described previously (9). Antiviral neutralizing monoclonal antibodies have generally been considered to be directed toward conformational epitopes, with the role played by linear B-cell epitopes being debatable. However, linear epitopes have been shown to induce neutralizing antibodies against foot-and-mouth disease virus (9) and human immunodeficiency virus (18).

In the present study, antibodies raised to the linear peptide p32 afforded passive protection to mice against a fatal encephalitis following challenge with a neuroadapted MV. As the peptide contained three cysteine residues within its sequence, the possibility exists that disulfide bonds can be formed to allow the peptide to adopt a cyclic secondary structure which mimics an external loop on the native protein. Antibodies to this structure would thus be able to cross-react with the virus and neutralize its infectivity.

Passively transferred anti-p32 antibodies induced in both BALB/c and CBA mice were similarly protective, although the anti-peptide antibody titers in BALB/c mice were higher, and the inhibition of MV infectivity in vitro was similar. However, the anti-p32 antibodies raised in CBA mice had a significantly higher relative antibody affinity for the homologous peptide. Earlier reports have indicated that little association exists between the level and affinity of anti-protein antibodies in different strains of inbred mice (25). In addition, the affinity of antibodies for synthetic peptides has previously been shown to affect the passive and active protection afforded in vivo (16). In the present study, mice receiving passively transferred BALB/c or CBA anti-peptide sera were protected against a fatal encephalitis following challenge with neuroadapted MV, thus providing further evidence that the affinity of the antibodies raised is an important factor in their protective capacity.

The results presented here illustrate the potential of the use of acute postmeasles human sera for the identification of peptide sequences representing single immunodominant regions within MV F protein which may be used as immunogens for the induction of neutralizing and protective antibodies. Although the sample numbers tested are small, the results of the work presented here clearly identify an important antigenic and immunogenic determinant from the conserved region of MV F protein which has potential for use in an immunodiagnostic assay for MV antibodies. Moreover, these results indicate that this epitope represents a candidate for inclusion, along with other protective epitopes, in a subunit vaccine for MV.

#### ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by a grant from Action Research.

#### REFERENCES

1. Aaby, P., J. Bukh, D. Kronborg, I. M. Lisse, and M. C. da Silva. 1990. Delayed excess mortality after exposure to measles during the first six months of life. *Am. J. Epidemiol.* 132:211–219.
2. Albrecht, P., K. Herrmann, and G. R. Burns. 1981. Role of virus strain in conventional and enhanced measles plaque neutralization test. *J. Virol. Methods* 3:251–260.
3. Buckland, R., C. Gerald, R. Barke, and T. F. Wild. 1987. Fusion glycoprotein of measles virus: nucleotide sequence of the gene and comparison with other paramyxoviruses. *J. Gen. Virol.* 68:1695–1703.
4. Choplin, P. W., C. D. Richardson, D. C. Merz, W. W. Hall, and A. Scheld. 1981. The functions and inhibition of the membrane glycoproteins of paramyxoviruses and myxoviruses and the role of the measles virus M protein in subacute sclerosing panencephalitis. *J. Infect. Dis.* 143:352–363.
5. Crowe, J. E. J., P. T. Bul, G. R. Silber, W. R. Elkin, R. M. Chanock, and B. R. Murphy. 1995. Cold-passaged, temperature sensitive mutants of human respiratory syncytial virus (RSV) are highly attenuated, immunogenic and protective in seronegative chimpanzees, even when RSV antibodies are infused shortly before immunization. *Vaccine* 13:847–855.
6. Curran, M. D., Y. J. Lü, and B. K. Rima. 1992. The fusion protein gene of phocine distemper virus: nucleotide and deduced amino acid sequences and a comparison of morbillivirus fusion proteins. *Arch. Virol.* 126(1–4):159–169.
7. Drillean, R., D. Spehner, A. Kirn, P. Giraudon, R. Buckland, F. Wild, and J. P. Lecocq. 1988. Protection of mice from fatal measles encephalitis by vaccination with vaccinia virus recombinants encoding either the haemagglutinin or the fusion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:1252–1256.
8. Francis, M. J., G. Z. Hastings, D. V. Sangar, R. P. Clark, A. Syed, B. E. Clarke, D. J. Rowlands, and F. Brown. 1987. A synthetic peptide which elicits neutralizing antibody against human rhinovirus type 2. *J. Gen. Virol.* 68:2687–2691.

181 180

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020  
Bogotá, D.C.,

Artículo 41

Abogado  
EMILIO FERRERO

|        |            |            |
|--------|------------|------------|
| ASUNTO | Radicación | 06-052.822 |
|        | Trámite    | 0011       |
|        | Evento     | 379        |
|        | Actuación  | 430        |
|        | Oficio     |            |
|        | Folios     | 08 03388   |

|                                 |                                     |                               |                                     |
|---------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
| Patente de Invención            | <input checked="" type="checkbox"/> | Patente de Modelo de Utilidad | <input type="checkbox"/>            |
| Vía Nacional                    | <input type="checkbox"/>            |                               |                                     |
| Vía PCT (fase nacional)         | <input checked="" type="checkbox"/> | Cap. I                        | <input type="checkbox"/>            |
|                                 |                                     | Cap. II                       | <input checked="" type="checkbox"/> |
| No. Sol. Internacional          | <u>PCT/US2004/036578.</u>           |                               |                                     |
| Fecha de Presentación Internal. | <u>03 de noviembre de 2004</u>      |                               |                                     |

Como resultado del Examen de Fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

|                   |                  |                              |            |
|-------------------|------------------|------------------------------|------------|
| Descripción:      | Folios 70 a 123  | como se radicó inicialmente. |            |
| Reivindicaciones: | Folios 124 a 130 | como se radicó inicialmente  |            |
| Figuras:          | Folios 131 a 139 | como se radicó inicialmente  |            |
| Secuencias:       | Folios 140 a 152 | como se radicó inicialmente  |            |
| Prioridad:        | País             | Fecha                        | Número     |
|                   | US               | 04/11/2003                   | 60/517.181 |

## 2. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Método para prevenir la fusión virus-célula al inhibir la función de la región de iniciación de fusión en virus ARN que tienen proteínas de cubierta fusogénica de membrana clase I".

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de identificar una región de fusión o FIR de virus para prevenir la infección viral y/o la fusión entre la cubierta de un virus y las membranas de una célula que son blanco del virus para evitar su propagación.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un método para identificar un compuesto capaz de prevenir o inhibir la infección viral de una célula huésped.

Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A 61 K 38/02, C12N.

## 3. No es una invención (Art 15 D 486 literal (b))

*El artículo 15 en su literal b) señala que:*

*No se consideran invenciones el todo o parte de los seres vivos tal como se encuentran en la naturaleza, los procesos biológicos naturales, el material biológico existente en la naturaleza o aquel que pueda ser aislado inclusive genoma o germoplasma de cualquier ser vivo natural.*

Las reivindicaciones 7 - 12 enseñan moléculas aisladas y segmentos de aminoácidos.

Este despacho considera que dichas reivindicaciones no son una invención debido a que son fragmentos aislados que se encuentran en la naturaleza y cuyo único proceso ha sido el aislamiento, y caracterización secuencial.

Por tal razón, el objeto de las reivindicaciones mencionadas no se considera una invención, de acuerdo con el Art citado.

## 4. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literal (d))

*El artículo 20 de la decisión 486 establece que "no serán patentables:*

*d) Los métodos terapéuticos o quirúrgicos para el tratamiento humano o animal, así como los métodos de diagnóstico aplicados a los seres humanos o a animales".*

Las reivindicaciones 13 a 16 implican un método para tratar o prevenir una infección viral. El objeto de estas reivindicaciones se encuentra exceptuado a la patentabilidad según el literal (d) del Art. 20

## 5. De la Solicitud de Patente

### Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las Reivindicaciones 1 - 6 no son claras porque no definen y por tanto no limitan la invención. No es posible determinar las características técnicas del método, cuales son los pasos, las condiciones, los organismos para llevar a cabo la invención y por tanto, dada la amplitud, tampoco presenta sustento ni suficiencia en la descripción. Es necesario describir el método mediante sus características técnicas estructurales tales como la secuencia del péptido, el virus sobre el que se evidencia el efecto técnico, etc.

Las reivindicaciones 7 a 9 no definen técnicamente el péptido.

La reivindicación 12 no es clara dado que define un grupo de secuencias o un segmento funcional de ellas. Dicha caracterización no es aceptable ya que no define la estructura.

Las reivindicaciones 17 – 18 no definen técnicamente el anticuerpo mediante su secuencia de aminoácidos.

La reivindicación 19 no define técnicamente el ácido nucleico mediante su secuencia de nucleótidos.

El método de las reivindicaciones 20 a 25 no se encuentra definido técnicamente, debido a que anticuerpos, secuencias, fragmentos no están caracterizados estructuralmente.

## 6. Unidad de invención (Art 25 D 486)

La presente solicitud no tiene unidad de invención, dado que contempla diferentes conceptos inventivos relacionados así:

- Método para identificar un compuesto. Reivindicaciones 1 - 6.
- Péptidos aislados. Reivindicaciones 7- 12
- Péptidos aislados. Reivindicaciones 10 – 12, cada péptido entre si no presenta ni la misma estructura ni la misma función, debido a que tampoco procede del o está dirigido al mismo organismo.
- Un anticuerpo capaz de inhibir la fusión de membrana de un virus. Reivindicación 18.
- Una secuencia de ácido nucleico capaz de codificar un polipéptido que tiene la secuencia de un FIR viral. Reivindicación 19
- Un método para producir un anticuerpo. Reivindicaciones 20 a 25.

Entre ellos no existe una relación dado que las diferencias estructurales, y funcionales en los péptidos tienen una estrecha relación con su función, y la de los sitios activos, al variar determinados aminoácidos en un péptido, su función puede resultar diferente a la inicialmente determinada.

Se sugiere presentar las Solicitudes Divisionales que considere necesarias.

7. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha que se ha tenido en cuenta para determinar el Estado de la Técnica es:

Fecha de Presentación de la Solicitud de Prioridad: 04/11/2003.

Teniendo en cuenta la fecha indicada se realizó la búsqueda en el estado de la técnica de documentos relacionados con la solicitud encontrándose los siguientes documentos más relevantes:

| Item | Documento       | Título                                                                                                                                             | Fecha de Publicación* |
|------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| D1   | Atabani, et al. | Identification of an immunodominant neutralizing and protective epitope from measles virus fusion protein by using human sera from acute infection | 10/1997               |

D1 divulga (folio 178 -180) la identificación de un epítopo antigénico de virus por post infección de suero empleando péptidos sintéticos. La inmunogenicidad de un péptido sintético representado por este epítopo fue evaluado en ratones y las respuestas de los anticuerpos antipeptídicos generaron una reacción con diferentes virus.

8. Análisis de Patentabilidad (Art 14 D486)

El análisis de patentabilidad se realizó para el primer grupo de invenciones y a pesar de las objeciones realizadas por claridad en las reivindicaciones sobre la base de lo descrito y ejemplificado en la solicitud, pero no exime la necesidad de subsanar las objeciones presentadas.

Novedad (Art 16 D486)

Comparación de las características técnicas **esenciales**, con las del estado de la Técnica:

| Características esenciales                                      | D1 |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| Secuencia de aminoácido de región de iniciación de fusión viral | √  |
| Compuesto de unión a dicho péptido (une al blanco)              | √  |

La solicitud en estudio divulga un método para identificar un compuesto capaz de prevenir o inhibir la infección viral de una célula huésped, el método comprende:

- a) preparar un blanco que comprende una secuencia de aminoácido de una región de iniciación de fusión viral (FIR), en donde el FIR es de un virus que tiene una proteína de fusión de membrana que comprende: i) al menos dos hélices alfa extendida, ii) un péptido de fusión, y(iii) una región de iniciación de fusión;
- b) seleccionar una pluralidad de compuestos para identificar al menos un compuesto que se une al blanco,
- c) seleccionar al menos un compuesto que se une al un blanco para identificar un compuesto que se une a un blanco capaz de prevenir o inhibir la infección

184

viral de una célula huésped mediante un virus con una proteína viral de una célula huésped mediante un virus con una proteína de fusión que comprende FIR

Las características esenciales del método de la reivindicación 1 habían sido divulgadas previamente en D1, el cual enseña péptidos que son secuencias funcionales de FIR (tablas 2 y 3). Dicho documento divulga el uso del péptido como compuesto blanco para identificar anticuerpos de unión de un antisuero inducido de virus. La misma referencia enseña el uso del antipéptido identificado para prevenir la infección de las células cultivadas.

Los elementos característicos de las composiciones reivindicadas, ya eran conocidos en D1, la forma de realizar los anticuerpos, antipéptidos, péptidos blanco, y los virus, así como los resultados esperados. Por tal razón, el método reivindicado no puede ser considerado novedoso.

De esta forma se establece que las reivindicaciones 1 a 21 y 23 no cumplen con el requisito de Novedad.

9. Conclusión

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

| Item | Documento       | Reivindicaciones afectadas | Requisito que afecta |
|------|-----------------|----------------------------|----------------------|
| D1   | Atabani, et al. | 1 – 6                      | Novedad              |

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de 60 días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

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 N° 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ  
Director de Nuevas Creaciones (C)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 25 FEB. 2011

|                             |                                         |
|-----------------------------|-----------------------------------------|
| CONCEPTO TÉCNICO<br>No. 202 | EXAMINADOR TÉCNICO<br>Código No. 202089 |
|-----------------------------|-----------------------------------------|