

Señor

Superintendente de Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. _____ S. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-030534- -00013-0000

Fecha: 2013-03-11 16:18:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 32

Referencia: Expediente No. 07.030.534

Solicitud de Patente de Invención titulada: "Método para producción de anticuerpos anti-A-Beta"

Solicitante: Pfizer Ireland Pharmaceuticals

RECURSO DE REPOSICIÓN

ÁLVARO CORREA ORDÓÑEZ, mayor de edad y vecino de Bogotá D.C., identificado según aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad Pfizer Ireland Pharmaceuticals, domiciliada en Operations Support Group, Ringaskiddy, County Cork, Irlanda, presento oportunamente el siguiente recurso de reposición en contra de la Resolución 1612 de fecha 28 de enero de 2013, notificado por listado único de notificación de propiedad industrial fijado el 5 de febrero de 2013, con el propósito de que se revoque la mencionada resolución.

1. OBJETO DEL RECURSO

Que se revoque la Resolución 1612 de fecha 28 de enero de 2013, y en su lugar, se conceda el privilegio de patente de invención para la totalidad de las reivindicaciones (1 a 48).

2. ANTECEDENTES

2.1. La solicitud de patente tramitada en este expediente contiene 108 reivindicaciones de las cuales 60 fueron desistidas, quedando finalmente 48 reivindicaciones (1 a 48). En la Resolución impugnada, el Despacho niega el derecho de patente para las reivindicaciones 1 a 48 con fundamento en falta de nivel inventivo.

2.2. Esta solicitud fue presentada ante ese Despacho el día 27 de marzo de 2007 y se le adjudicó el número de radicación 07.030.534. Mediante auto de fecha 11 de mayo de 2007, la División de Nuevas Creaciones requirió al solicitante para que se pronunciara con respecto al primer examen de forma contenido en el concepto técnico 5770. Dicho requerimiento fue atendido mediante el memorial radicado el día 27 de agosto de 2007.

2.3. Se allegó junto con la presentación un nuevo capítulo reivindicatorio modificado, conformado por 49 reivindicaciones.

2.4. Habiendo cumplido con los requisitos formales, la solicitud fue publicada el día 27 de junio de 2008 en la Gaceta de la Propiedad Industrial No. 593. Se solicitó el examen de patentabilidad el día 13 de noviembre de 2008.

2.5. Siguiendo con el trámite normal, ese Despacho emitió el examen de fondo el día 13 de julio de 2012, en el cual objetó el nivel inventivo de las reivindicaciones 1 a 49, con fundamento en las enseñanzas contenidas en los documentos WO02101019 (D1) y WO03077858 (D2). Este requerimiento fue oportunamente atendido por medio del radicado 07-030534-00010-0000 del 23 de noviembre de 2012, en el cual se allegó un nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 48 reivindicaciones.

2.6. Por medio de la Resolución 1612 de fecha 28 de enero de 2013, notificada por edicto desfijado el día 5 de marzo de 2013, el Despacho niega las reivindicaciones 1 a 48 por cuanto considera que carecen de nivel inventivo a pesar de los argumentos presentados por la solicitante en la respuesta al examen de fondo.

2.7. Ese Despacho menciona que la falta de nivel inventivo se debe a las enseñanzas contenidas en los documentos WO02101019 (D1) y WO03077858 (D2). Particularmente, el Examinador establece que:

"El documento D2 enseña que el polipéptido de anti-ABeta puede ser producido por métodos conocidos en el estado del arte (...).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el método del documento D2 consiste en que la presente solicitud provee un cultivo celular que comprende: células de mamíferos que contienen un gen que codifica anticuerpo anti-ABeta, donde dicho gen se expresa en condiciones de cultivo celular para producir el anticuerpo anti-ABeta; y un medio que contiene glutamina, y que tienen una característica del medio seleccionada del grupo que consiste en: 1) una cantidad acumulada de aminoácido por unidad de volumen mayor que 70 mM; 2) una relación molar de glutamina a asparagina acumulada inferior a 2; 3) una relación molar de glutamina acumulada a aminoácidos totales acumulados inferiores a 0,2; 4) una relación molar de ión inorgánico acumulado a aminoácidos totales acumulados de entre 0,4 y 1; 5) una cantidad acumulada combinada de glutamina y asparagina por unidad de volumen, superior a 16 mM; y sus combinaciones, (...).

Por lo tanto el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: "cómo modificar el método de producción conocido en el documento D2 para la producción de anticuerpo anti-ABeta con una mejorada viabilidad celular y título del producto.

Sin embargo, un método para la producción de un polipéptido en un cultivo celular que mejora la viabilidad del cultivo celular, produciendo altos rendimientos del producto deseado ya está divulgado en el documento D1, el cual enseña un método para la producción de un polipéptido en un cultivo celular de producción de gran escala, (...).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia incluiría en método de producción del documento D1 para producir el anticuerpo anti-ABeta del documento D2 para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud, por lo cual se consideraría obvia. La persona del oficio medianamente versada en la materia se vería motivada a utilizar con una alta probabilidad de éxito las enseñanzas del documento D1, porque el documento D1 enseña que el método es aplicable para la producción a gran escala de polipéptidos, incluyendo anticuerpos (pág. 9, líneas 23-25 y Pág. 12, línea 3 a Pág. 14, línea 19), y porque el método del documento D1 mejora la viabilidad del cultivo celular, produciendo altos rendimientos del producto deseado (Pág. 3, líneas 1-7).

De manera que la solución propuesta por esta solicitud en la reivindicación 1 y en las reivindicaciones 2 - 48 es obvia y no tiene nivel inventivo."

3. FUNDAMENTO DEL RECURSO

3.1. Objeto de la invención

Antes de entrar a discutir la patentabilidad de la presente invención, considero importante mencionar el objeto de la presente solicitud.

La presente solicitud se relaciona con: un sistema mejorado para la producción a gran escala de proteínas y polipéptidos en cultivo de células. Por ejemplo, la presente invención provee métodos de cultivo de escala comercial (por ejemplo, 500 litros o más) que utilizan un medio caracterizado por una o más de las siguientes características: la provisión de un cultivo celular que comprende:

células de mamíferos que contienen un gen que codifica anticuerpo anti-ABeta, donde dicho gen se expresa en condiciones de cultivo celular para producir el anticuerpo anti-ABeta; y

un medio que contiene glutamina, y que tiene una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM; y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2;

el mantenimiento de dicho cultivo en una fase de crecimiento inicial, en un primer conjunto de condiciones de cultivo, durante un primer período suficiente para permitir que dichas células se reproduzcan hasta una densidad celular viable dentro de un rango de 20%-80% de la densidad celular viable posible máxima si dicho cultivo se mantuviera en el primer conjunto de condiciones de cultivo;

el cambio de por lo menos una de las condiciones de cultivo, de manera de aplicar un segundo conjunto de condiciones de cultivo;

el mantenimiento de dicho cultivo durante un segundo período, en el segundo conjunto de condiciones y durante un segundo período, de manera de acumular anticuerpo anti-ABeta en el cultivo celular.

El requisito de nivel inventivo

El nivel inventivo de una solicitud se encuentra definido en el Artículo 18 de la Decisión 486 y se establece cuando *"si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica"*.

Contrario a lo que plantea el Examinador, el documento del arte previo citado no afecta el nivel inventivo de la presente solicitud por cuanto no es posible derivar la presente invención a partir de las enseñanzas presentadas en los documentos D1 y D2.

En primer lugar el solicitante desea allegar un nuevo capítulo reivindicatorio en el cual la reivindicación 1 se ha modificado para especificar que el medio tiene una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor de 70 mM; y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2. La reivindicación 2 se ha corregido y es dependiente de la 1. La reivindicación 30, se ha corregido para especificar que el medio definido tiene una cantidad inicial de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM y una relación molar de glutamina inicial a asparagina inicial inferior a 2. La reivindicación 31 se ha corregido y es dependiente de la 30. La reivindicación 32 se ha corregido para citar un medio definido caracterizado por cinco características de medio específicas.

La presente invención esta dirigida a producir anticuerpo anti-ABeta en cultivo de célula en producción a gran escala que utiliza medio que tiene ciertas características. La reivindicación independiente 1, tal como aparece ahora, requiere que el medio tenga una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2. La reivindicación dependiente 2, tal como se corrigió, cita un medio que tiene además unas características de un medio seleccionadas del grupo que consiste en: 1) una relación molar de glutamina acumulada a aminoácidos totales acumulados inferior a 0,2; 2) una relación molar de ion inorgánico

acumulado a aminoácidos totales acumulados de entre 0,4 y 1; 3) una cantidad acumulada combinada de glutamina y asparagina por unidad de volumen, superior a 16 mM; y sus combinaciones. Las reivindicaciones 3 - 29 y 33 - 48 dependen directamente o indirectamente de la reivindicación 1. La reivindicación 30, tal como aparece ahora, es similar a la 1, con la excepción de que esta cita un medio definido que tiene una concentración inicial de aminoácidos mayor que 70 mM y una relación molar de glutamina inicial a asparagina inicial inferior a 2. La reivindicación 31 requiere las características de la reivindicación 30, y al menos unas características de medio adicionales. La reivindicación 32 cita un medio definido que tiene las características de medio de la reivindicación 30 y tres características de medio adicionales. Los argumentos que demuestran el nivel inventivo de la reivindicación 1 se establecen adelante y son de manera similar aplicables a la reivindicación 30, y cada una de sus reivindicaciones independientes.

La reivindicación 1 tal como se corrigió si posee nivel inventivo. D1 no enseña ni sugiere un medio tal como lo describe la reivindicación 1. Como se discutió previamente, la reivindicación 1 requiere un medio que tiene una cantidad de aminoácido por unidad de volumen mayor de 70 mM y una proporción de glutamina a asparagina menos de 2.

D1 simplemente describe dos formulaciones de medio básicas (Medio A y Medio B), indicadas en la tabla 1 de D1 (páginas 31 - 33), que se utilizan en producción del anticuerpo de factor antitejido recombinante. Ni el Medio A ni el Medio B de D1 poseen las características de medio requeridas por la reivindicación 1.

Por ejemplo, el Medio A de D1 contiene una cantidad de aminoácido total por unidad de volumen de aproximadamente 73 mM y una proporción de glutamina a asparagina de aproximadamente 3 calculada en la acción oficial. Así, a diferencia de lo que se requiere en la reivindicación 1, el Medio A no tiene una relación de glutamina a asparagina de menos de 2.

El Medio B de D1 tiene una cantidad de aminoácido total por unidad de volumen de 56 mM y una relación de glutamina a asparagina de 2 calculada en la acción oficial. Así, a diferencia de lo que se requiere en la reivindicación 1, el Medio B no tiene una cantidad total por unidad de volumen mayor de 70 mM y una relación de glutamina a asparagina menor de 2.

Aún asumiendo, solo con el ánimo de discusión, que el Medio B contenía una relación de glutamina a asparagina menor de 2, una persona medianamente versada no estaría inclinada y no lo enseña D1, a seleccionar ninguna característica particular del Medio A a ser combinada con una característica particular del Medio B para llegar al medio que tiene una cantidad de aminoácido total por unidad de volumen mayor de 70 mM y una relación de glutamina a asparagina menor de 2. D1 no dice nada en relación con las ventajas de tener una cantidad de aminoácido total por unidad de volumen mayor de 70 mM o una relación de glutamina a asparagina menor de 2 en un medio de cultivo.

Más aún, D1 no enseña ni sugiere mantener un primer conjunto de condiciones para reproducción a una densidad de célula viable en un rango de 20%-80% de la densidad de célula viable posible máxima y un cambio posterior de al menos una de las condiciones de cultivo tal como lo requiere la reivindicación 1 y se describió en la especificación (páginas 47 - 54) de la WO 2006/026408. El solicitante presenta junto con este escrito la declaración del inventor Dr. Denis Drapeau presentada en la oficina Europea de Patentes en un proceso que involucró una patente EPO relacionada (EP 1992697, que tiene una fecha de prioridad de Agosto 27, 2004). La declaración del Dr. Drapeau declara en la parte pertinente (ver, página 9, párrafos 30 y 31):

"Puedo declarar con base en mi experiencia que, en la fecha de prioridad aquellas personas versadas en la técnica consideraban las altas densidades celulares como importantes como el fin de maximizar la producción. Fue parte de nuestra invención reconocer que el crecimiento a densidades de célula inferiores y particularmente a densidades de célula en el rango de 20-80% como máximo, logran una producción particularmente buena."

El valor y los beneficios de efectuar un cambio en las condiciones (por ejemplo cambio de temperatura) cuando la densidad celular está en el rango de 20%-80% era desconocido y es de hecho inventivo. No existe ninguna descripción en D1 de un cambio en las condiciones de cultivo (por ejemplo cambio de temperatura) cuando la densidad celular está en el rango de 20-80% máximo.

Además, la presente invención suministra mucha información que comprende 17 ejemplos con al menos cuatro diferentes polipéptidos, más de 10 formulaciones específicas de medio y sesenta y seis figuras como soporte de las reivindicaciones. A diferencia de lo alegado por el examinador, los ejemplos en la presente solicitud están relacionados el uno con el otro, y establece el alcance del efecto técnico de la presente invención. Aunque de hecho solo el ejemplo 15 muestra producción de anticuerpo anti-ABeta, el grupo completo de ejemplos evidencia la generalización de los polipéptidos múltiples, incluyendo anticuerpo anti-ABeta (ver también la declaración del Dr. Drapeau, párrafos 16, 18, 20 y 21). Los siguientes ejemplos demuestran ciertos efectos técnicos ventajosos de las características de medio reivindicadas de la presente solicitud:

Por ejemplo, el ejemplo 1 de la presente solicitud suministra evidencia experimental de que las características "una proporción molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada menor de 2" de la reivindicación 1, y las características (1) y (2) de la reivindicación dependiente 2, por ejemplo, tal como se aplica en el proceso utilizando el medio 1 (comparado con el control) produce efectos técnicos superiores, como es evidente de la figura 2 y página 65, párrafo 207. Además, el Ejemplo 1 muestra que la característica "cantidad de aminoácido acumulada por unidad de volumen mayor de 70 mM" de la reivindicación 1, o la característica (3) de la reivindicación dependiente 2 por ejemplo, produce también efectos técnicos benéficos. Por ejemplo, la curva de crecimiento de la Figura 2 que describe la densidad de célula viable en el medio 3 antes del día 5, muestra una caída en la viabilidad celular, pero cuando se suplementa con el medio 4 después del día 5, la viabilidad celular se incrementó y permaneció más o menos constante cuando se comparó con la caída observada en el día 4. Una persona experta en la técnica entendería que el Ejemplo 1 no solo suministra datos comparativos entre el medio 1 y el 3, sino también el medio 3 con y sin suplemento del medio 4. Así, la persona versada entendería del Ejemplo 1 que una alta concentración de aminoácido (es decir, la característica de la reivindicación 1), o una cantidad acumulada combinada de glutamina (Gln) y asparagina (Asn) (es decir), la característica (3) de la reivindicación 2 puede suministrar una mayor y prolongada viabilidad celular.

Los Ejemplos 2 y 3 suministran evidencia experimental de la cantidad de glutamina a ser utilizada en procesos aplicando los medios 1 y 4 o 5. Por ejemplo, el Ejemplo 3, y las Figuras 3-12 suministran clara evidencia de que la característica "una proporción molar de

glutamina acumulada a asparagina acumulada menor de 2" de la reivindicación 1, y las características (1) y (2) de la reivindicación dependiente 2, por ejemplo, contribuyen a un cultivo celular mejorado. En particular, una comparación de las condiciones en la Tabla 8 del Ejemplo 3 revela que la aplicación de una proporción de Gln/Asn menor de 2 da como resultado una mejora sobre las condiciones de la proporción Gln/Asn mayor de 2.

Los Ejemplos 10 y 16 suministran evidencia experimental adicional para incrementar el mayor título de producto al aplicar la característica "una proporción molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada menor de 2" de la reivindicación 1, y las características (1) y (2) de la reivindicación independiente 2. Por ejemplo, un medio definido que contiene "medio 1 más 5 mM Asn + 0,5 mM cisteína" con 13 mM de Gln como se muestra en la Tabla 17, que cumple con la característica anteriormente mencionada de la reivindicación 1, muestran mayor título de proteína (ver, Figura 46). El título final en la Figura 46 que utiliza un medio 1 suplementado con Asn es de aproximadamente 800 µg/ml comparado con un título final de aproximadamente 600 µg/ml cuando se utiliza el medio 1 sin Asn adicional, es decir, sin aplicar la característica anteriormente mencionada de la reivindicación 1. La característica (1) de la reivindicación 2 se ejemplifica de manera comparativa, por ejemplo, por el medio 9 que comprende 4 mM de Gln total (ver, Figuras 41-48). Se encontró que este medio conducía a los títulos más altos de producto (ver, por ejemplo, página 71, párrafo 283 y Figura 46). La característica (3) de la reivindicación 2 se ejemplifica en una comparación del medio 1 con 4 mM de Gln y 11 mM de Asn (igual 15 mM de cantidad acumulada combinada) y medio 9 con 4 mM de Gln y 21 mM de Asn (igual 25 mM de cantidad acumulada combinada). La Figura 46 muestra que el medio 9 produce una mejora adicional sobre el medio 1 mientras que la Figura 41 muestra que el medio 9 da como resultado aún una mayor densidad celular comparada con el medio 1.

En conclusión las reivindicaciones de la presente invención son inventivas sobre D1 y las características del medio como se citó en las reivindicaciones se demuestra que suministran efectos y ventajas técnicas inesperadas.

D2 se citó por describir un método para producir el anticuerpo anti-ABeta y en la acción oficial se alega la falta de nivel inventivo sobre B2. D2 no menciona nada con relación a ninguna de las características de medio específicas citadas en las presentes reivindicaciones tal como se discutió anteriormente. De manera similar, D2 no enseña ni sugiere cambiar las

condiciones de cultivo mientras que la densidad celular viable está en el rango de 20%- 80% de la densidad celular posible máxima como se citó en la reivindicación 1 de la presente solicitud.

D2 no suplementa ninguna de las deficiencias de D1, tal como se discutió anteriormente. Por lo tanto, D1 y D2 solos o en combinación no pueden afectar la inventividad de la invención reivindicada por que no enseñan ni sugieren los elementos citados en las actuales reivindicaciones. Por lo tanto, los métodos para la producción de anticuerpo anti-ABeta en un cultivo celular a gran escala como se reivindicó posee nivel inventivo.

4. NOTIFICACIONES

Recibiré notificaciones en mis oficinas ubicadas en la Avenida 82 No. 10-62 Piso 6 de la ciudad de Bogotá, D.C.

Atentamente,



ÁLVARO CORREA ORDÓÑEZ
C.C. No. 79.143.366 de Usaquén
T.P/ 20.281

Anexo: Declaración del inventor Dr. Denis Drapeau
Nuevo capítulo reivindicatorio
Tasa por reivindicaciones adicionales a la 10

11

DECLARATION OF DR. DENIS DRAPEAU

1. I, Denis Drapeau, residing at 55 Old Farm Road, Salem NH 03079, a citizen of the United States of America declare as follows:

2. I am a co-inventor of EP Patent Application No. 05 791 482.2 / EP 1 781 802 ("the Patent"). I hold a Ph.D. from University of California at Berkeley in Chemical Engineering. I have been engaged in the development of mammalian cell culture processes for the production of recombinant proteins for 23 years at Collaborative Research Inc., Genetics Institute Inc., Wyeth BioPharma, and Pfizer Inc. I currently hold the position of Senior Director in BioProcess R&D at Pfizer Inc.

3. I have reviewed the granted claims of the Patent. I have also reviewed and understood the Notice of Opposition filed by the opponent Anthony Joseph DUCKETT c/o Mathys & Squire LLP (UK) and the cited references including:

- US 6,656,466 B1, Genentech Inc. (D1)
- US 5,122,469, Genentech Inc. (D2)
- US 2003/0087372 A1, Genentech Inc. (D3)
- WO 90/03430, Cetus Corporation (D4)
- Dyring et al. Cytotechnology 1994, 16:37-42 (D5)

4. The invention of the Patent relates to improved cell culture systems for commercial production of proteins and polypeptides. The invention was made in response to a need for more productive and cost-effective manufacturing processes for producing protein and polypeptide-based drugs and particularly in response to a need for more productive cell culture systems, such as serum-free systems.

5. Prior to our invention, many proteins and polypeptides were produced in traditional batch or fed-batch culture processes. Since such traditional processes typically use serum-based media, the production processes were and are costly. In addition, traditional batch and fed-batch culture processes often result in production of metabolic waste products that are detrimental to cell growth, viability, and production or stability of the protein or polypeptide of interest.

6. At the time of our invention, many companies had invested in the development of defined media, i.e., media assembled from known individual components and lacking serum or other animal products, for use in cell culture to improve safety and/or reduce manufacturing cost. However, it is particularly challenging to identify preferred combinations, i.e. relative or cumulative amounts of defined components for specific production processes. Prior to the present invention, it was both the expectation and the experience in the industry that cell culture media needed to be tailored to the specific cell types expressing specific proteins or polypeptides and sometimes the cell line being grown.

7. The present invention provides, for instance, unexpectedly successful medium characteristics and culture conditions for the production of anti-GDF-8, anti-Lewis Y, anti-ABeta and TNFR-Ig polypeptides. However, even more surprisingly, I believe the present invention strikingly demonstrates that particular provided conditions successfully achieve cell growth and protein production in large scale for a variety of different cell lines and produced polypeptides.

8. Indeed, various medium characteristics and culture conditions described in the present application were initially designed for a particular protein, anti-GDF-8. Unexpectedly, we found that these medium characteristics and culture conditions can be generalized for successful production of a variety of different polypeptides and proteins. This development process, in which we identified several key characteristics useful in the production process, is described in detail in Examples 1-17. For example, Examples 1-15 show experiments that identified or defined particularly useful features of polypeptide production techniques, developed using cells that produced an anti-GDF-8 or anti-Lewis Y polypeptide; Examples 16 and 17 then illustrate that the desirable conditions established through Examples 1-15 are surprisingly also effective when used to culture cells producing a TNFR-Ig polypeptide in large-scale.

9. As I understand from the arguments and objections brought forward by the Opponent with regard to inventive step and sufficiency, it appears that the opponent argues that out of 17 examples, only Example 16 would be relevant in that it relates to production of TNFR-Ig. The Opponent has alleged that there is no further set of control data with which a comparison can be made (point 6.11 of the Notice of Opposition). I strongly disagree.

10. Examples 1-17 document the successful development of novel and inventive polypeptide production processes, and the surprising finding that these technologies can be effective across a range of cell lines, producing a variety of different polypeptides. We have described on more than forty pages of the original application, both in writing and in detailed descriptions of media compositions, how the

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 3 of 10

Examples are related to each other and were successively conducted. A large amount of conclusive data is visualized in Figures 1-75.

11. The opponent seems to simply ignore this relatedness of the Examples. For instance, far from being irrelevant, the 16 Examples that describe production of various polypeptides (3 different polypeptides in particular) other than TNFR-Ig establish the scope and the technical effect of the present invention! All 17 Examples are therefore clearly related to the claimed invention and the problem which is solved. While indeed only Example 16 fully describes and establishes the success of the presently claimed invention for producing TNFR-Ig, the full set of Examples provides evidence for the generalizability for different polypeptides of the claimed methods, in particular of the media characteristics we have described in granted claim 1. Furthermore, with regard to the allegation that the invention would not be sufficiently disclosed to be carried out by a skilled reader, I believe it is evident that Examples 1-17 collectively describe, in great detail, how the inventive medium characteristics and culture conditions were developed, what the important variables are and in particular, which media characteristics are particularly preferable. For instance, we found Media 1, 7 and 9 particularly superior in the processes, which are also described in detail in the Examples.

12. It should be noted here, as an aside, that two obvious errors were accidentally introduced in the definition of Medium 1 and 3 in Table 1 of Example 1. It would appear from page 18 of the Patent, Table 1, columns 3 and 7, that "95.00" mM of $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (heptahydrate) was present in Media 1 and 3. In fact, however, the correct value for $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ was 95.00 mg/L, i.e. 0.39 mM in Medium 1 (assuming a molecular weight of 246.47 g/mol for $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$). In Medium 3, the correct amount was indeed 8.6 mg/L, as correctly indicated in Table 1, but the molar concentration was in fact $8.6 \text{ mg/L} \div 246.47 \text{ g/mol} = 0.035 \text{ mM}$ of $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$. The molar cumulative inorganic ion concentrations actually applied thus were 54.1 mM in Medium 1 and 99.8 mM in Medium 3. In Table 1, second line on page 42 of the Priority Document (US 60/605,379 P), the correct mass and molar concentrations of $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ are indicated for the Media "MFR 295", or "A11" (cf. page 40, Table 1 of the Priority Document), which were later designated "Medium 3", or "Medium 1", respectively. I assume that when transcribing Table 1 from the Priority Document, the line indicating $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ concentrations was accidentally mixed up. Thus, Medium 1 in fact did have a molar cumulative inorganic ion to cumulative total amino acid ratio between 0.4 to 1, whereas the control Medium 3 did not.

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 4 of 10

13. I would like to provide the following specific explanations of Examples 1-17 and their relevance to the claimed invention.

14. The initial objective was to develop batch media for the production of proteins of interest in large-scale bioreactors that require minimal feeds, because supplementing feeding solutions to large-scale bioreactors severely complicates the production process. Figure 24 should make it apparent why it is desired to minimize additionally fed volumes in a batch process and thereby avoid an impeller jump, which is also addressed in Example 7. In Example 1, CHO cells expressing a monoclonal antibody against growth and differentiation factor 8 ("anti-GDF-8") were used as an example to test such novel batch media. The development of the initial batch medium (e.g., Medium 1 and Medium 2) are described in Example 1. Medium 1 exhibited a significant increase in final cell density and viability over control medium (Medium 3) in a batch process (see Figure 2). Cells grown in Medium 1 or Medium 2 exhibited comparable growth rate (see Figure 1). The composition of Medium 1 or Medium 2 on the one hand, with a control Medium 3 on the other hand, is shown in Table 1 (with two obvious errors as discussed under Item 12, above). Based on the results of Example 1, Medium 1 was chosen for further optimization.

15. In a next step, we looked into the effect of glutamine and asparagine levels in cell culture processes, for which concentrated, glutamine and asparagine-supplemented feed-media were developed. In Example 2, we have identified suitable parameters for a 12x concentrated modification of Medium 4, named Medium 5, which is stable and is supplemented with asparagine, or both glutamine and asparagine. A glutamine starvation strategy was then tested in media and culture conditions described in Example 3 and showed a significant increase in productivity compared to a control process which was additionally fed glutamine with Medium 5.

16. Specifically, Examples 2 and 3 described the process of developing no-glutamine feed medium and culture and demonstrated that decreased glutamine levels (achieved by eliminating glutamine from the feed) while supplementing asparagine are beneficial to cell cultures and simplify the culturing process. For example, in Example 3, all processes describe total amino acid concentrations of greater than 70 mM. The "low glutamine process" (Table 9) had a total Gln/Asn ratio of less than 2 whereas the control process had a Gln/Asn ratio greater than 2. Figures 3-12 show data from this example. The data show that media with Gln/Asn of less than 2 exhibit higher product titers (e.g., Figures 7 and 10) and lower levels of ammonia (e.g., Fig. 5 and 10) and lactate (e.g., Fig. 6 and 11) than did the control medium with Gln/Asn of greater than 2. (See also Example 3 at page 55, Results and Conclusions section where these effects are described).

17. While optimization of anti-GDF-8 production conditions was being performed as described in Examples 1-4, optimization of production conditions for an anti-Lewis Y polypeptide was also pursued. In these studies, described in Examples 5 and 6, effects of substituting glutamate for glutamine were assessed. Examples 5 and 6 describe experiments that tested the effects of substitution of glutamate for glutamine in the bioreactor process and showed that the protein titer in the reactors fed with glutamate was higher compared to those fed with glutamine. The observation that lower relative amounts of Gln resulted in better polypeptide production in 2 different contexts (anti-GDF-8 and anti-Lewis Y), we decided to pursue this approach further.

18. Thus, based on the results from Examples 2, 3, 5 and 6, a glutamine-starved batch process, wherein the Gln amount relative to Asn and to the total amount of amino acids would be reduced, was developed, and was evaluated in Example 7. In Example 7, we also aimed at reducing the volumes of feed media or to omit feeding completely in order to avoid complications related to large scale production processes. In this experiment, different media (Medium 7, "Batch Medium", and Medium 8 as a feed medium), representing modifications of Medium 1, were used. The compositions of Medium 7, Batch Medium, and Medium 8 are described in Table 13. Our results showed that, for instance, combining a batch process with a glutamine starvation strategy whereby the Gln/Asn ratio is lowered to less than 2 and the Gln/ total amino acid ratio is lowered to less than 0.2, resulted in at least 40% increase in productivity over the control fed-batch process for anti-GDF-8 cells. Based on the data shown in Example 7, we also predicted that with some optimization of the batch medium, an almost 2-fold improvement in productivity can be attained.

19. Having recognized the importance of the ratio of Gln/Asn, we further optimized the asparagine concentrations in the media and culture conditions as described in Examples 8, 9, 10, and 14. In particular, we further evaluated the relative and combined concentrations of glutamine and asparagine. Modified Medium 9 with differing concentrations of glutamine and asparagine was used in these experiments. The composition of Medium 9 is described in Table 14 and various tested relative concentrations of glutamine and asparagine are summarized in Table 15. The optimum total combined glutamine and asparagine level was determined by statistical analysis to be between 16 mM and 36 mM as shown in Example 14, Tables 24 and 25.

20. We then tested the effects of total amino acids, vitamin, trace elements, iron levels in Examples 11, 12 and 13. For example, starting and cumulative amino acid concentrations and the molar ratio of total inorganic ions to total amino acids in Medium 1, 9 and control Medium 3 are summarized in Table 22.

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 6 of 10

The fact that both a process using Medium 1 (containing 96.4 mM total amino acids) and Medium 9 (containing 94.3 mM total amino acids) performed better than a process using Medium 3 (containing 64 mM total amino acids) indicated that providing amino acids in concentrations greater than about 70 mM could be sufficient to provide superior cell culture results. As an aside, I note that "84 mM" instead of "64 mM" of total amino acid concentration of Medium 3 appears in Table 22 of the printed B1 document of the Patent, which must be a misprint. As clearly indicated in Table 22, top of page 76 of the application as filed, "64 mM" was the total amino acid concentration in Medium 3.

21. In Example 15, three cell culture media variations developed in Examples 1-14 were tested using cells expressing a humanized anti-Abeta peptide IgG1 monoclonal antibody ("anti-Abeta cells") at intermediate 130 L and 500 L scale and all of the medium conditions tested showed improvement in cell growth, viability, titer, reduced lactate levels and reduced ammonium levels. We also found that medium conditions containing less glutamine were not sensitive to scale. The duplicated processes also showed very good run-to-run reproducibility. The results validate the data generated in Examples 1-14 and indicate that media characteristics and culture conditions developed may be generalized for different polypeptides and proteins as well as production scales.

22. Having observed improvement in polypeptide production for three different polypeptides under the high total amino acid concentration and less glutamine conditions, and then having developed further optimized conditions, we decided to assess the ultimate optimized medium characteristics for their ability to enhance production of other polypeptides, including fusion proteins such as TNFR-Ig. As described in Example 16, CHO cells expressing a dimeric fusion protein including extracellular ligand-binding portion of the human 75 kilodalton (p75) tumor necrosis factor receptor (TNFR) linked to the Fc portion of IgG1 ("TNFR-Ig cells") were cultured in Medium 9 for bioreactor production. Results are shown in Figures 66, 67, 68, 69, 70, 71 and 72. As I understand, the Opponent tries to argue that Example 16 would not provide comparative data for a technical effect to be proven. However, in Example 16 itself already seven different conditions were applied, which all exhibited good cell growth, high cellular viability, and high overall final titer. These effects would be evident also from Figures 66, 67, 68, 69, 70, 71 and 72 for any cell culture scientist practicing in the field at the priority date. Specifically, these figures show conditions of: standard seed ("std seed"), high density seed ("high seed (SFB6)"), hexamethylene bisacetamide at 2 mM and sodium butyrate at 1 mM ("Lower levels of inductants (2,1 HMBA, NaB)"), sodium butyrate at 2 mM but no HMBA ("no HMBA"), no HMBA and no sodium butyrate ("no chemical induction"), L-cystine at 0.7 mM rather than 0.4 mM and L-cystine at 0.1 mM rather than 1.5 mM ("lower levels of cys c-c"), temperature shifted to 30C at day 1 and to 29C at day 6 ("lower levels of cys

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 7 of 10

c-c, 2 step Temp Shift"). For all the conditions described in Figures 66-72, the metabolic inhibitory byproduct lactate was either consumed, or the concentration plateaued, suggesting the lactate production was arrested. One of ordinary skill, reading Example 16, would understand that medium characteristics developed and optimized in Examples 1-15 give excellent results for production of TNFR-Ig (e.g., TNFR-Fc), and furthermore would be fully enabled to practice such methods for the production of TNFR-Ig polypeptides, or indeed for other polypeptides.

23. In addition, as stated above, the media characteristics are valuable for a broader variety of produced polypeptides and mammalian cell cultures, thus the general technical effects observed in Example 16 may also be compared to other Examples. At least cellular growth, viability and levels of by-products may for instance be compared to similar processes applying Medium 9 in comparison with other media characteristics, e.g. the results of Example 10, wherein batch Medium 9 was compared to fed-batch Medium 1.

24. Finally, in Example 17, we tested and confirmed that relevant culture characteristics developed using small-scale bioreactors were applicable for large-scale bioreactor production.

25. During the optimization process, we developed improved media and culture processes that led to higher product titers, increased cell growth, viability, reduced lactate levels, and reduced ammonium levels as compared to other media. Such improved media and culture processes include at least Medium 1 (Example 1), Medium 7 with reduced glutamine (Example 7), Batch Medium (Example 7), and Medium 9 (e.g., Example 8). The compositions of Medium 1, 7, 9, and Batch Medium, are provided in Table 1 (Medium 1), Table 13 (Medium 7, Batch Medium), and Table 14 (Medium 9), respectively. As any practitioner in the cell culture field would appreciate, each of these exemplarily improved media and processes embody claimed medium characteristics (i) – (v), as is confirmed by simple calculations.

26. Thus, those of ordinary skill in the art, reading the patent specification, would appreciate that each of the medium characteristics recited in the claims can contribute positively to polypeptide production. For example, with respect to characteristic (i), the cumulative amino acid amount in Medium 1 is at least about 77.93 mM, and in Medium 9 is at least about 91.4 mM. Processes using media having a cumulative amino acid amount greater than 70 mM had increased cell density and titer (see, e.g., Example 13), indicating that media such as Medium 1 and Medium 9 have characteristics sufficient to provide improved culture. It would also be immediately evident to a person of ordinary skill that a medium with one or more of claimed medium characteristics (i) – (v) may be sufficient for improved production of

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 8 of 10

proteins or polypeptide. Furthermore, a person of ordinary skill would readily appreciate that media containing at least two or three of such characteristics are particularly good, and media containing all of them are ideal!

27. For these reasons, I disagree with the Opponent that the provided Examples would not provide comparative data. Furthermore, the Opponent's objection with regard to sufficiency of disclosure seems in particular implausible as any practitioner of ordinary skill in the field, reading the patent application and reviewing Examples 1-17, would immediately appreciate their relevance to polypeptide production in general and to TNFR-Ig production specifically. As mentioned above, there is not just one superior, but at least three superior media exemplified in Media 1, 7 and 9, with their defined composition explicitly listed in Tables 1, 13 and 14. How can the Opponent possibly allege in point 7.3 of the opposition brief that the Patent would provide "little if any guidance as to how the technical problem might be reliably solved" and further that "the skilled person [would be left] with the unenviable task of devising a research program"? Indeed, as discussed above and as I believe, we have fully and in great detail disclosed the actual research program which lead to the optimal media characteristics as claimed. A skilled person would certainly appreciate the full content of the description, claims and figures submitted and understand the scope of our invention. Thus, Examples 1-17 provide sufficient disclosure that enables practitioners in the cell culture field to make and use our claimed medium characteristics and culturing conditions to produce a variety of proteins and polypeptides including TNFR-Ig.

28. I also understand that the Opponent asserted that our invention is not novel in view of U.S. patent US 6,656,466 B1 ("D1"). I have carefully reviewed the D1 application and it is my view that this patent cannot possibly anticipate our invention. Arguably, a production process for TNFR-IgG₁ is seemingly described in Example 1 of D1, but the most important media characteristics, central to our claimed invention are nowhere found. I understand that the Opponent argues that the reference to another Genentech application ("D2") would comprise a "Super" medium disclosed therein, but this reference appears to be quite vague. It seems that D1 focused on a completely different objective, namely to control the sialic acid content of the product by adjusting e.g. sodium butyrate, osmolality or temperature in their processes. It was apparently considered of marginal interest to increase overall yield, cell viability or to scale the process up to industrial scale, hence media characteristics to achieve any of these effects were not even specifically mentioned by D1.

29. Notwithstanding its failure to provide any teaching relevant to production of TNFR-Ig, the D1 application furthermore fails to teach or suggest a step of "changing at least one of the culture conditions"

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 9 of 10

when the cells grow to a viable cell density within a range of about 20-80% of the maximal possible viable cell density, as is required by our method. The value and benefits of performing a condition change when cell growth is within this range represent new insights, provided to the art by us and not previously described by D1 or anyone else, as far as I am aware.

30. There is no evidence whatsoever that the conditions described in the D1 patent necessarily, or even typically, achieve a cell density that is 20-80% of the maximal possible viable cell density when the temperature shift was applied for the production phase. In fact, there is no evidence that the inventors of D1 would have recognized that a shift in culture conditions should be applied before the cell culture has reached maximum density. Thus, practitioners in the field of cell culture at the priority date of our Patent would logically conclude that the temperature shift-down in the experiments described by D1 happened at a late stage of the cell culture.

31. In fact, around the priority date, it was generally common practice to perform a temperature shift when cells had grown close to saturation because it was believed that higher cell density would achieve higher levels of produced polypeptide (because there are more expressing cells). I can represent based on my extensive experience that, at the priority date, and certainly at the time that D1 was filed, those skilled in the art considered high cell densities to be important in order to maximize production. Thus, those of ordinary skill in the art, reading the D1 patent, would not understand that it teaches a condition shift when cells have achieved a density between 20-80% of maximal density. Instead, a skilled person at the priority date of the Patent would likely understand that D1 referred to a temperature shift when cells are close to saturation. It was part of our invention to recognize that growth to lower cell densities, and particularly to cell densities within the range of 20-80% of maximal, achieve particularly good polypeptide production.

32. I also understand that the Opponent asserted that the medium characteristics we discovered are anticipated over the conditions disclosed in the US patent 5,122,469 (document D2).

33. I have carefully reviewed the disclosures of D2. D2 teaches a mammalian cell culture medium with elevated levels of certain amino acids for enhanced cell growth (D2, column 4, lines 54-60). D2 further discloses suitable concentrations or concentration ranges of individual amino acids and other components (D2, Tables 1-5 and Table A). D2, however, is completely silent with respect to ratios between different amino acids or other components (such as ratios between glutamine and asparagine, between glutamine and total amino acids, between inorganic ion and total amino acids, etc.). D2 is also completely silent about ranges of total amounts of amino acids and ranges of combined amounts of

Declaration of Dr. Denis Drapeau

Page 10 of 10

particular amino acids such as glutamine and asparagine. There is no teaching whatsoever that particular ratios and/or total amounts of certain amino acids would be beneficial to cell culture. I believe practitioners in the cell culture field reviewing D2 would not have derived any teaching relating to our claimed medium characteristics from this document.

34. I declare that the foregoing statements are true and correct to the best of my expert and personal knowledge.

Date: 08 March 2011


Denis Drapeau, Ph.D.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la producción de anticuerpo anti-ABeta en un cultivo celular de producción de gran escala, que comprende las etapas de:

la provisión de un cultivo celular que comprende:

células de mamíferos que contienen un gen que codifica anticuerpo anti-ABeta, donde dicho gen se expresa en condiciones de cultivo celular para producir el anticuerpo anti-ABeta; y

un medio que contiene glutamina, y que tiene una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM; y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2;

el mantenimiento de dicho cultivo en una fase de crecimiento inicial, en un primer conjunto de condiciones de cultivo, durante un primer período suficiente para permitir que dichas células se reproduzcan hasta una densidad celular viable dentro de un rango de 20%-80% de la densidad celular viable posible máxima si dicho cultivo se mantuviera en el primer conjunto de condiciones de cultivo;

el cambio de por lo menos una de las condiciones de cultivo, de manera de aplicar un segundo conjunto de condiciones de cultivo;

el mantenimiento de dicho cultivo durante un segundo período, en el segundo conjunto de condiciones y durante un segundo período, de manera de acumular anticuerpo anti-ABeta en el cultivo celular.

2. El método de la reivindicación 1, donde

dicho medio tiene, además, características de un medio seleccionadas del grupo que consiste en: 1) una relación molar de glutamina acumulada a aminoácidos totales acumulados inferior a 0,2; 2) una relación molar de ion inorgánico acumulado a

aminoácidos totales acumulados de entre 0,4 y 1; 3) una cantidad acumulada combinada de glutamina y asparagina por unidad de volumen, superior a 16 mM; y sus combinaciones.

3. El método de la reivindicación 1, donde dicha condición de cultivo celular, en dicha etapa de cambio de por lo menos una de las condiciones del cultivo, se selecciona del grupo que consiste en: 1) la temperatura; (2) el pH; 3) la osmolalidad; 4) el nivel de inductores químicos; y sus combinaciones.

4. El método de la reivindicación 1, donde la concentración de glutamina inicial de dicho medio es inferior o igual a 10 mM.

5. El método de la reivindicación 1, donde la concentración de glutamina inicial de dicho medio es inferior o igual a 4 mM.

6. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad acumulada total de glutamina, por unidad de volumen, de dicho medio, es inferior o igual a 10 mM.

7. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad acumulada total de glutamina, por unidad de volumen, de dicho medio, es inferior o igual a 4 mM.

8. El método de la reivindicación 1, donde la glutamina solo se provee en el medio inicial, al comienzo del cultivo celular.

9. El método de la reivindicación 1, donde la densidad inicial de dichas células de mamífero es por lo menos 2×10^5 células/ml.

10. El método de la reivindicación 1, donde la densidad inicial de dichas células de mamífero es por lo menos 2×10^6 células/ml.

11. El método de la reivindicación 1, donde la etapa de provisión comprende la provisión de por lo menos 1000 L de un cultivo.

12. El método de la reivindicación 1, donde la etapa de provisión comprende la provisión de por lo menos 10.000 L de un cultivo.

13. El método de la reivindicación 1, donde dicho primer conjunto de condiciones comprende un primer rango de temperatura que es de 30 a 42 grados Celsius.

14. El método de la reivindicación 1, donde dicho primer conjunto de condiciones comprende un primer rango de temperatura que es de 37 grados Celsius.

15. El método de la reivindicación 1, donde dicho segundo conjunto de condiciones comprende un segundo rango de temperatura que es de 25 a 41 grados Celsius.

16. El método de la reivindicación 1, donde dicho segundo conjunto de condiciones comprende un segundo rango de temperatura que es de 29 a 35 grados Celsius.

17. El método de la reivindicación 1, donde dicho segundo conjunto de condiciones comprende un segundo rango de temperatura que es de 31 grados Celsius.

18. El método de la reivindicación 1, que además comprende una segunda etapa de cambio posterior a dicho primer cambio de por lo menos una de las condiciones de cultivo, que comprende el cambio de por lo menos una de las condiciones de cultivo, de manera de aplicar un tercer conjunto de condiciones al cultivo.

19. El método de la reivindicación 18, donde la segunda etapa de cambio comprende el cambio de por lo menos una condición de cultivo seleccionada del grupo que consiste en: 1) la temperatura; (2) el pH; 3) la osmolalidad; 4) el nivel de inductores químicos; y sus combinaciones.

20. El método de la reivindicación 18, donde dicho tercer conjunto de condiciones comprende un tercer rango de temperatura que es de 27 a 37 grados Celsius.

21. El método de la reivindicación 1, donde dicho primer período es entre 1 y 7 días.

22. El método de la reivindicación 1, donde dicho primer período es de 4 días.

23. El método de la reivindicación 1, donde el total de dicho primer período y dicho segundo período es por lo menos 5 días.

24. El método de la reivindicación 1, donde, en la etapa de mantenimiento de dicho cultivo durante un segundo período, el nivel de lactato disminuye después de que el nivel de lactato en el cultivo alcanza un nivel máximo.

25. El método de la reivindicación 1, donde, en la etapa de mantenimiento de dicho cultivo durante un segundo período, el nivel de amonio disminuye después de que el nivel de amonio en el cultivo alcanza un nivel máximo.

26. El método de la reivindicación 1, donde dicha cantidad total de dicho anticuerpo anti-ABeta producido es por lo menos 1,5 veces mayor que la cantidad de anticuerpo anti-ABeta producido en condiciones idénticas, en medio idéntico, pero que carece de dichas características del medio.

27. El método de la reivindicación 1, donde dicha cantidad total de dicho anticuerpo anti-ABeta producido es por lo menos 2 veces mayor que la cantidad de anticuerpo anti-ABeta producido en condiciones idénticas, en medio idéntico, pero que carece de dichas características del medio.

28. El método de la reivindicación 1, donde dicho cultivo celular se provee además con componentes suplementarios seleccionados del grupo que consiste de hormonas y/o otros factores de crecimiento, iones particulares (tales como sodio, cloro, calcio, magnesio y fosfato), amortiguadores, vitaminas, nucleosidos o nucleótidos, elementos en trazas (compuestos inorgánicos usualmente presentes a concentraciones finales muy bajas), aminoácidos, lípidos o glucosa u otra fuente de energía.

29. El método de la reivindicación 28, donde dichos componentes suplementarios se proveen en múltiples intervalos.

30. Un método para la producción de anticuerpo anti-ABeta en un cultivo celular de producción de gran escala, que comprende las etapas de:

la provisión de un cultivo celular que comprende:

células de mamíferos que contienen un gen que codifica anticuerpo anti-ABeta, donde dicho gen se expresa en condiciones de cultivo celular para producir anticuerpo anti-ABeta; y

un medio definido que contiene glutamina, y que tiene una concentración inicial de aminoácidos mayor que 70 mM; y una relación molar de glutamina inicial a asparagina inicial inferior a 2;

el mantenimiento de dicho cultivo en una fase de crecimiento inicial, en un primer conjunto de condiciones de cultivo, durante un primer período suficiente para permitir que dichas células se reproduzcan dentro de un rango de 20%-80% de la densidad celular viable posible máxima si dicho cultivo se mantuviera en el primer conjunto de condiciones de cultivo;

el cambio de por lo menos una de las condiciones de cultivo, de manera de aplicar un segundo conjunto de condiciones de cultivo;

el mantenimiento de dicho cultivo durante un segundo período, en el segundo conjunto de condiciones y durante un segundo período, de manera de acumular anticuerpo anti-ABeta en el cultivo celular.

31. El método de la reivindicación 30, en donde dicho medio además tiene una característica de medio seleccionada del grupo que consiste de:

1) una relación molar de glutamina a aminoácidos totales inferior a 0,2; 2) una relación molar de ion inorgánico a aminoácidos totales de entre 0,4 y 1; y 3) una glutamina inicial y asparagina inicial combinadas por unidad de volumen superior a 16 mM;

32. Un método para producir anticuerpo anti-ABeta en un cultivo de células de producción a gran escala que comprende las etapas de:

la provisión de un cultivo celular que comprende:

células de mamífero que contienen un gen que codifica un anticuerpo anti-ABeta, cuyo gen se expresa bajo condiciones de cultivo de célula para producir el anticuerpo anti-ABeta; y

un medio definido que contiene glutamina, caracterizado por:

- 1) una cantidad inicial de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM;
- 2) una relación molar de glutamina inicial a asparagina inicial inferior a 2;
- 3) una relación molar de glutamina inicial a aminoácidos totales iniciales inferior a 0,2;
- 4) una relación molar de ion inorgánico inicial a aminoácidos totales iniciales de entre 0,4 a 1, y
- 5) una cantidad combinada de glutamina inicial y asparagina inicial por unidad de volumen superior a 16 mM;

mantener dicho cultivo en una fase de crecimiento inicial bajo un primer conjunto de condiciones de cultivo durante un primer periodo de tiempo suficiente para permitir reproducir dichas células en un rango de 20% - 80% de densidad celular viable máxima posible si dicho cultivo se mantuviera bajo el primer conjunto de condiciones de cultivo;

cambiar al menos una de las condiciones de cultivo, de tal manera que se aplica un segundo conjunto de condiciones de cultivo;

mantener dicho cultivo durante un segundo periodo de tiempo bajo las segundas condiciones de cultivo y durante un segundo periodo de tiempo de tal forma que el anticuerpo anti-ABeta se acumula en el cultivo celular.

33. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-2 ó 30-32, donde:

los niveles de lactato son inferiores a aquellos niveles observados en condiciones idénticas, en medio idéntico, pero que carece de dicha característica de medio;

los niveles de amonio son inferiores a aquellos niveles observados en condiciones idénticas, en medio idéntico, pero que carece de dicha característica de medio; y

la cantidad total de anticuerpo anti-ABeta producido es por lo menos tan alta como aquella observada en condiciones idénticas, en medio idéntico, pero que carece de dicha característica de medio.

34. El método de la reivindicación 1, donde dicho cultivo no es suplementado con componentes adicionales durante el transcurso de la producción de dicho anticuerpo anti-ABeta.

35. El método de la reivindicación 1, donde se sustituye la glutamina con glicilglutamina en dicho cultivo.

36. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina y prolina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 25 mM.

37. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de histidina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, triptófano, tirosina y prolina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 35 mM.

38. El método de la reivindicación 1, donde dicho medio tiene una característica del medio seleccionada del grupo que consiste en:

(1) una cantidad total acumulada de histidina, por unidad de volumen, mayor que 1,7 mM;

(2) una cantidad total acumulada de isoleucina, por unidad de volumen, mayor que 3,5 mM;

(3) una cantidad total acumulada de leucina, por unidad de volumen, mayor que 5,5 mM;

(4) una cantidad total acumulada de metionina, por unidad de volumen, mayor que 2,0 mM;

(5) una cantidad total acumulada de fenilalanina, por unidad de volumen, mayor que 2,5 mM;

(6) una cantidad total acumulada de prolina, por unidad de volumen, mayor que 2,5 mM;

(7) una cantidad total acumulada de triptófano, por unidad de volumen, mayor que 1,0 mM; y

(8) una cantidad total acumulada de tirosina, por unidad de volumen, mayor que 2,0 mM.

39. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de serina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 10 mM.

40. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de asparagina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 8 mM.

41. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de asparagina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 12 mM.

42. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de fósforo, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 5 mM.

43. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de glutamato, por unidad de volumen en dicho medio, es menor que 1 mM.

44. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de pantotenato de calcio, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 20 mg/l.

45. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de nicotinamida, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 25 mg/l.

46. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de piridoxina y piridoxal, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 35 mg/l.

47. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de riboflavina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 2,0 mg/l.

48. El método de la reivindicación 1, donde la cantidad total acumulada de clorhidrato de tiamina, por unidad de volumen en dicho medio, es mayor que 35 mg/l.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



RECIBO DE CAJA

No. 13 - 0023639

Bogotá D.C., Marzo 08 de 2013 - 16:12:33

RECIBIDO DE : BAKER & MCKENZIE

NI 900.034.906

RE

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	1019	08/01/2013		530.000.00
RECIBO DE CA	999999999	138102	13/12/2012		120.000.00
RECIBO DE CA	999999999	138141	13/12/2012		490.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
38 50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	30.000.00	1.140.000.00
			\$1.140.000.00

SON: **UN MILL&OACUTE;N CIENTO CUARENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 07-030534- -00013-0000
Fecha: 2013-03-11 16:18:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 32

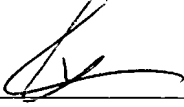
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Marzo 8 de 2013 - 16:12:33

32

2013/022

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 13 - 000900	
				Bogotá D.C., Enero 08 de 2013 - 08:34:17	
RECIBIDO DE : BAKER & MCKENZIE				NI 900.034.906	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	189773872	04/01/2013	76.838.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO		Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-03 CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICACIONES EN CREACION CORRECCION A SOLICITUD EN TRAMITE / MODIFICA			124.000.00	124.000.00
					\$124.000.00
SON: **CIENTO VEINTICUATRO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: 					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 07-030534- -00013-0000 Fecha: 2013-03-11 16:18:56 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 412 REPOSPRESRECU Folios: 32					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Linea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Enero 8 de 2013 - 08:34:35					