

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado
MARGARITA CASTELLANOS

ASUNTO	Radicación	08-53430
	Trámite	011
	Evento	378
	Actuación	519
	Oficio	
	Folios	004

1 1 1 8 2

Patente de Invención	☐	Patente de Modelo de Utilidad	☐
Vía Nacional	☐		
Vía PCT (fase nacional)	☐	Cap. I ☐	Cap. II ☐

No. Solicitud Internacional PCT/US2006/042133
Fecha de Presentación Internacional 27/Octubre/2006

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

1. Documentos estudiados

Descripción:	Folios 176 a 392	27/Mayo/2008
Reivindicaciones:	Folios 403 a 417	27/Mayo/2008
Dibujos:	Folios 419 a 421	27/Mayo/2008
Secuencias:	Folios 393 a 402	27/Mayo/2008
Prioridad:	US 60/731.044	28/Octubre/2005

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque esta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486), y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

Título de la solicitud: "Nuevos genes de resistencia a herbicidas"

El problema planteado en esta solicitud consiste en suministrar genes de plantas que generen resistencia a herbicidas como 2.4D y piridiloxiacetato..

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio métodos para el control de malezas que incluyen plantas que contienen polinucleotidos que generan resistencia a herbicidas.

El objeto de la presente Solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A01H5/00

4. No es una invención (Art 15 D 486 literales (b))

El objeto de las reivindicaciones 1 a 3, 20, 21, 30 a 32, 60 a 63, 73 a 77 no se considera una invención, de acuerdo con el Art citado, ya que las secuencias polipéptidicas y nucleótidas reclamadas corresponden a aislamientos (ver listado de secuencias folios 393 a 402 y descripción folios 184 a 185)

5. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literales (a) – (d))

El objeto de las reivindicaciones 4 a 7, 15 a 19, 42, 43, 64, 79 a 81, 83 y 84 no es patentable de acuerdo con el Art citado.

6. Reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso (Art 14 y 21 D 486)

El uso de las reivindicaciones 22, 23, 66, 67 no es patentable, de acuerdo con el Art 14, ya que se considera un uso del polinucleótido para la selección de plantas resistentes al herbicida.

7. De la Solicitud de Patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

- Las reivindicaciones 8, 24, 34, 44, 45, 56, 59, 85 no dejan claro cual es el objeto que el solicitante desea proteger, ya que se refieren a un método de control de malezas pero no se observa que el solicitante haya hecho ninguna modificación patentable sobre las malezas, sino solamente sobre la planta del cultivo. El solicitante debe reformular las reivindicaciones independientes mencionadas y las dependientes (9, 10, 13, 14, 25, 26, 27, 33, 35 a 37, 46 a 54, 57, 58, 65, 68, 69, 70, 71, 72, 78, 82, 86, 87, 88) de manera que el objeto a ser patentado sea claro. Por último se aclara al solicitante que la aspersión de un herbicida no es patentable por ser considerada un uso (Art 14 D486), y que según el Art 20 D 486 literal c las plantas y animales no son patentables.
- La reivindicación 11 no es clara ya que define un método para proteger una planta del daño por el uso de un herbicida por el cultivo de una planta que contiene un gen de resistencia, sin embargo cultivar una planta que se sabe contiene un gen de resistencia a un herbicida no puede considerarse un método de protección, si no un proceso esencialmente biológico ya que la planta sembrada expresará el gen sin intermediación de la mano humana. El solicitante debe modificar la reivindicación de manera que sea claro cual es la mano del inventor en el método reclamado. La reivindicación dependiente 12 también debe ser modificada según estas observaciones.
- El método reclamado en las reivindicaciones 28 y 29 no es claro por que no especifica cual es el objetivo del método, si el solicitante desea patentar un método para medir la actividad de la una enzima ariloxialcanoato dioxigenasa debe especificar cuales son los reactivos usados, los pasos secuenciales

seguidos, los métodos de detección y las unidades para expresar la actividad de la enzima.

- El método de la reivindicación 38 no es claro por que no especifica los pasos secuenciales a seguir para la detección del polinucleótido, además no caracteriza el péptido que se desea identificar o la planta de la cual es aislado. Las mismas observaciones se hacen para los métodos de las reivindicaciones 39, 40 y 41, donde debe identificarse la estructura de las proteínas, los cebadores y/o anticuerpos usados (secuencia completa).
- El método de la reivindicación 55 no es claro por que no especifica cual es el polinucleótido introducido en la célula vegetal, ni con que pasos secuenciales es introducido.

8. Determinación del Estado de la Técnica

El Estado de la Técnica se determinó con base en la Fecha de Presentación de la Solicitud de Prioridad: 28/Octubre/2005, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	Applied and environmental microbiology, p. 5357-5365 vol. 70, no. 9	Localization and Characterization of Two Novel Genes Encoding Stereospecific Dioxygenases Catalyzing 2(2,4-Dichlorophenoxy)propionate Cleavage in <i>Delftia acidovorans</i> MC1	Septiembre/2004
D2	Transgenic Research 9: 355-382	Molecular biology of weed control	2000

D1 divulga dos nuevos genes (rdpA y sdpA) que codifican para una dioxigenasas enantioespecificas dependientes de alfa-cetoglutarato que catalizan la escisión de R,S-diclorprop en *Delftia acidovorans*.
<http://aem.asm.org/content/70/9/5357.full.pdf+html>

D2 divulga la obtención de plantas resistente a herbicidas, dichas plantas pueden ser obtenidas por transformación introduciendo genes que generen resistencia al herbicida deseado
<http://www.marz-kreations.com/WildPlants/ASTR/Docs/CNZBO/HerbicidesWeed.pdf>

9. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel Inventivo (Art18 D486)

Ya que las reivindicaciones independientes 8, 24, 34, 44, 45, 56, 59, 85 son poco precisas en la materia que el solicitante desea proteger, se decide realizar el examen de patentabilidad sobre los polinucleótidos que codifican enzimas que confieren resistencia a un herbicida 2,4-D.

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

Características esenciales	D1	D2
Polinucleótidos que codifican enzimas que confieren resistencia a herbicidas 2,4-D	Nucleótidos que codifican enzimas dioxigenasas (AY327575) que degradan herbicidas como 2,4-D	Obtención de plantas resistentes a herbicidas por introducción de polinucleótidos que generan dicha resistencia.

Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque: D1 divulga un gen que codifica para una enzima dioxigenasa capaz de degradar un herbicida, dicho polipéptido y la secuencia nucleótido que lo codifica corresponde 100% con las SEQ ID NO: 2 y 1 de la presente invención (Numero AY327575 página 5359 columna derecha quinto párrafo). D2 divulga que hay un gran interés en la obtención de plantas resistente a herbicidas, dichas plantas pueden ser obtenidas por transformación introduciendo genes que generen resistencia al herbicida deseado (Página 356, columna izquierda, primer párrafo, líneas 19 a 21).

La diferencia entre la invención y D1 consiste en que en la invención el polipéptido es introducido y expresado en una célula vegetal.

La diferencia entre la invención y D2 consiste en que en la invención se habla específicamente de polinucleótidos que codifican para enzimas degradadoras de herbicidas como 2,4-D.

El efecto que logra el incluir la introducción de un polinucleótido que codifica una enzima dioxigenasa es que provee a la planta de resistencia contra el herbicida.

Por lo tanto, el Problema Técnico Objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: "cómo modificar una célula vegetal con procedimientos divulgados en D2 para brinda una protección frente a herbicidas como 2,4-D". Sin embargo, la utilización del polinucleótidos de que expresen enzimas para degradar estos herbicidas, ya está divulgada en el documento D1.

En consecuencia, el la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría el polinucleótido que codifica para una enzima que confiere resistencia al herbicida 2,4-D de D1 en el procedimiento de D2 para llegar así al objeto de la reivindicación 8 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

10.Conclusión

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

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	Applied and environmental microbiology, p. 5357-5365 vol. 70, no. 9	8, 24, 34, 44, 45, 56, 59, 85	Nivel Inventivo
D2	Transgenic Research 9: 355-382	8, 24, 34, 44, 45, 56, 59, 85	Nivel Inventivo

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

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante para... y presentarla por escrito

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (C)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha

27 JUN. 2012

Elaborado por: Sandra Carolina Crespo Cárdenas
Revisado Por: Consuelo Leguizamón Leguizamón
Aprobado por: José Luis Salazar López



Localization and Characterization of Two Novel Genes Encoding Stereospecific Dioxygenases Catalyzing 2(2,4-Dichlorophenoxy)propionate Cleavage in *Delftia acidovorans* MC1

Kathleen M. Schleinitz,¹ Sabine Kleinsteuber,^{1*} Tatiana Vallacys,^{2,3} and Wolfgang Babel¹

Department of Environmental Microbiology, UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle, Leipzig, Germany,¹ and Institut National de la Recherche Agronomique² and Laboratoire de Génétique des Microorganismes Pathogène, Institut Pasteur,³ Paris, France

Received 11 March 2004/Accepted 20 May 2004

Two novel genes, *rdpA* and *sdpA*, encoding the enantiospecific α -ketoglutarate dependent dioxygenases catalyzing *R,S*-dichlorprop cleavage in *Delftia acidovorans* MC1 were identified. Significant similarities to other known genes were not detected, but their deduced amino acid sequences were similar to those of other α -ketoglutarate dioxygenases. RdpA showed 35% identity with TauD of *Pseudomonas aeruginosa*, and SdpA showed 37% identity with TfdA of *Ralstonia eutropha* JMP134. The functionally important amino acid sequence motif HX(D)E(X)₂₃₋₂₆(T/S)X₁₁₄₋₁₈₃HX₁₀₋₁₃R/K, which is highly conserved in group II α -ketoglutarate-dependent dioxygenases, was present in both dichlorprop-cleaving enzymes. Transposon mutagenesis of *rdpA* inactivated *R*-dichlorprop cleavage, indicating that it was a single-copy gene. Both *rdpA* and *sdpA* were located on the plasmid pMC1 that also carries the lower pathway genes. Sequencing of a 25.8-kb fragment showed that the dioxygenase genes were separated by a 13.6-kb region mainly comprising a *Tn501*-like transposon. Furthermore, two copies of a sequence similar to *IS91*-like elements were identified. Hybridization studies comparing the wild-type plasmid and that of the mutant unable to cleave dichlorprop showed that *rdpA* and *sdpA* were deleted, whereas the lower pathway genes were unaffected, and that deletion may be caused by genetic rearrangements of the *IS91*-like elements. Two other dichlorprop-degrading bacterial strains, *Rhodospirillum rubrum* sp. strain P230 and *Sphingobium herbicidovorans* MH, were shown to carry *rdpA* genes of high similarity to *rdpA* from strain MC1, but *sdpA* was not detected. This suggested that *rdpA* gene products are involved in the degradation of *R*-dichlorprop in these strains.

Chlorinated phenoxyalkanoic acids such as 2,4-dichloro-*p*-oxyacetate (2,4-D), 2-methyl-4-chlorophenoxyacetate (MCPA), 2(2,4-dichlorophenoxy)propionate (dichlorprop), and 2-methyl-4-chlorophenoxypropionate (mecoprop) have been widely used as broad leaf herbicides since their introduction in the 1940s. The ability to degrade the phenoxyacetate herbicides is widespread among bacteria (16). In contrast, the breakdown of the structurally very similar chiral phenoxypropionate derivatives is far less widespread, and only few strains capable to mineralize these compounds have been described (9, 30, 35, 42, 50).

Degradation of phenoxyalkanoate herbicides is initiated by the enzymatic cleavage of the side chain yielding the respective phenol (Fig. 1). Subsequently, conversion into intermediates of the tricarboxylic acid cycle takes place via the modified *ortho*-pathway (16). Side chain cleaving specificity is crucial and determines the range of substrates that can be mineralized by a given microorganism.

Thus far, two types of 2,4-D cleaving enzymes have been described. In *Ralstonia eutropha* JMP134, 2,4-D cleavage is catalyzed by a well-studied Fe(II) and α -ketoglutarate (α KG)-dependent dioxygenase, which is encoded by *tfdA* (13, 20, 39, 48, 59). The presence of the functionally essential motif HX(D/

E)X₂₃₋₂₆(T/S)X₁₁₄₋₁₈₃HX₁₀₋₁₃R/K indicates that TfdA is related to several other (referred to as group II) α KG-dependent dioxygenases (18). Recently, a three-dimensional model of the active site was proposed (10) on the basis of predictions made from site-directed mutagenesis studies (20) and secondary structure predictions (10). The identity of the suggested substrate-binding residues was confirmed by site-directed mutagenesis and inactivation studies (8). The *tfdA* genes are widespread among bacteria (17, 31, 33, 36, 39, 42, 47, 53, 54, 55, 56), also among strains unable to degrade 2,4-D (19). Recently, several α -proteobacterial strains were shown to carry *tfdA*-like genes, which are *tfdA*-like, showing between 46 and 60% nucleotide identity to the canonical *tfdA* genes and forming a phylogenetic clade distinct from *tfdA* (22, 23). Three other genes, clustered as *cadABC*, were found to encode a second type of 2,4-D-cleaving enzyme, a putative monooxygenase responsible for 2,4-D cleavage in *Bradyrhizobium* sp. strain HW13 (24).

Studies on *Sphingobium* (formerly *Sphingomonas* [48]) *herbicidovorans* MH and *Delftia acidovorans* MC1 indicated that enantiospecific dichlorprop and mecoprop cleavage is catalyzed by Fe(II)- and α KG-dependent dioxygenases (35, 38). The enzymes have been biochemically characterized (34, 38, 57, 58), but no data regarding the genetic background are yet available. Thus far, the dioxygenases have been assumed to be *tfdA* gene products (39), because some dichlorprop- and mecoprop-degrading strains carry *tfdA* genes (36, 39) and cell extracts of *R. eutropha* strain JMP134 showed some specificity

*Corresponding author. Mailing address: UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle, Department of Environmental Microbiology, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig, Germany. Phone: 49-341-235-190. Fax: 49-341-235-2247. E-mail: sabine.kleinsteinberg@ufz.de.



Molecular biology of weed control *

Jonathan Gressel

Plant Sciences, Weizmann Institute of Science, Rehovot, IL-76100, Israel (Fax: 972-8-9344181;

E-mail: Jonathan.Gressel@weizmann.ac.il)

Key words: deleterious transposons, herbicide-resistant crops, introgression, transgenetic mitigation, weed control

Abstract

The vast commercial effort to utilize chemical and molecular tools to solve weed control problems has had a major impact on the basic biological sciences as well as benefits to agriculture, and the first generation of transgenic products has been successful, while somewhat crude. More sophisticated products are envisaged and expected. Biotechnologically-derived herbicide-resistant crops have been a considerable benefit, yet in some cases there is a risk that the same useful transgenes may introgress into related weeds, specifically the weeds that are hardest to control without such transgenic crops. Biotechnology can also be used to mitigate the risks. Molecular tools should be considered for weed control without the use of, or with less chemicals, whether by enhancing crop competitiveness with weeds for light, nutrients and water, or via allelochemicals. Biocontrol agents may become more effective as well as more safe when rendered hypervirulent yet non-spreading by biotechnology. There might be ways to disperse deleterious transposons throughout weed populations, obviating the need to modify the crops.

Abbreviations: ACCase – acetyl CoA carboxylase; ALS – acetolactate synthase; BD-HRC – biotechnologically-derived herbicide-resistant crops; DT – deleterious transposons; EPSP synthase – enolpyruvate-shikimate phosphate synthase; TM – transgenetic mitigation.

Introduction

It may seem hard to realize that there has been and is an intimate, bidirectional relationship between molecular biology – a most basic biological science – and weed control, the most basic as well as basic agricultural practice. Weed control, as practiced for millennia is basic because it has employed the majority of mankind on this planet since crops were domesticated, yet has been the lowest paying mass employment known. Weed control can be one of the most physically taxing tasks, yet typically more women are employed in weeding than men. Without weed control there is virtually no crop to harvest. The advent of mechanization (tractor plowing and cultivating) replaced much

of the hand labor in the developed world as well as the developing parts of the third world. Mechanical weed control is fraught with high energy costs, facilitates soil erosion and compaction and has been largely replaced by chemical weed control using herbicides that can selectively eradicate weeds from crops. As countries industrialize and develop economically, cheap farm labor becomes unavailable, increasing the necessity for cost-effective chemical weed control.

Selectivity between a crop and its associated weeds is no mundane trait to find in a chemical. It is based on the immense biodiversity of metabolic pathways abounding in the plant kingdom. Too often there is no selective chemical that can control a particular weed in a particular crop, and the weed infestations understandably worsen based on simple ecological, genetic and biochemical principles. No single agricultural practice used extensively in the past to control weeds has remained as useful as initially presumed.

* International Standards Organization (ISO) accepted common names of herbicides are used throughout. The chemical names can be found in Tomlin (1994). Occasionally, molecular biologists have used non-accepted common names for herbicides. Their synonyms will be given in parenthesis at first use in this review.