

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

ABOGADOS

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 06-117696- -00010-0000

Fecha: 2012-07-26 16:44:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 17

Señor

SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: PI.-**AGENSYS, INC.**-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional
PCT para "**ANTICUERPOS Y MOLÉCULAS DERIVADAS DE ESTOS QUE**
SE ENLAZAN A LAS PROTEÍNAS DE STEAP-1".-Clase **C07K 16/00**.-
Expediente número **06-117.696**.-

1. Me refiero al auto dictado por ese Despacho notificado por fijación en lista de 14 de Marzo de 2012 y a mi memorial solicitando plazo de Junio 8 de 2012.

2. Con el fin de responder las objeciones expuestas por el Señor Examinador en su Concepto Técnico correspondiente al Oficio No. **04097**, en relación con la Claridad de del Capítulo Reivindicatorio actualmente en estudio la presencia de materia exceptuada de patentabilidad y el Nivel Inventivo de la presente solicitud, me permito dirigir su atención a las siguientes modificaciones y argumentos técnicos por medio de los cuales no sólo se superan completamente dichas objeciones sino que además se establece de manera incontrovertible la patentabilidad de la solicitud en estudio.

3. **CLARIDAD DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO.**

El Señor Examinador objeta la claridad del capítulo reivindicatorio actualmente presentado, señalando que este tendría un número muy elevado de reivindicaciones independientes y no estaría definiendo de forma adecuada al anticuerpo de la invención.

Tomando en consideración estas objeciones me permito manifestar que es deseo del solicitante **modificar** el capítulo reivindicatorio, con el fin de que este describa de manera clara y concisa los anticuerpos que son objeto de la invención.

Con respecto a estas modificaciones me permito resaltar que no constituyen de ninguna manera una ampliación al alcance de la invención, tal como fue originalmente presentada, toda vez que se está restringiendo la reclamación de acuerdo con las realizaciones preferidas de la invención que son reveladas dentro del texto de la descripción, tal como se muestra a continuación:

- **Reivindicación 1.** Se ha definido más claramente el anticuerpo que es objeto de la presente solicitud, incluyendo dentro de la reivindicación 1 las características antes consideradas en las reivindicaciones 2 a 4 actualmente presentadas, restringiendo la reclamación únicamente al anticuerpo que posea **todas las CDRs** incluidas dentro del anticuerpo **X120.545.1.1** es decir el anticuerpo **monoclonal** que es producido por el hibridoma cuyo número de acceso ATCC es PTA-5803, o su forma humanizada.

De esta forma, la reivindicación 1 modificada se lee como sigue:

"Un anticuerpo monoclonal que comprende todas las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera y cadena pesada de un anticuerpo designado X120.545.1.1 (número de acceso ATCC PTA-5803); o una forma humanizada de dicho anticuerpo, donde el anticuerpo monoclonal o la forma humanizada se enlaza a la proteína STEAP-1 de la SEQ ID NO:3."

- **Reivindicaciones 2 a 4.** Como consecuencia de las modificaciones realizadas sobre la reivindicación 1 estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio.

- **Nueva reivindicación 2.** Esta reivindicación señala una condición particular de la reivindicación 1, cuando la molécula es un fragmento de anticuerpo.

- **Reivindicaciones 5 y 6 (nuevas reivindicaciones 3 y 4).** Se ha modificado su preámbulo de acuerdo con las modificaciones realizadas en la reivindicación 1.

- **Reivindicación 7.** De acuerdo con las modificaciones realizadas en la reivindicación 1, se ha **eliminado** esta reivindicación del capítulo reivindicatorio.

- **Reivindicación 8 (nueva reivindicación 5).** Se ha modificado en congruencia con las modificaciones realizadas sobre la reivindicación 1, enfocándose únicamente a las formas modificadas del anticuerpo reclamado, en concordancia con lo revelado en la página 29 de la descripción de la solicitud.

- **Reivindicaciones 9 a 15.** Estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capítulo reivindicatorio.

- **Reivindicaciones 16 a 22 (nuevas reivindicaciones 6 a 12).** Se ha ajustado su preámbulo y su dependencia de acuerdo con las modificaciones realizadas en las reivindicaciones anteriores.

- **Reivindicación 23 (nueva reivindicación 13).** Tomando en consideración la objeción presentada por el Señor Examinador se ha introducido el número de acceso particular para el hibridoma reclamado.
- **Reivindicaciones 24 a 26 (nuevas reivindicaciones 14 a 16).** Se ha ajustado su preámbulo y su dependencia de acuerdo con las modificaciones realizadas en las reivindicaciones anteriores.
- **Reivindicaciones 27 a 32.** Estas reivindicaciones han sido eliminadas del capítulo reivindicatorio.

De esta forma, el capítulo reivindicatorio modificado está constituido por **16 reivindicaciones**, la cuales describen de manera clara y concisa los anticuerpos que son objeto de la presente invención.

De otra parte, a continuación me permito discutir de manera particular cada una de las objeciones presentadas por el Señor Examinador, en relación con la claridad del capítulo reivindicatorio de la presente solicitud:

(a) Con respecto a la reclamación del anticuerpo de la invención, el Señor Examinador señala que este no estaría adecuadamente definido, dado que no se describen las secuencias particulares que conforman su estructura completa o los 6 CDRs de ambas cadenas.

Sobre este particular me permito resaltar que en virtud de la modificación de la reivindicación 1, el capítulo reivindicatorio se enfoca en reclamar únicamente el anticuerpo monoclonal que posea **todas las CDRs** del anticuerpo **X120.545.1.1** que corresponde al anticuerpo **monoclonal** que es producido por el hibridoma cuyo número de acceso ATCC es PTA-5803, o su forma humanizada.

En este sentido me permito señalar que dentro del campo técnico de la invención es conocido que son las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) las que brindan la especificidad y afinidad a un anticuerpo, y que por lo tanto, la definición haciendo referencia a estas es suficiente para que la persona versada en la materia pueda comprender el alcance de la invención.

Así mismo, dado que el mencionado hibridoma es de dominio público, y fue apropiadamente depositado en la American Type Culture Collection, para dicha persona versada en la materia sería evidente que a partir de dicho depósito y de las secuencias consenso conocidas (Kabat, et al *Sequences of Proteins of Immunological interest*, Fifth edition, NHI publication No.91-3242 y Chotia et al, 1989, Nature, 342:877-883), podría fácilmente llegar a las secuencias exactas de los CDRs contenidos en el anticuerpo X120.545.1.1.

Sumado a lo anterior, la persona versada en la materia comprendería que a partir del proceso de obtención de un hibridoma se obtienen células que producen un único anticuerpo¹: *"Del procedimiento se obtiene una línea celular capaz de producir un tipo de anticuerpo por un periodo largo."* Por lo tanto, para la persona versada en la materia sería una descripción suficiente el identificar el anticuerpo por la referencia al hibridoma que lo produce, y de manera inequívoca podría reconocer el alcance de la reclamación.

En este sentido considero pertinente resaltar que la posibilidad de caracterizar un anticuerpo por el hibridoma que lo produce es contemplado dentro del *"Instructivo Examen De Solicitudes De Patentes de Invención y Modelo de Utilidad"*², documento recientemente preparado por la SIC el cual pretende reunir los lineamientos básicos con los cuales se evalúan las solicitudes de patente en Colombia, bajo el numeral 5.2.1.2.5, refiriéndose a Anticuerpos monoclonales:

"Adicionalmente (un anticuerpo) puede estar definido especificando el hibridoma el cual lo produce." (Página 142)

Consecuentemente, el capítulo reivindicatorio modificado describe de manera clara el anticuerpo que es objeto de la presente solicitud.

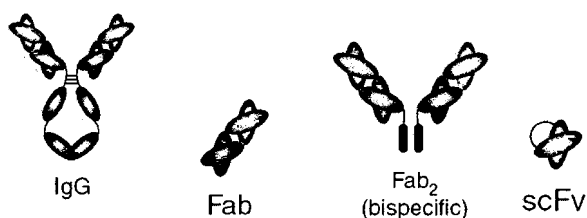
(b) Por otro lado, el Señor Examinador indica que la referencia a estructuras parciales de un anticuerpo no sería adecuada, toda vez que estas no serían una estructura activa.

En conexión con lo anterior me permito resaltar que la persona versada en la materia reconocería que dado que la especificidad de unión del anticuerpo al antígeno depende principalmente de los CDRs, aún si no se tiene el anticuerpo completo, sino un fragmento de este que incluya dichos CDRs, se podría tener una función terapéutica igual a la obtenida con el anticuerpo completo, porque es posible mantener la misma afinidad. Es así como muchos fragmentos de anticuerpos que incluyen el dominio variable, Fab, o fragmentos de cadena sencilla de la región variable, conocidos como scFv, han sido estudiados como agentes terapéuticos, dado que por su menor tamaño presentan ventajas tanto en producción como en interacción con el organismo tratado³:

¹ National Research Council. *Monoclonal Antibody Production*. Washington, DC: The National Academies Press, 1999. Página 8.

² http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/propiedad_industrial/Formatos/PI02-I06.pdf

³ Holliger, P., Hudson, P., *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1126-1136, 2005



Consecuentemente, la reivindicación 6 actualmente presentada (nueva reivindicación 4) define de manera clara los fragmentos que hacen parte del desarrollo proporcionado por la presente solicitud.

De manera similar, al definir una proteína recombinante que comprende la región de unión a antígeno de un anticuerpo particular, cómo lo hace la reivindicación 16 (nueva reivindicación 6) del anticuerpo X120.545.1.1, la persona versada en la materia podría reconocer sin lugar a dudas que se está haciendo referencia a cualquier cadena polipeptídica que incluya específicamente las secuencias los CDRs que confieren la afinidad del anticuerpo, y por lo tanto dicha reivindicación sería totalmente clara al reclamar una realización preferida de la invención.

(c) De otra parte, el Señor Examinador asegura que existiría una inconsistencia entre las enseñanzas de la descripción de la solicitud y la materia reclamada, porque en su concepto dicha descripción presenta una caracterización únicamente para el anticuerpo X.92.1.30.1.1 y no para el X120.545.1.1.

A este respecto me permito señalar que la descripción de la solicitud muestra resultados de actividad para ambos anticuerpos, tal como es claro del ejemplo 11 de las páginas 197 a 200 y de las figuras 18 y 23 a 27 de la descripción de la solicitud, las cuales muestran datos de actividad del anticuerpo X120.545.1.1.

De igual forma, las páginas 29, 37, 86 y 88 de la descripción de la solicitud se refieren a la manera de hacer variantes de los anticuerpos revelados, especialmente la humanización de dichos anticuerpos, o la modificación por delección, adición o sustitución de un residuo de aminoácido.

Por lo tanto, toda la materia que es reclamada dentro del capítulo reivindicatorio modificado presentado junto con este memorial es totalmente congruente con las revelaciones hechas dentro del capítulo reivindicatorio.

En vista de todo lo anterior, me permito señalar que el capítulo reivindicatorio modificado presentado junto con este memorial se refiere de manera clara y concisa a los anticuerpos de la invención y por lo tanto se enmarca completamente dentro de lo estipulado por el Artículo 30 de la Decisión Andina 486 de 2000.

4. **EXCEPCIÓN DE LA PATENTABILIDAD.**

En conexión con las reivindicaciones 27 a 32 actualmente presentadas, el Señor Examinador indica que estas hacen referencia a un método diagnóstico por lo que no serían patentables.

En este sentido me permito resaltar que dentro del capítulo reivindicatorio modificado presentado junto con este memorial se han **eliminado** las mencionadas reivindicaciones 27 a 32, tal como se expuso en el numeral anterior.

Por lo tanto, el mencionado capítulo reivindicatorio modificado no hace referencia alguna a materia exceptuada de patentabilidad y se ajusta completamente a los lineamientos establecidos por la Decisión Andina 486 de 2000.

5. **NIVEL INVENTIVO.**

Finalmente, el Señor Examinador considera que la materia reclamada por la solicitud en estudio carecería de nivel inventivo con respecto a las enseñanzas de los documentos ***US2003/0045682 (D1)*** y ***Hubert, et al. PNAS, Vol. 96, No. 25, 14523-14528 (D2)***.

En este sentido el Señor Examinador asegura que para la persona versada en la materia sería evidente obtener los anticuerpos reclamados por la presente solicitud a partir de las enseñanzas de D1 y D2.

Sobre este particular me permito señalar que **si bien D1 y D2 se refieren de manera general a anticuerpos que se unen a STEAP-1, ninguno de dichos documentos describe de forma particular un anticuerpo proveniente de un hibridoma como el que es revelado por la presente solicitud (número de acceso ATCC PTA-5803) y mucho menos dichos documentos sugieren que el anticuerpo producido por este hibridoma particular tendría una actividad mejorada frente al STEAP-1.**

JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Es así como la comparación de las figuras 15 y 18 permite evidenciar que el anticuerpo X120.545.1.1 tiene una mayor unión al STEAP-1 de superficie celular que el anticuerpo X.92.1.30.1.1 tal como lo evidencia la mayor fluorescencia detectada (mayor desplazamiento de los picos).

Sumado a lo anterior, me permito resaltar que esta mayor afinidad a STEAP-1 del anticuerpo X120.545.1.1 de la invención (MAb 120) fue comprobada por el solicitante al comparar dicho anticuerpo con otro obtenido de un hibridoma diferente (aquí denominado MAb 179), uniéndose el anticuerpo MAb 120 al menos a diez veces más sitios de STEAP-1 en la superficie de las células, tanto en células de expresión endógena como en células transfectadas, tal como se observa en el siguiente análisis de Scatchard ($\alpha 179$ y $\alpha 120$ se refieren a MAb 120 y MAb 179 respectivamente):

Scatchard analysis of murine MAb binding to STEAP-1

	<u>$\alpha 179$</u>	<u>$\alpha 120$</u>
PC3-PS5.4	~23.4 nM ~5,920	17.5 nM 187,256
293-LB50	4.7 nM 25,368	4.7 nM 301,100
LNCaP-BR	3.3 nM 2,626	1.5 nM 37,207

Radioligand Cell Binding (Scatchard) Assay for Determining Kd and # of Binding Sites
Anti-Steap1 antibody was iodinated using the Lactoperoxidase method. The radiolabeled antibody was purified from free 125I-NA by gel filtration using a NAP-5 column; the purified anti-Steap1 antibody had a specific activity of ~10 μ Ci/ μ g. 50 μ L competition mixtures containing a fixed concentration of iodinated antibody (~200pM or ~150,000 cpms) and decreasing concentrations of the unlabeled antibody (starting at 500nM and serially diluted for 10 concentrations) were placed into 96-well plate. Competition mixtures were assayed in triplicate. Cells were detached from plates with nonenzymatic dissociation solution, washed with binding buffer (media with 2% FBS, 2 mM azide and 50 mM HEPES, pH 7.2) and placed into the 96-well plate containing the competition mixtures at approximately 200,000 cells in 0.2 mL of binding buffer. The competition reactions were incubated for 1 hour at room temperature, then transferred to a Millipore Multiscreen filter plate and washed 3X with binding buffer to separate the free from bound iodinated antibody. The filters were counted on a Wallac Wizard 1470 gamma counter (PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc. Wellesley, MA). The binding data was evaluated using NewLigand software (Genentech), which uses the fitting algorithm of Munson and Robard (1) to determine the binding affinity of the antibody and the concentration of binding sites.

1. Munson, P. J. and D. Rodbard (1980). "Ligand: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems." Anal Biochem 107: 220-39.

Vale la pena resaltar que aún cuando parece que MAb 179 y MAb 120 tiene afinidades de unión similares para STEAP-1, MAb 120 se une a un orden de magnitud más de sitios de STEAP-1 que MAb 179.

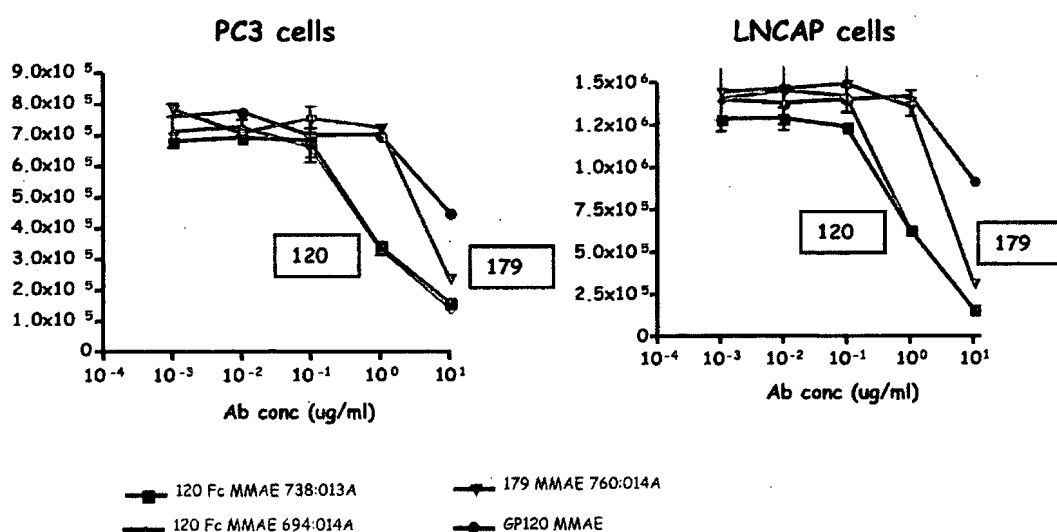
De otra parte, esta comparación no es posible realizarla con el anticuerpo X.92.1.30.1.1 (MAb 92) porque este simplemente no se une lo suficiente a STEAP-1 para poder llevar a cabo el análisis.

Estos hechos demuestran **que de manera sorprendente el anticuerpo que es reclamado por la presente solicitud posee propiedades de unión mejoradas con respecto a otros anticuerpos anti STEAP-1 lo cual de ninguna manera podría ser evidente para la persona versada en la materia a partir de las enseñanzas del arte previo.**

Adicionalmente, el solicitante ha comprobado también que el anticuerpo MAb 120 es adecuado para ser empleado como una plataforma para una terapia de conjugado de anticuerpo-medicamento. Es importante en este punto señalar que no todos los anticuerpos son adecuados para este tipo de terapia, debido a que el anticuerpo debe poder ser fácilmente internalizado y ser capaz de circular por los compartimientos intracelulares apropiados.

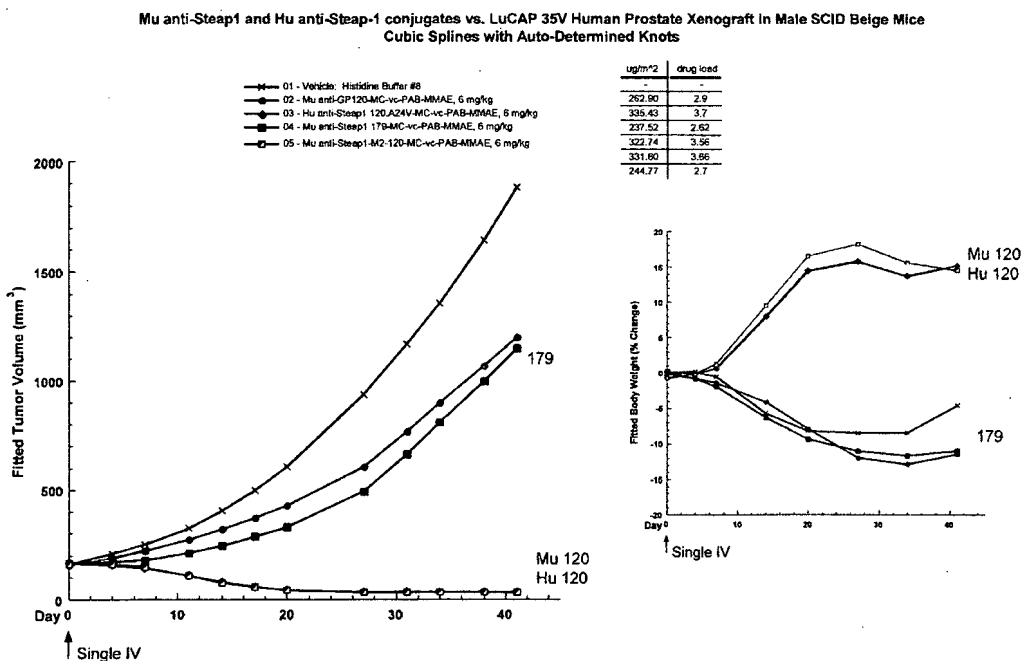
En este sentido, la Figura 24 de la solicitud en estudio muestra que el anticuerpo MAb 120 es adecuado para la terapia de conjugado anticuerpo-medicamento, toda vez que al estar el MAb 120 conjugado con la toxina Saporin, se encuentra una alta actividad en la destrucción de las células. En contraste con lo anterior, el anticuerpo MAb 92 no tiene ninguna actividad de destrucción celular.

De manera similar, el solicitante ha comparado este comportamiento con MAb 179, encontrando nuevamente que de manera sorprendente el anticuerpo MAb 120 en un conjugado con una toxina (MMAE) tiene propiedades superiores en la destrucción de células a las demostradas por MAb 179 conjugado con MMAE:



Así, del ensayo **se encontró que se requieren dosis mucho menores (y por lo tanto más seguras) del conjugado MAb 120-MMAE que de MAb 179-MMAE para obtener la destrucción de las células tanto que expresan de manera endógena STEAP-1 como son LNCAP, como de células transfectadas como PC3.**

Sumado a lo anterior, el solicitante ha encontrado que la administración de conjugados MAb 120-MMAE de anticuerpo murino o humanizado es altamente efectiva en la reducción de tumores en un modelo murino *in vivo* y que el peso corporal del ratón tratado de esta manera se incrementa dramáticamente después del tratamiento. En contraste, el conjugado MAb 179-MMAE murino no produce un efecto significativo en el tamaño del tumor o en el peso corporal del ratón:



Ahora bien, la Figura 31 de la solicitud en estudio demuestra que el anticuerpo MAb 120 es también un efectivo inhibidor de la comunicación intracelular, al mostrar que si se incuban células PC3 que expresan STEAP-1 junto con MAb 120, la comunicación célula-célula se inhibe de una manera dosis-dependiente. Por ejemplo, una dosis de 10µg/ml de MAb 120 resulta en un 37% de comunicación, mientras que una dosis de 20µg/ml de MAb 120 resulta en sólo 14% de comunicación.

Contrario a lo anterior, el MAb 92 presenta una muy baja inhibición de la comunicación, medido en condiciones similares a las realizadas para la mencionada Figura 31 de la presente solicitud:

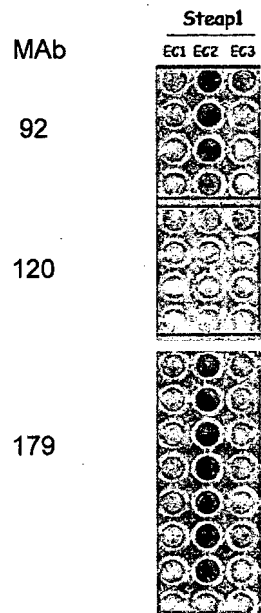
STEAP-1-mediated intercellular communication is inhibited by STEAP-1 mAbs

Donor cells	Acceptor cells	Treatment (µg/mL)	% Dye transfer	% Inhibition
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	Control IgG2a (20)	81	0
		Control IgG2a (50)	77	0
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	mAb 92.30 (20)	40	51
		mAb 92.30 (50)	24	69
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	mAb 120.545 (20)	20	75
		mAb 120.545 (50)	1	99

Intercellular communication assay. Intercellular communication was measured using a fluorescent dye transfer assay adapted from previously published studies (1, 2). Briefly, acceptor cells were preloaded with the dye dextran-Texas red (10,000 molecular weight; Invitrogen/Molecular Probes) overnight at 37°C. Donor cells were preloaded with 5 µg/mL of the green dye calcein AM (Invitrogen/Molecular Probes) for 1 h at 37°C. Donor cells were layered over acceptor cells at a ratio of 1:3. Cells were incubated at 37°C for 6 to 7 h. Percentage transfer was calculated as the fraction of cells that accepted the green dye (yellow/orange cells) in the total population of acceptor cells (yellow/orange and red cells). Transfer was measured by counting the number of cells in five different fields using fluorescence microscopy (x 40).

1. Ko K, Arora P, Lee W, et al. Biochemical and functional characterization of intercellular adhesion and gap junctions in fibroblasts. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;279:C147-57.
2. Goldberg GS, Bechberger JF, Naus CC. A pre-loading method of evaluating gap junctional communication by fluorescent dye transfer. *Biotechniques* 1995;6:490-7.

De otra parte, el solicitante ha encontrado que el anticuerpo MAb 120 se une a un epítipo conformacional de STEAP-1, en contraste con los anticuerpos MAb 92 y MAb 170 que se unen a epítipes lineales. Estos resultados fueron obtenidos de probar por ELISA la unión de los anticuerpos a cada uno de los tres dominios extracelulares aislados de STEAP-1, encontrando que MAb 92 y MAb 179 se unen fuertemente al segundo dominio extracelular aislado de STEAP-1, mientras que MAb 120 se une muy débilmente a los tres dominios de manera aislada:



ELISA showing MAb binding to isolated, immobilized extracellular domains of STEAP-1

Tomando en consideración la alta unión determinada para el anticuerpo MAb 120 frente a STEAP-1 nativo, estos resultados permiten deducir que la unión de MAb 120 se hace a un epítipo conformacional que se encuentra únicamente en la proteína completamente enrollada en forma nativa.

Esto implica que el anticuerpo MAb 120 puede ser administrado en dosis menores, y por lo tanto más seguras, comparado con otros anticuerpos haciendo de este un buen candidato terapéutico. Así mismo los resultados de mayor fluorescencia brindan a MAb 120 una alta utilidad diagnóstica dado que reconoce de manera sensible a STEAP-1, permitiendo determinar si un tumor expresa STEAP-1 y en qué grado.

Considerando que, como se expuso anteriormente, MAb 120 y MAb 179 tienen afinidades de unión a STEAP-1 similares pero MAb 120 muestra una unión mucho más fuerte al antígeno, es posible suponer que MAb 120 se une a formas multiméricas de STEAP-1, lo que también explicaría su eficiente internalización para liberar grandes cantidades de agente citotóxico en los conjugados.

En vista de todo lo discutido anteriormente, es evidente que la persona versada en la materia no podría de ninguna manera deducir estas propiedades superiores del anticuerpo MAb 120 de la invención partiendo del arte previo, máxime cuando ninguno de los documentos citados, D1 y D2, se refiere a un hibridoma particular o a este tipo de propiedades en los anticuerpos allí revelados.

En conexión con lo anterior, me permito referirme al señalamiento que hace el Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina con respecto a las definiciones de "obvio" y "evidente" en la evaluación del Nivel Inventivo de una solicitud de patente⁴:

"Resulta pertinente, a los efectos del artículo 4 de la Decisión 344, definir qué se entiende por "obvio" y por "evidente" a fin de determinar qué se debe entender por nivel inventivo.

Lo obvio es aquello que salta a la vista de manera clara y directa; lo "que se encuentra o pone delante de los ojos, muy claro o que no tiene dificultad". Mientras que lo evidente consiste en la "certeza clara y manifiesta de la que no se puede dudar; cierto, claro, patente y sin la menor duda". De forma que algo que resulte obvio no es necesariamente evidente; empero lo que es evidente, es también obvio.

En este orden de ideas, se puede concluir que una invención goza de nivel inventivo cuando a los ojos de un experto medio en el asunto de que se trate, se necesita algo más que la simple aplicación de los conocimientos técnicos en la

⁴ Tribunal de Justicia de la Comunidad Andina, PROCESO 192-IP-2005

materia para llegar a ella, es decir, que de conformidad con el estado de la técnica el invento no sea consecuencia clara y directa de dicho estado."

En vista de todo lo anterior, al no "saltar a la vista de manera clara y directa" a partir de los documentos D1 y D2 anticuerpos que posean específicamente las CDRs de los obtenidos del hibridoma que es objeto de la presente invención y al no tenerse "certeza clara y manifiesta" de que dichos anticuerpos tendrían una alta actividad frente a STEAP-1, es claro que los documentos D1 y D2 no pueden de ninguna manera afectar el Nivel Inventivo de la solicitud en estudio.

6. **CONCLUSIÓN.**

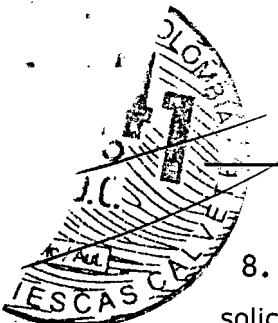
Para finalizar me permito resaltar que las modificaciones realizadas sobre el capítulo reivindicatorio presentadas en este memorial hacen que dicho capítulo sea totalmente claro y conciso al reclamar los anticuerpos la invención, en concordancia con las enseñanzas de la descripción de la solicitud.

Así mismo, el mencionado capítulo reivindicatorio modificado no hace referencia alguna a materia que se considere exceptuada de patentabilidad.

Por otro lado, en virtud de los argumentos aquí discutidos se estableció de manera incontrovertible que la persona versada en la materia no podría obtener de manera evidente los anticuerpos que son objeto de la presente invención a partir de las enseñanzas de los documentos D1 y D2, y mucho menos predecir sus propiedades mejoradas, y por lo tanto es irrefutable el Nivel Inventivo que conlleva la solicitud en estudio.

7. Anexo me permito presentar:

- (i) Copia de las páginas **253 y 254** que corresponde al **capítulo reivindicatorio modificado**, tal como se discutió en el presente memorial, constituido por **16** reivindicaciones;
- (ii) Copia de la portada y la página 8 del documento National Research Council. *Monoclonal Antibody Production* . Washington, DC: The National Academies Press, 1999, citado en el texto; y
- (iii) Copia de los datos adicionales discutidos en el presente memorial.



JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.

Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

8. En vista de lo anterior, ruego a usted proceder a estudiar nuevamente la solicitud a la luz de las modificaciones y argumentos presentados y conceder el privilegio de patente solicitado.

Señor Superintendente,


ALICIA LLOREDA RICAURTE

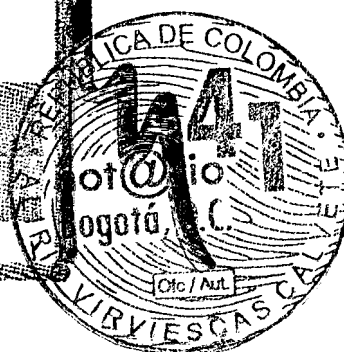
T.P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA
REPÚBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe de que compareció personalmente: Alicia Lloreda Ricaurte
identificada (o) con: C.C. 39.690.713 y tarjeta
profesional de abogado No. 5375 del Consejo
Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella
(el) mismo en este escrito.
(Art. 84 C. P. C. Decreto. 2282/89 mod. 2)

23 JUL 2012
Bogotá D.C.

ALICIA LLOREDA RICAURTE
C.C. N.º 39.690.713 de Usaquén



Mónica Beltrán
C.C. 5393.013

REIVINDICACIONES

Agency, Inc
Exp. 06-117.696
1)

1. Un anticuerpo monoclonal que comprende todas las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de cadena ligera y cadena pesada de un anticuerpo designado X120.545.1.1 (número de acceso ATCC PTA-5803); o una forma humanizada de dicho anticuerpo, donde el anticuerpo monoclonal o la forma humanizada se enlaza a la proteína STEAP-1 de la SEQ ID NO:3.
2. El anticuerpo monoclonal de acuerdo con la reivindicación 1, el cual es un fragmento de anticuerpo que se enlaza a antígeno.
3. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo humanizado.
4. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 2, en donde el fragmento es un fragmento Fab, F(ab')₂, Fv o Sfv.
5. Una forma modificada del anticuerpo monoclonal designado X120.545.1.1 y al cual se le asignó un número de acceso A.T.C.C. No.: PTA 5803, en donde la forma modificada se enlaza específicamente a STEAP-1 y/o exhibe la actividad biológica de X120.545.1.1, dicha modificación se selecciona del grupo que consiste de una delección de aminoácido, una adición, y una sustitución de al menos un aminoácido.
6. Una proteína recombinante que comprende la región de enlace al antígeno de un anticuerpo de la reivindicación 1.
7. El anticuerpo monoclonal de las reivindicaciones 1-5, en donde el anticuerpo es acoplado a un marcador detectable, una toxina o un agente terapéutico.
8. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es acoplado a un marcador detectable seleccionado entre un radioisótopo, un

quelante de metal, una enzima, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminescente y un compuesto quimioluminescente.

9. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 8, en donde el anticuerpo es acoplado a un radioisótopo seleccionado de ^{212}Bi , ^{131}I , ^{111}In , ^{90}Y , ^{186}Re , ^{211}At , ^{125}I , ^{188}Re , ^{153}Sm , ^{213}Bi , ^{32}P y Lu.
10. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo es acoplado a una toxina.
11. El anticuerpo de la reivindicación 10, en donde el anticuerpo es acoplado a una toxina seleccionada entre ricina, cadena A de ricina, doxorubicina, daunorubicina, un maitansinoide, taxol, bromuro de etidio, mitomicina, etoposida, tenoposida, vincristina, vinblastina, colcicina, dihidroxi antracina, actinomicina, toxina de difteria, exotoxina de *Pseudomonas* (PE) A, PE40, abrina, cadena A de abrina, cadena A de modicina, alfa-sarcina, gelonina, mitogelina, retstrictocina, fenomicina, enomicina, curicina, crotina, calicheamicina, inhibidor de *sapaonaria officinalis*, glucocorticoide, auristatina, auromicina, itrio, bismuto, combrestatina, duocarmicinas, dolostatina, cc1065 o un cisplatino.
12. El anticuerpo monoclonal de la reivindicación 7, en donde el anticuerpo es acoplado a una auristatina.
13. Un hibridoma que tiene el número de acceso A.T.C.C. No.: PTA 5803.
14. Un vector que comprende un polinucleótido que codifica el anticuerpo monoclonal de las reivindicaciones 1 a 5.
15. El vector de la reivindicación 14, el cual codifica dicho anticuerpo como una cadena simple.
16. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo monoclonal de las reivindicaciones 1 a 5 en una forma de dosificación unitaria humana.

10
Ageroys, Inc

Exp. 06-117.696
11)

MONOCLONAL ANTIBODY PRODUCTION

Committee on Methods of Producing Monoclonal Antibodies
Institute for Laboratory Animal Research
National Research Council

NATIONAL ACADEMY PRESS
Washington, DC 1999

NATIONAL ACADEMY PRESS • 2101 Constitution Avenue, N.W. • Washington, DC 20418

NOTICE: The project that is the subject of this report was approved by the Governing Board of the National Research Council, whose members are drawn from the councils of the National Academy of Sciences, the National Academy of Engineering, and the Institute of Medicine. The members of the committee responsible for the report were chosen for their special competences and with regard for appropriate balance.

This study was supported by Contract No. ND-OD-4-2139 between the National Academy of Sciences and the National Institutes of Health. Any opinions, findings, conclusions, or recommendations expressed in this publication are those of the author(s) and do not necessarily reflect the views of the organizations or agencies that provided support for the project.

Additional copies of this report are available from:
National Academy Press
2101 Constitution Ave., NW
Box 285
Washington, DC 20055
800-624-6242
202-334-3313 (in the Washington metropolitan area)
www.nap.edu

Copyright 1999 by the National Academy of Sciences

Printed in the United States of America

1

Generation of Hybridomas: Permanent Cell Lines Secreting Monoclonal Antibodies

Production of monoclonal antibodies involves in vivo or in vitro procedures or combinations thereof. Before production of antibodies by either method, hybrid cells that will produce the antibodies are generated. The steps in producing those cells are outlined below (figure 1). The generation of mAb-producing cells requires the use of animals, usually mice. The procedure yields a cell line capable of producing one type of antibody protein for a long period. A tumor from this "immortal" cell line is called a hybridoma.

No method of generating a hybridoma that avoids the use of animals has been found. Recent in vitro techniques allow the intracellular production of antigen-binding antibody fragments, but such techniques are still experimental and have an uncertain yield, efficacy, and antibody function (Frenken and others 1998). It has also been possible to genetically replace much of the mouse mAb-producing genes with human sequences, reducing the immunogenicity of mAb destined for clinical use in humans. Before the advent of the hybridoma method, investigators could produce only polyclonal serum antibodies; this required large numbers of immunized animals and did not immortalize the antibody-producing cells, so it required repeated animal use to obtain more antibodies. Development of the hybridoma technology has reduced the number of animals (mice, rabbits, and so on) required to produce a given antibody but with a decrease in animal welfare when the ascites method is used.

Step 1: Immunization of Mice and Selection of Mouse Donors for Generation of Hybridoma Cells

Mice are immunized with an antigen that is prepared for injection either by

Annex III

Scatchard analysis of murine MAb binding to STEAP-1

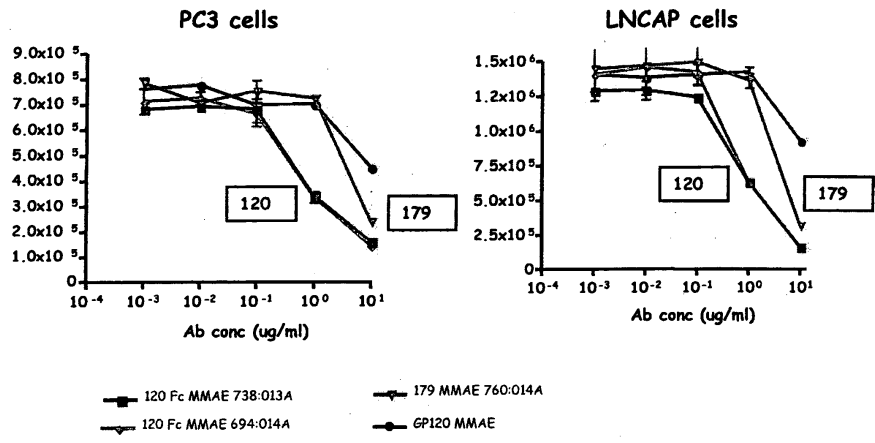
	<u>α179</u>	<u>α120</u>
PC3-PS5.4	~23.4 nM ~5,920	17.5 nM 187,256
293-LB50	4.7 nM 25,368	4.7 nM 301,100
LNCaP-BR	3.3 nM 2,626	1.5 nM 37,207

Radioligand Cell Binding (Scatchard) Assay for Determining Kd and # of Binding Sites
Anti-Steap1 antibody was iodinated using the Lactoperoxidase method. The radiolabeled antibody was purified from free 125I-NA by gel filtration using a NAP-5 column; the purified anti-Steap1 antibody had a specific activity of ~10 μ Ci/ μ g. 50 μ L competition mixtures containing a fixed concentration of iodinated antibody (~200pM or ~150,000 cpm) and decreasing concentrations of the unlabeled antibody (starting at 500nM and serially diluted for 10 concentrations) were placed into 96-well plate. Competition mixtures were assayed in triplicate. Cells were detached from plates with nonenzymatic dissociation solution, washed with binding buffer (media with 2% FBS, 2 mM azide and 50 mM HEPES, pH 7.2) and placed into the 96-well plate containing the competition mixtures at approximately 200,000 cells in 0.2 mL of binding buffer. The competition reactions were incubated for 1 hour at room temperature, then transferred to a Millipore Multiscreen filter plate and washed 3X with binding buffer to separate the free from bound iodinated antibody. The filters were counted on a Wallac Wizard 1470 gamma counter (PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc. Wellesley, MA). The binding data was evaluated using NewLigand software (Genentech), which uses the fitting algorithm of Munson and Robard (1) to determine the binding affinity of the antibody and the concentration of binding sites.

1. Munson, P. J. and D. Rodbard (1980). "Ligand: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems." Anal Biochem **107**: 220-39.

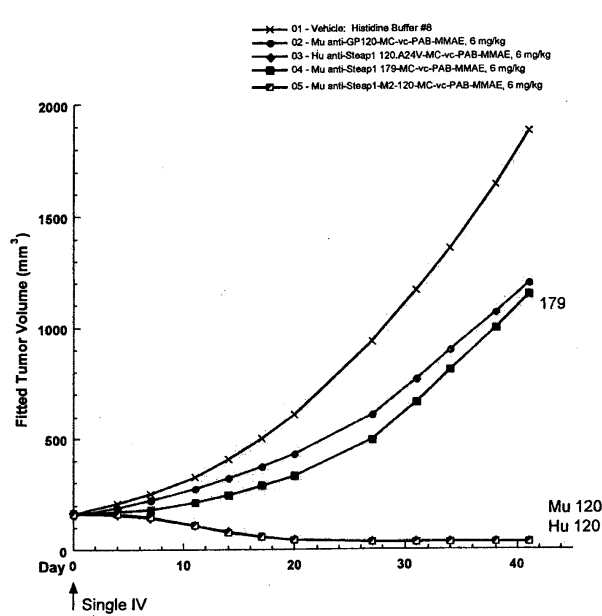
Agencio, Inc
Exp. 06-117.676

Annex IV

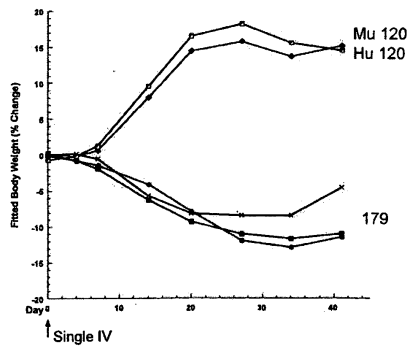


Annex V

Mu anti-Steap1 and Hu anti-Steap-1 conjugates vs. LuCAP 35V Human Prostate Xenograft in Male SCID Beige Mice
Cubic Splines with Auto-Determined Knots



ug/m ²	drug load
-	-
262.50	2.9
335.43	3.7
237.52	2.62
322.74	3.56
331.80	3.66
244.77	2.7



ANNEX VI

STEAP-1-mediated intercellular communication is inhibited by STEAP-1 mAbs

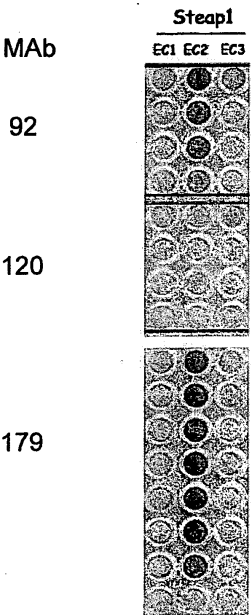
Donor cells	Acceptor cells	Treatment (µg/mL)	% Dye transfer	% Inhibition
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	Control IgG2a (20)	81	0
		Control IgG2a (50)	77	0
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	mAb 92.30 (20)	40	51
		mAb 92.30 (50)	24	69
PC3-STEAP-1	PC3-STEAP-1	mAb 120.545 (20)	20	75
		mAb 120.545 (50)	1	99

Intercellular communication assay. Intercellular communication was measured using a fluorescent dye transfer assay adapted from previously published studies (1, 2). Briefly, acceptor cells were preloaded with the dye dextran-Texas red (10,000 molecular weight; Invitrogen/Molecular Probes) overnight at 37°C. Donor cells were preloaded with 5 Ag/mL of the green dye calcein AM (Invitrogen/Molecular Probes) for 1 h at 37°C. Donor cells were layered over acceptor cells at a ratio of 1:3. Cells were incubated at 37°C for 6 to 7 h. Percentage transfer was calculated as the fraction of cells that accepted the green dye (yellow/orange cells) in the total population of acceptor cells (yellow/orange and red cells). Transfer was measured by counting the number of cells in five different fields using fluorescence microscopy (x 40).

1. Ko K, Arora P, Lee W, et al. Biochemical and functional characterization of intercellular adhesion and gap junctions in fibroblasts. Am J Physiol Cell Physiol 2000;279:C147-57.

2. Goldberg GS, Bechberger JF, Naus CC. A pre-loading method of evaluating gap junctional communication by fluorescent dye transfer. Biotechniques 1995;8:490-7.

Annex VII



ELISA showing MAb binding to isolated, immobilized extracellular domains of STEAP-1