

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 13-208481- -8	FECHA: 2015-11-24 17:36:15
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 6
ACT: 519 TRASLADOINFORME	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
ANDRÉS MÁRQUEZ ACOSTA

Asunto: Radicación: 13-208481- -8
 Trámite: 11
 Evento: 378
 Actuación: 519
 Oficio: 13944
 Folios: 6

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/CN2012/071825				
Fecha de Presentación Internacional	01/03/2012				

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:	13-208481-00000-0000	03/Septiembre/2013
Reivindicaciones:	13-208481-00000-0000	03/Septiembre/2013
Respuesta:	13-208481-00007-0000	29/Octubre/2014
Dibujos:	13-208481-00000-0000	03/Septiembre/2013
Secuencias:	13-208481-00000-0000	03/Septiembre/2013
Prioridad:	201110052238.5	04/Marzo/2011

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta 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

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En la presente solicitud

se estudiarán las 2 reivindicaciones del radicado N° 13-208481-00007-0000, ya que el solicitante canceló las tasas de presentación, modificación y de reivindicaciones adicionales.

Título de la solicitud: “Método de preparación de una medicina de polipéptido antibacterial recombinante a partir de *Escherichia coli* con plásmido recombinante” (modificado radicado N° 13-208481-00007-0000).

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de proporcionar péptidos antibacterianos a gran escala.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un método para la preparación de un polipéptido antibacterial recombinante.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): C12P 21/00

4. De la solicitud de patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

1. La reivindicación 1 no es clara, ya que su etapa a) que hace referencia a “*preparar una cepa de Escherichia coli que comprende el plásmido recombinante*”, es muy general y no describe las condiciones precisas mediante la cual se obtiene dicha cepa, además se refiere a un plásmido recombinante pero este no se encuentra definido por su estructura que corresponde a su secuencia completa de nucleótidos (SEQ ID NO). Adicionalmente los pasos (b) y (c) tampoco son claros ya que el paso b debe incluir las condiciones del cultivo y el (c) debe referirse a las condiciones a las cuales se lleva a cabo la expresión del péptido, ahora bien ya que el método se refiere a un péptido antibacterial específico, este debe referenciarse por su estructura en las reivindicaciones que lo mencionen, dicha estructura comprende su secuencia completa de aminoácidos (SEQ ID NO). Se recomienda al solicitante organizar adecuadamente la reivindicación para mencionar las características esenciales en cada uno de los pasos mencionados y referenciar las macromoléculas biológicas del método por sus respectivas SEQ ID NO.
2. La reivindicación 2 no es clara ya que se refiere a un paso previo del método de la reivindicación 1, el cual debe estar incluido en la reivindicación independiente ya que se considera un paso esencial para el desarrollo del mismo, de igual manera se debe incluir el nombre de la cepa de la bacteria *E. coli* empleada, así mismo se sugiere modificar la redacción ya que dicha reivindicación podría entenderse como un resultado a alcanzar.

Descripción (Art 28 D 486)

La descripción no es clara porque la información que contiene no permite que la persona del oficio normalmente versada en la materia pueda comprender el problema técnico y la solución aportada por la invención, ya que no se evidencia una definición estructural del péptido de interés generado por el péptido reclamado por la solicitante, así como tampoco la hay para los plásmidos recombinantes que se emplean en dicho método para llegar al péptido objeto del mismo.

Se requiere al solicitante hacer las aclaraciones necesarias.

5. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de la solicitud de prioridad: 04 de marzo de 2011, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta

solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	EP1609867	"Nucleic acid structure and expression carrier for enhancing recombinant protein production and mass-production of recombinant protein"	28/diciembre/2005
D2	CN101914603	"Fermentation method for production of recombination protein by lactose-induced pMFH carrier"	08/Julio/2010

El documento D1¹ divulga un nuevo antibiótico que corresponde a un péptido alostérico de colicina y un péptido de feromona de *Straphylococcus* y sus secuencias de nucleótidos relacionadas, así como su método de preparación (Pág. 1, resumen).

El documento D2² divulga un método de fermentación para la producción de una proteína recombinante por medio de un transportador pMFH inducido por lactosa, en dicha invención la expresión se alcanza satisfactoriamente al reemplazar el IPTG por lactosa como agente inductor en un medio de cultivo de fermentación optimizada (Pág. 1, Resumen).

6. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en: *“Un método de preparación de una medicina nueva de polipéptido antibacterial recombinante, caracterizado porque comprende los pasos de (...)”* (Ver página 8 del radicado No 13-208481-00007-0000).

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

Tabla 1

Características esenciales	D1	D2
Un método de preparación de un polipéptido antibacterial recombinante que comprende:	Un método para incrementar la producción de un producto génico seleccionado en una célula huésped que comprende (Pág. 58, Rev. 1)	No se menciona
(a)Preparar una cepa de <i>Esherichia coli</i> que comprende un plásmido recombinante y congelar para conservación.	(a) Clonar en una célula huésped de <i>E. coli</i> una secuencia génica que codifica un producto seleccionado (Pág. 58 y 61, Rev. 1 y 23)	No se menciona
(b)Cultivar a gran escala en un medio de producción líquido que comprende fosfato de hidrógeno de disodio 0.68%, fosfato de dihidrógeno de potasio 0.3%, cloruro de amonio 0.1%, cloruro de calcio 0.001%, sulfato de magnesio 0.02%, peptona 2.5%, polvo de extracto de levadura 0.75%, glucosa 0.2%, cloruro de sodio 0.6% y el resto de agua, a 220 rpm, 37°C, entre 3 a 8 horas.	Cultivar la célula huésped formada en el paso (a) en un medio adecuado que permita la expresión de dicha secuencia génica (Pág. 58, Rev. 1) donde el medio comprende: Na ₂ HPO ₄ (6 g/L), KH ₂ PO ₄ (3 g/L), NaCl (0.5 g/L), NH ₄ Cl (1 g/L), MgSO ₄ 7H ₂ O (1 mM), CaCl ₂ (0.1 mM), glucosa (0.4%) durante 7 horas (Pág. 17, Párr. [0142]) a 37°C y 250 rpm (Pág. 13, Párr. [0106])	Cultivo de la siembra inculada e inducción de la fermentación: inculo y fase de alimentación de 2.5 a 4h, inducción final en un medio de fermentación compuesto con: glucosa 2~8g/L, extracto de levadura 12~30g/L, triptona 8~24g/L, NaCl 2~6g/L, sulfato de amonio 1~3g / L, fosfato de hidrogeno disodio 4~10g/L, fosfato dihidrogeno de potasio 2 ~8g/L, ácido cítrico 0.5~2.4g/L, sulfato de magnesio hepthidratado 0.4 ~ 1.2g/L, solución de elementos en traza 1ml/L, agua desinoizada, ampicilina 100 µg/ml (Pág. 14, Rev. 1)
(c)Inducir la expresión y purificación del péptido antibacterial recombinante en las siguientes condiciones:	(c)Cosechar el producto génico expresado (Pág. 58, Rev. 1) mediante la adición de IPTG 500µM (Pág.13, Párr. [0109])	(d)Inducción de la fermentación (Pág. 14, Rev. 1) con las condiciones de cultivo de 35 a 40°C, 150-250 rpm, de 6 a 16 horas (Pág. 14, Rev. 2)

1 En línea: <http://www.google.com.ar/patents/EP1609867A1?hl=es&cl=en>

2 En línea: <http://www.google.ga/patents/CN101914603A?cl=en>

1. 220rpm, oxígeno máximo, 30°C entre 2-4 horas. 2. 30°C de 2-4 horas 3. Con IPTG 0.5mM, 42°C 0.5 horas y 4. 37°C de 1-2 horas	durante 4 horas (Pág. 13, Párr. [0107]).	
---	--	--

El documento D1 es considerado el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga un método para incrementar la producción de un producto génico seleccionado en una célula huésped que comprende (a) clonar en una célula huésped de *E. coli* una secuencia génica que codifica un producto seleccionado, un primer ácido nucleico que codifica tioredoxina y un segundo ácido nucleico que codifica hemoglobina (b) cultivar la célula huésped formada en el paso (a) en un medio adecuado que permita la expresión de dicha secuencia génica (c) cosechar el producto génico expresado (Pág. 58 y 61, Rev. 1 y 23). Las cepas recombinantes se cultivaron en un medio que contenía los siguientes componentes: Na₂HPO₄ (6 g/L), KH₂PO₄ (3 g/L), NaCl (0.5 g/L), NH₄Cl (1 g/L), MgSO₄ 7H₂O (1 mM), CaCl₂ (0.1 mM), glucosa (0.4%) (Pág. 17, Párr. [0142]) mediante la adición de IPTG 500µM (Pág.13, Párr. [0109]) durante 4 horas (Pág. 13, Párr. [0107]). Adicionalmente el documento D1 enseña que antes del cultivo las colonias son seleccionadas individualmente desde placas de agar solido e inoculadas en 5mL de medio LB que contiene 15 µg/mL de estreptomycin a 37°C toda la noche (Pág. 13, Párr. [0106]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el método del documento D1 consiste en que el cultivo del medio de la solicitud comprende extracto de levadura y que las condiciones de cultivo incluyen agitación a 220 rpm y temperaturas de cultivo entre 30 a 42°C.

El efecto que logra el incluir un método que comprende medio que contiene extracto de levadura, agitación a 220 rpm y temperaturas de cultivo entre 30 a 42°C es que permite la producción de un polipéptido antibacterial recombinante.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar el método divulgado en el documento D1 para producir un polipéptido antibacterial recombinante”.

Sin embargo, un método que comprende el cultivo de una bacteria y la inducción de la fermentación que se divide en: inoculación, fase de alimentación de 2.5 a 4h e inducción final en un medio de fermentación compuesto de: glucosa 2~8g/L, extracto de levadura 12~30g/L, triptona 8~24g/L, NaCl 2~6g/L, sulfato de amonio 1~3g / L, fosfato de hidrogeno disodio 4~10g/L, fosfato dihidrogeno de potasio 2 ~8g/L, ácido cítrico 0.5~2.4g/L, sulfato de magnesio heptahidratado 0.4 ~ 1.2g/L, solución de elementos en traza 1ml/L, agua desionizada, ampicilina 100 µg/ml (Pág. 14, Rev. 1), ya había sido divulgado previamente por el documento D2 que enseña además como el paso de inducción de la fermentación (Pág. 14, Rev. 1) comprende las condiciones de cultivo de 35 a 40°C, 150-250 rpm, de 6 a 16 horas (Pág. 14, Rev. 2).

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría el extracto de levadura y emplearía las condiciones de cultivo sugeridas en el documento D2, en el método divulgado en el documento D1 para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Más aún si se tiene en cuenta que existen diversos medios divulgados en el estado de la técnica para la producción de proteínas recombinantes que incluyen los rangos de porcentajes en peso para los componentes reclamados en el método de la solicitud³, así como varias temperaturas de inducción de la producción de las mismas dependiendo de los sistemas de expresión empleados⁴, por lo cual la reivindicación 1 se considera obvia.

La reivindicación dependiente 2 no adiciona características técnicas que hagan inventivo el

3 En línea: <http://www.falw.vu/~microb/Protocols/coen/media%20buffers%20reagents.pdf>

4 En línea: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bit.10660/pdf>

método de la reivindicación 1, por lo cual se considera obvia.

Conclusión:

La reivindicación 1 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

7. Conclusión

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

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	EP 1609867	1 y 2	Nivel inventivo
D2	CN 101914603	1 y 2	Nivel inventivo

8. Respuesta a los argumentos del señor solicitante

Argumentos con respecto al análisis de nivel inventivo

1. El señor solicitante argumenta que la solicitud comprende una serie de diferencias con el estado del arte D1, dentro de las cuales se encuentran que el medio allí empleado comprende extracto de levadura y peptona, además de que dicha anterioridad no enseña los pasos de realizar un cultivo a gran escala y de realizar una expresión de inducción.

Se aclara que contrario a lo afirmado por la solicitante los pasos de realizar un cultivo a gran escala y de realizar una expresión de la inducción si han sido sugeridos en el documento D1, ya que este enseña como partiendo de un cultivo de 5mL de medio LB se realiza un inóculo en un medio de cultivo de 20mL de LB y se realiza la correspondiente inducción empleando el agente IPTG a la misma concentración señalada por la solicitante (Pág. 13, Párr. [0106-0107]). Ahora bien en relación con el uso de extracto de levadura y peptona como bien se mencionó en el análisis de nivel inventivo dichos reactivos además de ser ampliamente conocidos en el estado de la técnica en medios para el crecimiento de *E. coli*³, ya han sido empleados en medios de composición similar como el medio divulgado en el documento D2, por lo cual se reitera que para una persona medianamente versada en la materia sería evidente llegar al método reivindicado a través de la combinación de las enseñanzas de estos documentos (Pág. 14, Rev. 1).

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 del día siguiente 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 de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

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 2015-12-01

Elaboró: Paula Andrea Moreno Gonzalez
Revisó: Diego Armando Galvis Sanchez

INFORME DE BÚSQUEDA DE PATENTES PARA EL No de Radicación: 13-208481							
CRITERIOS PARA LA BÚSQUEDA (anexar pantallazo o reporte en PDF, junto con los boleanos utilizados)							
Palabras clave utilizadas		"culture medium for E. coli" "protein expression in E. coli"					
CLASIFICACIONES INTERNACIONALES UTILIZADAS PARA LA BÚSQUEDA		C12P 21/00					
BASES DE DATOS CONSULTADAS.							
Google patents		Science direct		Espacenet		WIPO	
Pubmed							
INFORMES DE EXÁMENES REALIZADOS EN OTRAS OFICINAS (documentos patentes, literatura no patente etc...)							
Oficina	Fecha del examen o de reporte de búsqueda de documentos	Anterioridades encontradas para el examen o reportados en el examen de búsqueda(relacionarlos todos)	Reiv. afectadas	RELEVANCIA (requisito que afecta)	FUERON TENIDOS EN CUENTA PARA EL EXAMEN EN LA OFICINA COLOMBIANA		
					SI	NO	
EUROPEA	10/09/2013	EP 1609867	1-6	Nivel inventivo	X		
USPTO	05/02/201	CN 1712534 CN 101643501 CN 101914603 WO 2009126890		A	X		
		Ruiz T et al, "Cloning of the Pichia anomala SEC61 Gene and Its Expression in a Saccharomyces cerevisiae sec61 Mutant Current Microbiology". Vol: 46, Nr: 5, Page(s): 340 - 344		A		X	
Arun Sivashanmugam et al "Practical protocols for production of very high yields of recombinant proteins using Escherichia coli" Protein Sci. 2009 May; 18(5): 936–948.							
EMBL "Protein Expression E.coli N15 and C13 labelling of proteins in E. coli" https://www.embl.de/pepcore/pepcore_services/protein_expression/ecoli/n15_c13/							
PROVOST & WALLERT RESEA "E. Coli Culture for Protein Expression" Investigating the Biochemistry & Cellular Physiology of NH 1998							
BÚSQUEDA DE SECUENCIAS							
Número de depósito / patente y N° de secuencia % de identidad							
SEQ ID NO (de la solicitud)	NCBI	The Lens	EMBL-EBI	DDJB	Genome Quest		

CRITERIOS DE BÚSQUEDA / UNIDAD DE INVENCION (Pantallazos)

culture medium for E. coli

[Web](#) [Noticias](#) [Imágenes](#) [Shopping](#) [Vídeos](#) [Más ▼](#) [Herramientas de](#)

Aproximadamente 1.430.000 resultados (0,34 segundos)

Artículos académicos para culture medium for E. coli ✓

Culture medium for enterobacteria - [Neidhardt](#) - Citado por 2196

... cell division in **Escherichia coli** by electrolysis products ... - [Rosenberg](#) - Citado por 2104

... of human growth hormone into the **culture medium** - [Hsiung](#) - Citado por 73

Selective growth media for differentiation and detection of ... ✓

www.sigmaaldrich.com/.../selective-growth-media.ht... ▼ Traducir esta página

Selective Growth Media for Differentiation and Detection of *Escherichia coli* and Other Coliforms ... Easy to culture, *E. coli* is often used in molecular biology.

Bacterial E.coli Growth Media - Expression Technologies Inc. ✓

www.exptec.com/Bacterial%20E.coli%20Growth%2... ▼ Traducir esta página

LB broth is the most commonly used medium in molecular biology for *E.coli* cell culture. Easy to make, fast growth rate of most *E.coli* strains, readily available ...

[PDF] E coli growth media.pdf ✓

people.virginia.edu/.../E%20coli%20growth%20med... ▼ Traducir esta página

E. coli growth media. LB: For 1 L. • 10 g tryptone. • 5 g yeast extract. • 10 g NaCl. • Optional: Bring up the volume to around 900 mL with ddH₂O, then adjust the ...

Bacterial Growth Media | Thermo Fisher Scientific ✓

<https://www.thermofisher.com/...culture/...culture/ba...> ▼ Traducir esta página

protein expression in E. coli

Web Imágenes Vídeos Noticias Shopping Más ▼ Herramientas

Aproximadamente 1.940.000 resultados (0,43 segundos)

Gibco™ Protein Expression - thermofisher.com

Anuncio www.thermofisher.com/ ▼

Mammalian, insect, yeast, algae, prokaryotic expression systems.

Highest quality · Highest consistency · Highest performance · One website.

Thermo Fisher Scientific tiene 1.092 seguidores en Google+.

[ExpiCHO Expression System](#)

[Structural Biology](#)

[Expi293™ System](#)

[Protein Exp. Support](#)

Protein Expression & More - aldevron.com

Anuncio www.aldevron.com/protein/expression ▼

Plus Characterization Services for Bacterial, Mammalian Cells

E. coli Expression System - Creative-Biolabs.com

Anuncio www.creative-biolabs.com/Ecoli-System ▼

Get Comprehensive Protein Expression In E. coli.High Purity.Contact Us Now

Free consultation · Satisfaction Guarantee · Price on Request

[Online Inquiry](#) · [About Us](#) · [Mammalian Expression](#) · [Yeast Expression](#)

Artículos académicos para protein expression in E. coli ✓

[Protein expression in E. coli minicells by recombinant ...](#) - [Meagher](#) - Citado por 316

[Recombinant protein expression in Escherichia coli](#) - [Baneyx](#) - Citado por 1424

[... heterologous protein expression in Escherichia coli](#) - [Hannig](#) - Citado por 448