

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 15-80428- -1	FECHA: 2015-12-23 14:58:15
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 379 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO II
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 14
ACT: 519 TRASLADOINFORME	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
JUAN CARLOS CUESTA QUINTERO

Asunto: Radicación: 15-80428- -1
 Trámite: 11
 Evento: 379
 Actuación: 519
 Oficio: 15665
 Folios: 14

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I		Capítulo II	X
No. Solicitud Internacional	PCT/US2011/064191				
Fecha de Presentación Internacional	09/12/2011				

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:	Radicado 13-137536-00000-0000	06/Agosto/2013
Reivindicaciones:	Radicado 13-137536-00000-0000	10/Abril/2015
Dibujos:	Radicado 13-137536-00000-0000	06/Agosto/2013
Prioridades:	US 61/421,470	09/Diciembre/2010
	US 61/502,649	26/Junio/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. Presentación de solicitudes Fraccionarias (Art 36 D 486)

Se aceptan para examen la solicitud divisional presentada e identificada como 15-080428-00000-0000, derivada de la solicitud parental 13-137536, porque no implica ampliación de la materia contenida en la solicitud inicial.

Sin embargo, se aclara que la solicitud fraccionaria no está bien presentada, porque reivindica la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8, el CAR aislado que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y la célula ex vivo que comprende una secuencia de ácido nucleico aislada de SEQ ID NO: 8, que son materia que ya estaba reivindicada en la solicitud parental, según se observa en la siguiente tabla:

Radicado N° 15-080428-00000-0000 del 10 de Abril de 2015 (divisional)	Radicado N° 13-137536-00006-0000 del 19 de Noviembre de 2014 (capítulo reivindicatorio estudiado de la solicitud parental)
Reiv. 1. Una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NO: 14 y 18.	
Reiv. 2. La secuencia de ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8.	Reiv. 1. Una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8.
Reiv. 3. La secuencia de ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 15.	
Reiv. 4. La secuencia de ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 16.	
Reiv. 5. La secuencia de ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 17.	
Reiv. 6. La secuencia de ácido nucleico aislado de la reivindicación 1 que comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 9.	
Reiv. 7. Un receptor de antígeno quimérico aislado (CAR) que comprende las secuencias de aminoácidos SEQ ID NO: 20 y 24.	
Reiv. 8. El CAR aislado de la reivindicación 7 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12.	Reiv. 2. Un receptor de antígeno quimérico aislado (CAR) que comprende la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 12.
Reiv. 9. El CAR aislado de la reivindicación 7 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21.	
Reiv. 10. El CAR aislado de la reivindicación	

7 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22.	
Reiv. 11. El CAR aislado de la reivindicación 7 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23.	
Reiv. 12. Una célula ex vivo que comprende una secuencia de ácido nucleico aislada de una o cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.	Reiv. 3. Una célula ex vivo que comprende un receptor de antígeno quimérico CAR, donde el CAR comprende un dominio de unión con el antígeno CD19, un dominio transmembrana CD8alfa, una región de señalización co-estimuladora y un dominio de señalización CD3zeta. Reiv. 4. La célula ex vivo de la reivindicación 3, donde el CAR comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12. Reiv. 5. La célula ex vivo de la reivindicación 3, donde el aminoácido comprende la secuencia del aminoácido de SEQ ID NO: 24. Reiv. 6. La célula ex vivo de la reivindicación 3, donde el dominio de unión con el antígeno es un anticuerpo o uno de los fragmentos de unión con el antígeno.
Reiv. 13. Un vector que comprende las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NO: 14 y 18.	
Reiv. 14. El vector de la reivindicación 13 que además comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 15.	
Reiv. 15. El vector de la reivindicación 13 que además comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 16.	
Reiv. 16. El vector de la reivindicación 13 que además comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 17.	
Reiv. 17. El vector de la reivindicación 13 que además comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 8.	
Reiv. 18. El vector de la reivindicación 13 que además comprende la secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 9.	
	Reiv. 14. Un vector que comprende una secuencia de ácido nucleico de SEQ ID NO: 1.

4. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Título X 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; por tanto, se estudiarán la totalidad de las reivindicaciones (18) que contiene la presente solicitud.

Título de la solicitud: “Uso de las células T modificadas por receptor de antígeno quimérico para tratamiento de cáncer”.

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de desarrollar composiciones y métodos para el tratamiento del cáncer utilizando receptores de antígeno quiméricos (CARs) con capacidad de expandirse *in vivo*.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona secuencias de ácidos nucleicos aislados que codifican un CAR, donde dicho CAR comprende un dominio de unión al antígeno, un dominio transmembranal, una región de señalización coestimuladora, y un dominio de señalización CD3 zeta.

El objeto de la presente Solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K 39/00, C07H 21/04.

5. Excepciones a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literal (c))

El objeto de la reivindicación 12 no es patentable de acuerdo con el Artículo 20 lit. c) de la Decisión 486, puesto que hace referencia a células *ex vivo* que no se encuentran definidas en términos de una línea celular.

6. De la solicitud de patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las reivindicaciones 1 a 6 no son claras porque reclaman secuencias que corresponden a elementos aislados del receptor CAR de la invención, se sugiere a la solicitante caracterizar en una sola reivindicación el receptor CAR incluyendo todos los elementos que comprende, es decir, un dominio de unión con el antígeno, un dominio transmembrana CD8alfa, una región de señalización co-estimuladora y un dominio de señalización CD3zeta.

Las reivindicaciones 10 y 11 no son claras porque reclaman el receptor CAR por referencia a las secuencias de ácidos nucleicos de SEQ ID No: 22 y 23. Se recuerda a la solicitante que una proteína no puede definirse por la molécula de ácido nucleico que la codifica y que debe indicarse claramente la secuencia de aminoácidos del receptor completo, no únicamente de algunos dominios o elementos del mismo.

7. 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: 9 de diciembre de 2010, y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	J. Immunother. 32	Construction and Pre-clinical Evaluation of	

	(7), 689-702 (2009)	an Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor	Septiembre/2009
D2	Blood: 116 (20) 4099 - 4102	Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19	18/Noviembre/2010
D3	WO2002077029	"CD19-specific redirected immune cells"	03/Octubre/2002
D4	WO2010025177	"Method and compositions for enhanced anti-tumor effector functioning of t cells"	04/Marzo/2010

El documento D1¹ divulga células T que expresan receptores CAR que contienen una región de cadena sencilla variable (scFv) que reconoce CD19. El documento muestra que linfocitos T CD8+ y CD4+ que expresan el receptor anti-CD19-CAR producen interferón-gamma e interleuquina 2 en respuesta a células CD19+ y son citotóxicos frente a células de leucemia linfocítica crónica primaria (Resumen).

El documento D2² enseña los resultados de un estudio clínico en un paciente con linfoma folicular avanzado tratado con un régimen de quimioterapia seguido de transferencia autóloga de células T que expresan un receptor CAR anti-CD19 (Resumen).

El documento D3³ divulga células T diseñadas por ingeniería genética que expresan un receptor de células T quimérico que tiene un dominio extracelular que comprende un receptor que es específico para CD19, un dominio de señalización intracelular, y un dominio transmembrana (Resumen).

El documento D4⁴ enseña la integración de dominios de señalización coestimuladora dentro de un receptor de antígeno quimérico (CAR), tales como la IL13-zetakine específica IL13Rα2 (IL13ζ), para mejorar las respuestas mediadas por células T contra tumores (Resumen).

8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art 18 D486)

Reivindicación 1

La reivindicación 1 consiste en una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18.

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

Características esenciales	D1
Secuencia de ácido nucleico aislado que comprende:	Receptor CAR que contienen una región scFv que reconoce CD19, denominada FMC63, que comprende:
las secuencias SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18.	La secuencia con número de acceso HM852952 (Genbank) (Figura 1)

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga células T que expresan receptores CAR que contienen una región scFv que reconoce CD19, denominada FMC63, que corresponde al número de acceso HM852952 (Genbank) (Figure 1, D1), y que de acuerdo con el alineamiento BLAST comprende la secuencia SEQ ID NO: 14 en la región entre los

1 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2747302/>

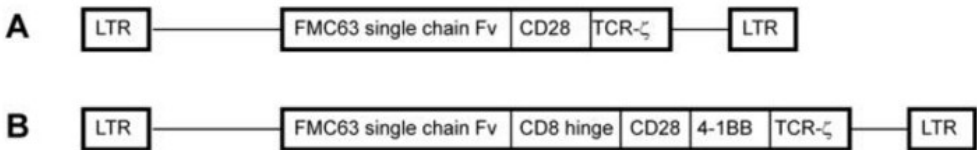
2 Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/116/20/4099.long?sso-checked=true>

3 Disponible en: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/description?CC=WO&NR=02077029A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20021003&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP

4 Disponible en: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/description?CC=WO&NR=2010025177A1&KC=A1&FT=D&ND=3&date=20100304&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP

nucleótidos 67 y 801, y la SEQ ID NO: 18, en la región entre los nucleótidos 1128 a 1467 con un 95 y 99% de identidad, respectivamente (Figura 1).

Figure 1



La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y la secuencia con número de acceso HM852952 (Genbank) divulgada en D1 es la región comprendida entre los nucleótidos 802 y 1127.

No se evidencia ningún efecto asociado a la modificación de un 5% en la secuencia SEQ ID NO: 14 respecto a la secuencia de FMC63, ya que los linfocitos T CD8+ y CD4+ que expresan el receptor anti-CD19-CAR de la solicitud presentan la misma actividad citotóxica frente a células de leucemia primaria, tal como la reportada en el documento D1 (Resumen).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo modificar la región scFv que reconoce CD19 divulgada en el receptror CAR de D1, para proporcionar un receptor CAR alternativo, que al expresarse en linfocitos CD8+ y CD4+, promueve la citotoxicidad frente a células CD19+ derivadas de pacientes con leucemia.

Sin embargo, para una persona del oficio normalmente versada en la materia, resultaría evidente que al realizar mutaciones silentes o conservativas en la región entre los nucleótidos 67 y 801 de la secuencia de FMC63 (HM852952 Genbank), que codifica específicamente para el dominio de unión scFv, se pueden obtener secuencias que codifiquen proteínas con las mismas propiedades biológicas, por lo cual se considera que la secuencia de la reivindicación 1 no cumple con el requisito de nivel inventivo.

Las reivindicaciones dependientes 2 a 6 no mencionan alguna característica que haga inventiva a la secuencia de ácido nucleico de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no cumplen con el requisito de nivel inventivo. Además, teniendo en cuenta que la anterioridad enseña vectores de expresión que contienen las secuencias que codifican para el receptor CAR, se establece que las reivindicaciones 12 a 18 carecen de niel inventivo frente a la divulgación D2.

WO_2012_079000_14+18			
RID	4UW174YF014 (Expires on 11-20 13:45 pm)		
Query ID	Ic Query_29187		
Description	WO_2012_079000_14+18		
Molecule type	nucleic acid		
Query Length	1062		
Database Name	nr		
Description	Nucleotide collection (nt)		
Program	BLASTN 2.2.32+ » Citation		

Synthetic construct FMC63-28Z receptor protein gene, complete cds
Sequence ID: [gb|HM852952.1](#) Length: 1470 Number of Matches: 2

Range 1: 67 to 801 GenBank Graphics					▼ Next Match	▲ Previous Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand		
1155 bits(625)	0.0	701/736(95%)	11/736(1%)	Plus/Plus		
Query 1	GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGAGACAGAGTCACC	60				
Sbjct 67	GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCTCTCTGGGAGACAGAGTCACC	126				
Query 61	ATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA	120				
Sbjct 127	ATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA	186				
Query 121	GATGGAAGCTGTTAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA	180				
Sbjct 187	GATGGAAGCTGTTAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA	246				
Query 181	AGGTTCAAGTGGCAGTGGGCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAA	240				
Sbjct 247	AGGTTCAAGTGGCAGTGGGCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAA	306				
Query 241	GAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGG	300				
Sbjct 307	GAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTCCGAGGG	366				
Query 301	GGGACCAAGCTGGAGATCAGAG-T--GGCGGTGGCT-CGG---G--CGGTGGTGGGTGG	351				
Sbjct 367	GGGACTAAGTTGSAATAACAGGCTCCACCTCTGGATCCGGCAAGCCCGGATCTGGCGAG	426				
Query 352	GGTGGCGGC-GGATCTGAGGTGAACTGCAAGAGTCAGGACCTGGCTGGTGGCGCCCTC	410				
Sbjct 427	GGATCCACCAAGGGC-GAGGTGAACTGCAAGAGTCAGGACCTGGCTGGTGGCGCCCTC	485				
Query 411	ACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAG	470				
Sbjct 486	ACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAG	545				
Query 471	CTGGATTGCGCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTATGTA	530				
Sbjct 546	CTGGATTGCGCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTATGTA	605				
Query 531	AACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAA	590				
Sbjct 606	AACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAA	665				
Query 591	GAGCCAAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTACTACTG	650				
Sbjct 666	GAGCCAAAGTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACTGATGACACAGCCATTACTACTG	725				
Query 651	TGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGAACCTC	710				
Sbjct 726	TGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAAGAACCTC	785				
Query 711	AGTCACCGTCTCCTCA	726				
Sbjct 786	AGTCACCGTCTCCTCA	801				

Range 2: 1128 to 1467 GenBank Graphics					▼ Next Match	▲ Previous Match	▲ First Match
Score	Expect	Identities	Gaps	Strand			
617 bits(334)	1e-172	338/340(99%)	0/340(0%)	Plus/Plus			
Query 723	CTCAAGAGTGAAGTTGAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACAAGCAGGGCCAGAACCA	782					
Sbjct 1128	CTCAAGAGTGAAGTTGAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCTACCAGCAGGGCCAGAACCA	1187					
Query 783	GCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGACAAGAGACG	842					
Sbjct 1188	GCTCTATAACGAGCTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTGGACAAGAGACG	1247					
Query 843	TGGCCGGGACCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCCTGTA	902					
Sbjct 1248	TGGCCGGGACCTGAGATGGGGGGAAGCCGAGAAGGAAGAACCTCAGGAAGGCCTGTA	1307					
Query 903	CAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGA	962					
Sbjct 1308	CAATGAAGTGCAGAAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGA	1367					
Query 963	GCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGA	1022					
Sbjct 1368	GCGCCGAGGGGCAAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGA	1427					
Query 1023	CACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCTCTGC	1062					
Sbjct 1428	CACCTACGACGCCCTTACATGCAGGCCCTGCCCTCTGC	1467					

Figura. 1. Alineamiento BLAST entre las secuencias de la reivindicación 1 que comprende la SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18 (Query) y la secuencia del constructo FMC63-28Z (HM852952 Genbank)⁵ divulgada en los documentos D1 y D2 (Subject).

La reivindicación 1 consiste en una secuencia de ácido nucleico aislado que comprende las secuencias de ácido nucleico de SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18.

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

5 Disponible en: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/305690546?report=genbank&log\\$=nuclalign&blast_rank=1&RID=4UPFHPU601R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/305690546?report=genbank&log$=nuclalign&blast_rank=1&RID=4UPFHPU601R)

Características esenciales	D2
Secuencia de ácido nucleico aislado que comprende:	Receptor CAR anti-CD19 que contiene una región variable de reconocimiento scFv, denominada FMC63, que comprende:
las secuencias SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 18.	La secuencia con número de acceso HM852952 (Genbank) (<i>Section Methods</i>)

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga el tratamiento de un paciente con linfoma folicular avanzado por transferencia autóloga de células T que expresan un receptor CAR anti-CD19 que contiene una región variable de reconocimiento scFv, denominada FMC63 unida a una parte de CD28 y al dominio de señalización de la molécula CD3ζ (*Section Methods*), y que de acuerdo con el alineamiento BLAST comprende la secuencia SEQ ID NO: 14 en la región entre los nucleótidos 67 y 801, y la SEQ ID NO: 18, en la región entre los nucleótidos 1128 a 1467 con un 95 y 99% de identidad, respectivamente (Figura 1).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y la secuencia del receptor CAR FMC63 divulgado en D2 es la región comprendida entre los nucleótidos 802 y 1127.

No se evidencia ningún efecto asociado a la modificación de un 5% en la secuencia SEQ ID NO: 14 respecto a la secuencia de FMC63, ya que los linfocitos T del paciente que fueron transfectados y expresaron el receptor CAR - CD8+ (66%) y CD4+ (34%) – fueron capaces de reconocer células CD19+ *in vitro* (*Section Methods*) y luego de la transferencia autóloga inducen una remisión durante 32 semanas (*Results Figure 2D*).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo modificar la región scFv que reconoce CD19 divulgada en el receptor CAR de D2, para proporcionar un receptor CAR alternativo, que al expresarse en linfocitos CD8+ y CD4+, promueva la citotoxicidad frente a células CD19+ *in vitro* e *in vivo*.

Sin embargo, para una persona del oficio normalmente versada en la materia, resultaría evidente que al realizar mutaciones silentes o conservativas en la región entre los nucleótidos 67 y 801 de la secuencia de FMC63 (HM852952 Genbank), que codifica específicamente para el dominio de unión scFv, se pueden obtener secuencias que codifiquen proteínas con las mismas propiedades biológicas, por lo cual se considera que la secuencia de la reivindicación 1 no cumple con el requisito de nivel inventivo.

Las reivindicaciones dependientes 2 a 6 no mencionan ninguna característica que haga inventiva a la secuencia de ácido nucleico de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no cumplen con el requisito de nivel inventivo. Además, teniendo en cuenta que la anterioridad enseña vectores de expresión que contienen las secuencias que codifican para el receptor CAR, se establece que las reivindicaciones 12 a 18 carecen de nivel inventivo frente a la divulgación D2.

Reivindicación 7

La reivindicación 7 consiste en un receptor CAR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 24.

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

Características esenciales	D2
Receptor CAR que comprende:	Receptor CAR anti-CD19 que contiene una región variable de reconocimiento scFv, denominada FMC63, que comprende:

Características esenciales	D2
las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 24.	La secuencia con número de acceso ADM64594 (Genbank) (<i>Section Methods</i>)

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga el tratamiento de un paciente con linfoma folicular avanzado por transferencia autóloga de células T que expresan un receptor CAR anti-CD19 que contiene una región variable de reconocimiento scFv, denominada FMC63 unida a una parte de CD28 y al dominio de señalización de la molécula CD3ζ - número de acceso ADM64594- (*Section Methods*), y que de acuerdo con el alineamiento BLAST comprende la secuencia SEQ ID NO: 20 y la SEQ ID NO: 24, con un 96 y 99% de identidad, respectivamente (Figura 2).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 7 y la secuencia del receptor CAR FMC63 divulgado en D2 son 8 aminoácidos.

No se evidencia ningún efecto asociado a la modificación de 7 y 1 aminoácido en las secuencias SEQ ID NO: 20 y 24, respectivamente, frente a la secuencia de FMC63, ya que los linfocitos T del paciente que fueron transfectados y expresaron el receptor CAR - CD8+ (66%) y CD4+ (34%) – fueron capaces de reconocer células CD19+ *in vitro* (*Section Methods*) y luego de la transferencia autóloga inducen una remisión durante 32 semanas (*Results Figure 2D*).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: cómo modificar la región scFv que reconoce CD19 divulgada en el receptor CAR de D2, para proporcionar un receptor CAR alternativo, que al expresarse en linfocitos CD8+ y CD4+, promueva la citotoxicidad frente a células CD19+ *in vitro* e *in vivo*.

Sin embargo, para una persona del oficio normalmente versada en la materia, resultaría evidente que al realizar sustituciones conservativas, es decir, la sustitución de aminoácidos con propiedades fisicoquímicas equivalentes en la región del dominio de unión scFv que reconoce CD19, se pueden obtener proteínas con las mismas propiedades biológicas, por lo cual se considera que el receptor CAR de la reivindicación 7 no cumple con el requisito de nivel inventivo.

Las reivindicaciones dependientes 8 a 11 no mencionan alguna característica que haga inventivo al receptor CAR de la reivindicación 7, por lo cual se considera que no cumplen con el requisito de nivel inventivo.

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

```
WO_2012_079000_20      -----DIQMTQTTSSLASLGDRVTISCRASQDISKYLMMYQQ
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLASLGDRVTISCRASQDISKYLMMYQQ

WO_2012_079000_20      KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF

WO_2012_079000_20      GGGTKLEITGGG---GSGGGGSGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYG
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  GGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYG

WO_2012_079000_20      VSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKHMNSLQTDOTAIV
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  VSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKHMNSLQTDOTAIV

WO_2012_079000_20      YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGSTVTVSS-----
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGSTVTVSSAAAEIVMYPYPYLNEKSNGTIIHVKGKHLCPG

WO_2012_079000_20      -----
WO_2012_079000_24      -----
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  PLFPGSPKPFWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYVNMTPRRPGPTR

WO_2012_079000_20      -----
WO_2012_079000_24      -----RVKFSRSADAPAYKQGQNLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  KHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP

WO_2012_079000_20      -----
WO_2012_079000_24      EMGGKPRKPNQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  EMGGKPRKPNQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDA

WO_2012_079000_20      -----
WO_2012_079000_24      LHMQLPPR
gi|305690547|gb|ADM64594.1|  LHMQLPPR
```

Percent Identity Matrix - created by Clustal2.1

```
1: WO_2012_079000_20      100.00    -nan    95.87
2: WO_2012_079000_24      -nan    100.00    99.11
3: gi|305690547|gb|ADM64594.1|  95.87    99.11    100.00
```

Figura. 2. Alineamiento BLAST entre las secuencias de la reivindicación 7 que comprende la SEQ ID NO: 20 (WO_2012_079000_20) y SEQ ID NO: 24 (WO_2012_079000_24) y la secuencia del constructo FMC63-28Z (número de acceso ADM64594 Genbank)⁶ divulgada en el documentos D2.

La reivindicación 7 consiste en un receptor CAR que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 24.

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

Características esenciales	D3	D4
Receptor CAR que comprende:	Receptor CAR anti-CD19 que comprende:	Receptor CAR anti-CD19 que comprende:
las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y SEQ ID NO: 24.	un dominio transmembrana de CD4 o CD8 (Pág. 16, Párr. [0050] a Pág. 17, Párr. [0050]) y un dominio extracelular específico	un elemento de reconocimiento, un dominio transmembrana, una región de señalización co-estimuladora y un dominio de

⁶ Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/305690547>

Características esenciales	D3	D4
	para CD19 que corresponde a las cadenas variables de un anticuerpo monoclonal que une CD19 de secuencia SEQ ID No. 2 (Pág. 11, Párr. [0025] a Pág. 12, Párr. [0028])	señalización CD3 zeta de la secuencia SEQ ID No. 11 (Pág. 3, Párr. [007]),

El documento D3 se considera el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 7 porque divulga un receptor quimérico de célula T que comprende un dominio transmembrana de CD4 o CD8 (Pág. 16, Párr. [0050] a Pág. 17, Párr. [0050]) y un dominio extracelular específico para CD19 que corresponde a las cadenas variables de un anticuerpo monoclonal que une CD19 de secuencia SEQ ID No. 2 (Pág. 11, Párr. [0025] a Pág. 12, Párr. [0028]), el cual presenta una identidad de 94% frente a la secuencia SEQ ID NO: 20 del CAR reivindicado (Figura 3). Además, el documento D3 divulga un método para el tratamiento de patologías mediadas en parte por las células B tales como leucemias, desordenes linfoproliferativos, entre otros, que comprende la administración de células T CD4+ o CD8+ redirigidas frente a CD19 (Pág. 14, Párr. [0040-0043]).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 7 y el receptor CAR divulgado en el documento D3 consiste en la presencia de la SEQ ID NO: 24 que corresponde a la cadena zeta del CD3 humano en el CAR reivindicado.

El efecto que confiere la inclusión de la cadena zeta del CD3 es que actúa como una primera señal de estimulación para la célula T.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “cómo modificar los receptores de antígeno quimérico CARs conocidos en el estado de la técnica para obtener receptores quiméricos con respuesta mejorada”.

Sin embargo, la incorporación de dominios de estimulación y co-estimulación en receptores de antígenos quiméricos, ya había sido divulgada en el documento D4, el cual divulga un receptor quimérico de células T que comprende un elemento de reconocimiento, un dominio transmembrana, una región de señalización co-estimuladora y un dominio de señalización CD3 zeta de la secuencia SEQ ID No. 11 (Pág. 3, Párr. [007]), el cual presenta una identidad de 99% y una positividad del 100% frente a la secuencia SEQ ID NO: 24 del CAR reivindicado (Figura 4).

Por lo tanto, para una persona medianamente versada en la materia, habría resultado evidente incorporar un dominio de estimulación CD3 y co-estimulación 4-BB tal como lo divulga el documento D4 (Pág. 3, Párr. [007]), en el CAR divulgado en el documento D3 que comprende un dominio transmembrana de CD4 o CD8 (Pág. 16, Párr. [0050] a Pág. 17, Párr. [0050]) y un dominio extracelular específico para CD19 (Pág. 11, Párr. [0025] a Pág. 12, Párr. [0028]), para llegar así al objeto reclamado en la presente solicitud. Por ende, el receptor CAR divulgado en la presente solicitud se considera obvio y sin altura inventiva.

Dado que las reivindicaciones dependientes 8 a 11 no ninguna característica que haga inventivo al receptor CAR de la reivindicación 7, se considera que tampoco el requisito de nivel inventivo.

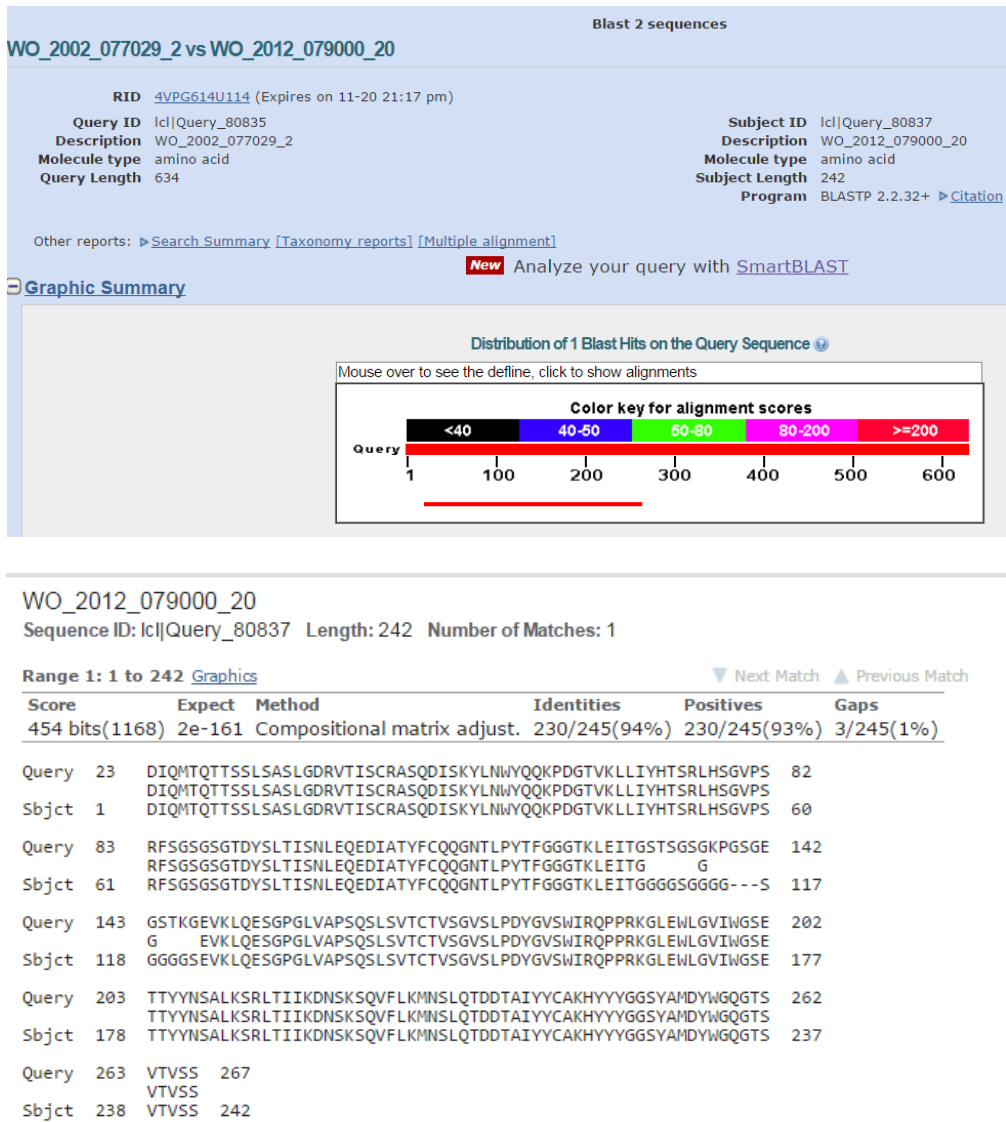
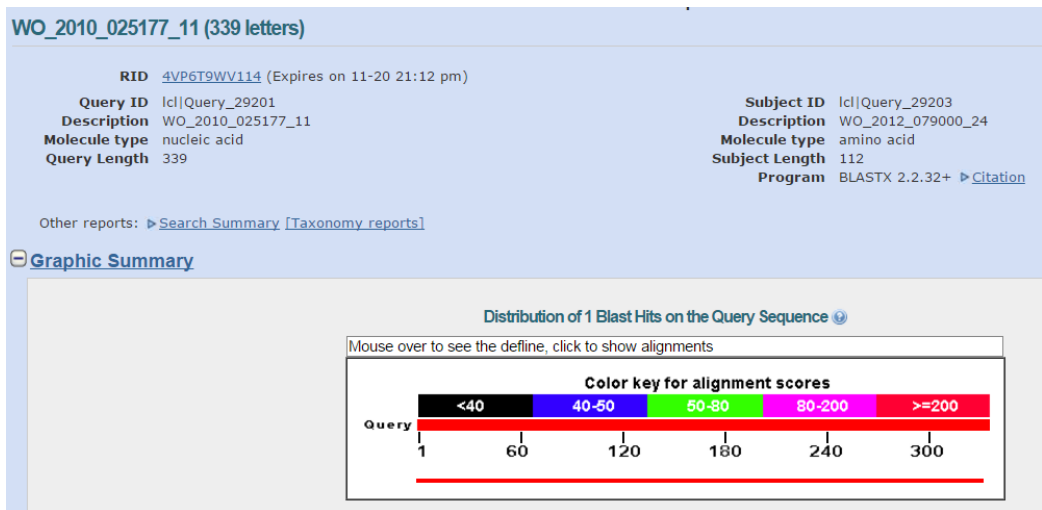


Figura 3. Alineamiento BLAST entre la secuencia SEQ ID NO: 20 (WO_2012_079000_20) de la reivindicación 7 de la presente solicitud (Subject) y la SEQ ID NO: 2 (WO_2002_07729_2) (Query) divulgada en el documento D3.



WO_2012_079000_24

Sequence ID: lc|Query_29203 Length: 112 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 112 [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps	Frame
226 bits(575)	6e-82	Compositional matrix adjust.	111/112(99%)	112/112(100%)	0/112(0%)	+1
Query 1	RVKFSRSADAPAYQGQNLQYNEINLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN					180
Sbjct 1	RVKFSRSADAPAY+QGQNLQYNEINLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN					60
Query 181	ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR					336
Sbjct 61	ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR					112

Figura 4. Alineamiento BLAST entre la secuencia SEQ ID NO: 24 (Subject) de la reivindicación 7 de la presente solicitud y la SEQ ID NO: 11 (WO_2010_025177_11) (Query) divulgada en el documento D4.

9. Conclusión

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

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	J. Immunother. 32 (7), 689-702 (2009)	1 a 6 y 12 a 18	Nivel Inventivo
D2	Blood: 116 (20) 4099 - 4102	1 a 18	Nivel Inventivo
D3	WO2002077029	7 a 11	Nivel Inventivo
D4	WO2010025177	7 a 11	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 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 2015-12-29

Elaboró: John Fredy Hernandez Montaño
Revisó: Sandra Carolina Crespo

INFORME DE BÚSQUEDA DE PATENTES PARA EL No de Radicación:						
CRITERIOS PARA LA BÚSQUEDA (anexar pantallazo o reporte en PDF, junto con los boleanos utilizados)						
Palabras clave utilizadas		Anti-CD19, Chimeric antigen receptors, T lymphocyte, CD19 scFv				
CLASIFICACIONES INTERNACIONALES UTILIZADAS PARA LA BÚSQUEDA						
BASES DE DATOS CONSULTADAS.						
espacenet		Scholar google		Ncbi pubmed		Ncbi blast
				The Lens		
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	2/12/2014	US2004043401	1-38	Novedad		X (documento indicado para parental sin modificación)
		WO2009091826	1-38	Novedad		X (documento indicado para parental sin modificación)
		Tammana et al.Human Gene Therapy 21(2010)	1-38	Novedad		X (no disponible texto completo)
		Carpenito, et al. pNAS 106(9) 2009	1-38	Novedad		X (receptor mesotelina no relacionado con divisional)
WIPO		[A]WO2010025177 [A]US2004043401 [A]US2009297994 [A]US7319143 [A]US7265209 [A]US7448191 [A]US7446190 [A]US6410319 [A]US7514537 [A]WO2010085660	Ninguna			

USPTO	27/04/2015	Ninguno				
DOCUMENTOS ADICIONALES ENCONTRADOS POR EL EXAMINADOR DE ACUERDO A LOS CRITERIOS DE BÚSQUEDA.						
WO02077029						
WO2010025177						
J. Immunother. 32 (7), 689-702 (2009)						
Blood: 116 (20) 4099 - 4102						
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	
14	número de acceso HM852952					
20 y 24	número de acceso ADM64594					

SEQ ID NO 14

WO_2012_079000_14

RID [4UPFHPU601R](#) (Expires on 11-20 12:11 pm)

Query ID lcl|Query_163923

Description WO_2012_079000_14

Molecule type nucleic acid

Query Length 726

Database Name nr

Description Nucleotide collection (nt)

Program BLASTN 2.2.32+ [Citation](#)

Other reports: [Search Summary](#) [Taxonomy reports](#) [Distance tree of results](#)

Graphic Summary

Distribution of 111 Blast Hits on the Query Sequence

Mouse-over to show define and scores, click to show alignments

Color key for alignment scores

Score Range	Color
<40	Black
40-50	Blue
50-80	Green
80-200	Pink
>=200	Red

Query 1 100 200 300 400 500 600 700

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
☐	Synthetic construct FMC63-28Z receptor protein gene, complete cds	1155	1155	100%	0.0	95%	HM852952.1
☐	Mus musculus mRNA for immunoglobulin heavy chain variable region, subunits VH, DH and JH	660	660	49%	0.0	99%	Y14283.1
☐	Mus musculus mRNA for immunoglobulin light chain variable region, subunits VL and JL	571	571	44%	6e-159	99%	Y14284.1
☐	Mus musculus isolate B-N6 immunoglobulin light chain variable domain mRNA, partial cds	556	556	45%	2e-154	97%	AF434688.1
☐	Mus musculus clone iD3-02 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	547	547	42%	1e-151	98%	JX492565.1
☐	Mouse Ig rearranged kappa-chain (V-IdCR J2) gene V10-J region, hybridoma KL2.29, partial cds	547	547	42%	1e-151	98%	M63611.1
☐	Mouse Ig active kappa-chain mRNA V-J5 region, clone 18C10	547	547	42%	1e-151	98%	M27793.1
☐	Mus musculus anti-idiotypic 4G9 monoclonal antibody light chain mRNA, partial cds	542	542	42%	4e-150	98%	DQ020030.1
☐	Mus musculus clone TL2.3 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	536	536	42%	2e-148	98%	DQ279862.1
☐	Mus musculus clone 3F9 anti-alpha-2 integrin I-domain immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	536	536	43%	2e-148	97%	AY853693.1
☐	Mus musculus clone SPL23 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	536	536	42%	2e-148	98%	AY648680.1
☐	Mus musculus mAb 8.5.1 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	532	532	42%	3e-147	97%	AF163739.1
☐	Mus musculus clone FS3-05 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	525	525	42%	4e-145	97%	JX492443.1
☐	Mus musculus clone aAPP-20 immunoglobulin light chain variable region mRNA, partial cds	525	525	42%	4e-145	97%	DQ321356.1
☐	Mouse Ig rearranged kappa-chain (V-IdCR J1) gene V10-J region, hybridoma KL2.18, partial cds	523	523	43%	2e-144	97%	M63608.1

Synthetic construct FMC63-28Z receptor protein gene, complete cds

Sequence ID: [gb|HM852952.1|](#) Length: 1470 Number of Matches: 1

Range 1: 67 to 801 [GenBank](#) [Graphics](#)

▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
1155 bits(625)	0.0	701/736(95%)	11/736(1%)	Plus/Plus
Query 1	GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACC	60		
Sbjct 67	GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACC	126		
Query 61	ATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA	120		
Sbjct 127	ATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA	186		
Query 121	GATGGAACGTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTAACTCAGGAGTCCCATCA	180		
Sbjct 187	GATGGAACGTGTTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTAACTCAGGAGTCCCATCA	246		
Query 181	AGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAA	240		
Sbjct 247	AGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAA	306		
Query 241	GAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTGCGAGGG	300		
Sbjct 307	GAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTGCGAGGG	366		
Query 301	GGGACCAAGCTGGAGATCACAGG-T--GGCGGTGGCT-CGG---G--CGGTGGTGGGTCTG	351		
Sbjct 367	GGGACTAAGTTGGAAATAACAGGCTCCACCTCTGGATCCGGCAAGCCCGGATCTGGCGAG	426		
Query 352	GGTGGCGGC-GGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTC	410		
Sbjct 427	GGATCCACCAAGGGC-GAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCGCCCTC	485		
Query 411	ACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAG	470		
Sbjct 486	ACAGAGCCTGTCCGTACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGTGTAAAG	545		
Query 471	CTGGATTGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGA	530		
Sbjct 546	CTGGATTGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGTAGTGA	605		
Query 531	AACCACATACTATAATTGAGTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAA	590		
Sbjct 606	AACCACATACTATAATTGAGTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAACCTCAA	665		

```

Query 591 GAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATTTACTACTG 650
          |||
Sbjct 666 GAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAAGTATGACACAGCCATTTACTACTG 725

Query 651 TGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGAACCTC 710
          |||
Sbjct 726 TGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTC 785

Query 711 AGTCACCGTCTCCTCA 726
          |||
Sbjct 786 AGTCACCGTCTCCTCA 801

```

Synthetic construct FMC63-28Z receptor protein gene, complete cds

GenBank: HM852952.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: ☐

LOCUS HM852952 1470 bp DNA linear SYN 11-JUN-2012

DEFINITION Synthetic construct FMC63-28Z receptor protein gene, complete cds.

ACCESSION HM852952

VERSION HM852952.1 GI:305690546

KEYWORDS .

SOURCE synthetic construct

ORGANISM [synthetic construct](#)

other sequences; artificial sequences.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1470)

AUTHORS Kochenderfer,J.N., Feldman,S.A., Zhao,Y., Xu,H., Black,M.A.,
Morgan,R.A., Wilson,W.H. and Rosenberg,S.A.

TITLE Construction and preclinical evaluation of an anti-CD19 chimeric
antigen receptor

J. Immunother. 32 (7), 689-702 (2009)

PUBMED [19561539](#)

REFERENCE 2 (bases 1 to 1470)

AUTHORS Kochenderfer,J.N., Wilson,W.H., Janik,J.E., Dudley,M.E.,
Stetler-Stevenson,M., Feldman,S.A., Maric,I., Raffeld,M.,
Nathan,D.A., Lanier,B.J., Morgan,R.A. and Rosenberg,S.A.

TITLE Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a
patient treated with autologous T cells genetically engineered to
recognize CD19

JOURNAL Blood 116 (20), 4099-4102 (2010)

PUBMED [20668228](#)

REFERENCE 3 (bases 1 to 1470)

AUTHORS Kochenderfer,J.N.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (21-JUL-2010) Surgery Branch, NCI, NIH 10 Center Drive
Bldg 10 CRC Room 3-3888, Bethesda, MD 20892, USA

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

```

WO_2012_079000_14 -----
-----
WO_2012_079000_18 -----
-----

```

gi|305690546|gb|HM852952.1|
ATGCTTCTCCTGGTGACAAGCCTTCTGCTCTGTGAGTTACCACACCCAGCATTCTCTCCTG

WO_2012_079000_14 -----
GACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGA
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
ATCCCAGACATCCAGATGACACAGACTACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGA

WO_2012_079000_14
GTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAG
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGTAAATATTTAAATTGGTATCAGCAG

WO_2012_079000_14
AAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTC
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
AAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACCATACATCAAGATTACACTCAGGAGTC

WO_2012_079000_14
CCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTG
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
CCATCAAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTG

WO_2012_079000_14
GAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTC
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTTTTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTACACGTTC

WO_2012_079000_14
GGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATCACAGGTGGCGGTGGCT-----CGGGCGGTGGT
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GGAGGGGGGACTAAGTTGGAAATAACAGGCTCCACCTCTGGATCCGGCAAGCCCGGATCT

WO_2012_079000_14
GGGTTCGGGTGGCGGCGGATCTGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCG
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GGCGAGGGATCCACCAAGGGCGAGGTGAAACTGCAGGAGTCAGGACCTGGCCTGGTGGCG

WO_2012_079000_14
CCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGT
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
CCCTCACAGAGCCTGTCCGTCACATGCACTGTCTCAGGGGTCTCATTACCCGACTATGGT

WO_2012_079000_14
GTAAGCTGGATTGCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGT
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GTAAGCTGGATTGCGCCAGCCTCCACGAAAGGGTCTGGAGTGGCTGGGAGTAATATGGGGT

WO_2012_079000_14
AGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAAC
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
AGTGAAACCACATACTATAATTCAGCTCTCAAATCCAGACTGACCATCATCAAGGACAAC

WO_2012_079000_14
TCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTAC
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
TCCAAGAGCCAAGTTTTCTTAAAAATGAACAGTCTGCAAACCTGATGACACAGCCATTTAC

WO_2012_079000_14
TACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGCCAAGGA
WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
TACTGTGCCAAACATTATTACTACGGTGGTAGCTATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGA

WO_2012_079000_14 ACCTCAGTCACCGTCTCCTCA-----

WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
ACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGCGGCCGCAATTGAAGTTATGTATCCTCCTCCTTACCTA

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GACAATGAGAAGAGCAATGGAACCATTATCCATGTGAAAGGGAAACACCTTTGTCCAAGT

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
CCCCCTATTTCCCGGACCTTCTAAGCCCTTTTGGGTGCTGGTGGTGGTTGGGGGAGTCCTG

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GCTTGCTATAGCTTGCTAGTAACAGTGGCCTTTATTATTTTCTGGGTGAGGAGTAAGAGG

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18 -----

gi|305690546|gb|HM852952.1|
AGCAGGCTCCTGCACAGTGACTACATGAACATGACTCCCCGCCGCCCGGGCCCCACCCGC

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18 -----
-----AGAGTGAAG

gi|305690546|gb|HM852952.1|
AAGCATTACCAGCCCTATGCCCCACCACGCGACTTCGCAGCCTATCGCTCCAGAGTGAAG

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18
TTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACAAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAG
gi|305690546|gb|HM852952.1|
TTCAGCAGGAGCGCAGACGCCCCCGCGTACCAGCAGGGCCAGAACCAGCTCTATAACGAG

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18
CTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCT
gi|305690546|gb|HM852952.1|
CTCAATCTAGGACGAAGAGAGGAGTACGATGTTTTGGACAAGAGACGTGGCCGGGACCCT

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18
GAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAG

gi|305690546|gb|HM852952.1|
GAGATGGGGGGAAAGCCGAGAAGGAAGAACCCTCAGGAAGGCCTGTACAATGAACTGCAG

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18
AAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGC
gi|305690546|gb|HM852952.1|
AAAGATAAGATGGCGGAGGCCTACAGTGAGATTGGGATGAAAGGCGAGCGCCGGAGGGGC

WO_2012_079000_14 -----

WO_2012_079000_18
AAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCC
gi|305690546|gb|HM852952.1|
AAGGGGCACGATGGCCTTTACCAGGGTCTCAGTACAGCCACCAAGGACACCTACGACGCC

WO_2012_079000_14 -----
WO_2012_079000_18 CTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGC---
gi|305690546|gb|HM852952.1| CTTACATGCAGGCCCTGCCCCCTCGCTAA

SEQ ID NO 20

>WO_2012_079000_20
DIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQKPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPS
RFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFGGGKLEITGGGSGGGGSGGG
GSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTY
YNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTV
SS
>WO_2012_079000_24
RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYN
ELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
>WO_2012_079000_12
MALPVTALLLPLALLLHAARPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQK
PDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTFG
GGTKLEITGGGSGGGGSGGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYGVSWI
RQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIYYCAK
HYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHT
RGLDFACDIYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGC
SCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMG
GKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGGHDGLYQGLSTATKDTYDALHM
QALPPR
>WO_2012_079000_21
TTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACDIY
>gi|305690547|gb|ADM64594.1| FMC63-28Z receptor protein [synthetic
construct]
MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQ
KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF
GGGKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYG
VSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNSKSQVFLKMNSLQTDDTAIY
YCAKHYYYGGSYAMDYWGQTSVTVSSAAAIEVMYPPPYLDNEKSNGTIIHVKGKHLCP

PLFPGPSKPFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDYMNMTPRRPGPTR
 KHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDP
 EMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQGLSTATKDTYDA
 LHMQUALPPR

SEQ ID NO 12

Percent Identity Matrix - created by Clustal2.1

1: WO_2012_079000_12	100.00	77.22
2: gi 305690547 gb ADM64594.1	77.22	100.00

CLUSTAL O(1.2.1) multiple sequence alignment

WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	MALPVTAL-LLPLALLLHAARPDIMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQ MLLLVTSLLLCELPHPAFLIPDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISKYLNWYQQ * * * * * . *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF KPDGTVKLLIYHTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPYTF *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	GGGTKLEITGGG---GSGGGGSGGGSEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYG GGGTKLEITGSTSGSGKPGSGEGSTKGEVKLQESGPGLVAPSQSLSVTCTVSGVSLPDYG ***** . * . * . *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	VSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAIY VSWIRQPPRKGLEWLGVIWGSETTYNSALKSRLTIKDNKSQVFLKMNSLQTDDTAIY *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSTTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGG YCAKHYYYGGSYAMDYWGQGTSVTVSSAAIEVMYPPPYLD--N-----EKSNGT *****::: * * . : *
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	AVHTRGLDFACD-----IYIWAP--LAG--TCGVLLLSLVITLYCKRGRKLLYIFKQ IIHVKGKHLCPSPLPFGPSKPFVWLVVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLHSDY :.*.* :. . :.* :.* :* **: : : :.*. * .
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	PFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCELRVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREE MNMTPRRPGPTRKHYQPYAPPRDFAAYRSRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREE * * : . . . * :. . . *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQ YDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGDGLYQ *****
WO_2012_079000_12 gi 305690547 gb ADM64594.1	GLSTATKDTYDALHMQALPPR GLSTATKDTYDALHMQALPPR *****