

Señor Director
NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Referencia : Expediente No. **13.153.093**
Asunto : Solicitud de patente para: **"PLANTAS QUE TIENEN MAYOR TOLERANCIA A HERBICIDAS"**
Solicitante : BASF AGRO B.V.
Fecha de solicitud : 27 de junio de 2013

RESPUESTA A SEGUNDO EXAMEN DE PATENTABILIDAD

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio 5885, notificado por fijación en lista el 24 de mayo de 2016, para lo cual pedí plazo adicional el 23 de agosto de 2016.

I. MODIFICACIONES AL PLIEGO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad el solicitante decide aportar un nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 3 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

1. La anterior reivindicación 3 ha sido eliminada.

2. La reivindicación 1 ha sido modificada para recitar la secuencias mutadas exactas (i) R128A/F420M; ii) R128/F420L; e iii) R128A/F420L) definiéndose además las plantas de cultivo. Además, se ha eliminado la etapa a) que se refería al uso de una planta.

3. La reivindicación 2 se limitado para recitar diferentes herbicidas inhibidores de PPO de acuerdo con los listados en los ejemplos.

"EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS"

BOGOTÁ - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72 - 35 - Código Postal 110221 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax in U.S.A: (1-305) 675 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección Oficina 852 - Código Postal 060021 - Tel: (57-4) 520 4760 / (57-4) 326 0789 / (57) 317 365 8663 / (57) 318 532 2365 - COLOMBIA
BARRANQUILLA - Calle 64 No. 50-20 - Oficina 201 - Código Postal 080002 - Barrio El Prado - Tel. (57-5) 3 51 64 40 - COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

4. La nueva reivindicación 3 ha sido modificada para referirse a las secuencias PPO mutadas de la reivindicación 1.

Estas modificaciones se ajustan al artículo 34 de la Decisión 486 de 2000 y no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

A pesar de eliminar materia del pliego reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud.

II. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD

1. La reivindicación 1 ha sido modificada de manera que el método reivindicado se encuentra definido por pasos que comprenden características esenciales del método. Adicionalmente, tal como se mencionó anteriormente, se han incluido la secuencias mutadas exactas (i) R128A/F420M; ii) R128/F420L; e iii) R128A/F420L). En consecuencia, las objeciones elevadas a este respecto deben tenerse por superadas.

2. Tal como se mencionó, la reivindicación 2 ha sido limitada de tal forma que la materia de la misma se encuentra claramente soportada en la descripción. Por lo tanto, la objeción elevada a este respecto se debe tener por superada.

3. Debido a que las reivindicaciones 4 a 6 han sido eliminadas, se debe dar por superada las objeciones elevadas a la materia de las mismas.

III. EN CUANTO A MATERIA QUE NO CORRESPONDE A UNA INVENCION

Tal como se mencionó anteriormente, la reivindicación 3 ha sido modificada para referirse a las secuencias PPO mutadas de la reivindicación 1. En consecuencia, la materia reivindicada contiene a materia que si corresponde a una invención. Así las cosas, la objeción elevada a este respecto se debe tener por superada.

IV. ESTADO DE LA TÉCNICA

Su Despacho determinó dos documentos como relevantes para realizar el análisis de patentabilidad de la presente patente de invención:

1. D1, referido al documento US 7842856 titulado “Herbicide resistance gene, compositions and methods” que se relaciona con métodos, moléculas de ADN recombinantes, células huésped que contienen tales moléculas de ADN recombinantes, plantas transgénicas modificadas por ingeniería genética, tejidos de plantas y semillas de plantas que contienen o expresan una protoporfirogeno oxidasa que confiere resistencia a herbicidas.
2. D2, referido al documento A codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase” Patzoldt W., et al, 2006, PNAS, vol. 103, no. 33, 12329–12334 titulado “A codon deletion confers resistance to herbicides inhibiting protoporphyrinogen oxidase” que se relaciona con un estudio acerca de la evaluación de un biotipo de *A. tuberculatus* resistente a inhibidores de PPO que revelo un rasgo de resistencia incompleta dominante el cual era conferido por un único gen nuclear, uno de los genes resistentes de dicho biotipo fue denominado PPX2L y contiene una eliminación de un codón que mostraba mediante ensayos de complementación conferir resistencia a la cepa mutante hemG de *E. coli* que crecía en presencia del inhibidor de PPO lactofen.

V. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

1. Los documentos D1: US 7,842,856 y D2: Patzoldt W., et al., han sido citados como el arte previo relevante para la presente invención.
2. Al respecto, puede mencionarse que la presente invención se diferencia de D1 y D2 en los siguientes aspectos:
 - La presente invención se refiere a la SUSTITUCIÓN de mutantes mientras que D1 y D2 se refieren a la SUPRESIÓN de mutantes; y
 - Los sitios de mutación en la variante PPO-2 de la presente invención están en las

posiciones 128 y 420 (sitio de enlace del herbicida, de acuerdo al análisis cristalográfico), mientras que las posiciones de supresión de D1/D2 están localizadas en un sitio completamente diferente dentro de la enzima, a saber, fuera del sitio de enlace del herbicida).

3. Considerando las diferencias señaladas, el solicitante expresa sus dudas acerca de la idoneidad de D1 y D2 para servir como el arte previo más cercano de la materia reivindicada en las presentes reivindicaciones, o su potencial combinación, y para arribar a la presente invención sin modificaciones indebidas.
4. El Examinador sostiene que la provisión de mutantes PPO diferentes de aquellos descritos en D1 y D2 carecería de nivel inventivo a menos que se demostrara un efecto técnico inesperado.
5. El problema técnico a ser resuelto por la presente invención no es encontrar mutantes alternativos que tengan tolerancia incrementada a los herbicidas, sino encontrar mutantes que tengan una tolerancia mejorada a los herbicidas mientras se mantiene la máxima actividad original de la enzima de tipo silvestre. Esto es, la invención trata de encontrar mutantes con un balance entre la tolerancia y la actividad enzimática.
6. Los mutantes conocidos tales como los mutantes dG210 de D1y D2, por ejemplo, aunque ofrecen una tolerancia mayor a los herbicidas, su actividad es solamente la décima parte de la actividad de la enzima de tipo silvestre.
7. El también conocido mutante R128L, aunque tiene una actividad más alta, solamente confiere una tolerancia similar a la de la enzima de tipo silvestre.
8. Por el contrario, los mutantes de la presente invención, es decir, los mutantes que tienen la mutación en la posición F420 o L397, no solamente confieren alta tolerancia a los herbicidas (IC50 del orden -9 u -8) sino que mantienen al menos un cuarto de la actividad original. Los mutantes que tienen ambas mutaciones en las posiciones R128 y F420 aún mantienen al menos una tercera parte de la actividad original.
9. Especialmente, se ha demostrado en los ejemplos que los tres doble mutantes

(128A/420Met; 128A/420Ile; 128A/420Leu) confieren la mejor tolerancia, es decir, que requieren una concentración mucho más alta del respectivo inhibidor PPO para inhibir la enzima por debajo del 50%, mientras que aún se mantiene la más alta actividad enzimática.

10. Luego, los mutantes reivindicados han demostrado efectos técnicos inesperados, esto es, que ambos puede conferir una tolerancia más alta a los herbicidas y mantener la máxima actividad original (Tabla 4a y Tabla 4b), de modo que no representan meramente una selección arbitraria sino una clara evidencia de la existencia de nivel inventivo.

VI. PETICIÓN

Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, se solicita proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.

VII. ANEXOS

Nuevo pliego reivindicatorio conformado por 3 reivindicaciones.

Señor Director,


ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908

REIVINDICACIONES

1.- Un método para controlar vegetación indeseada en un sitio de cultivo de una planta de cultivo, caracterizado porque comprende la etapa de:

a) aplicar a dicho sitio una cantidad efectiva de un herbicida de 1 – 1000 g ia/ha, que no mata o inhibe el crecimiento de la planta de cultivo la cual comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una protoporfirinógeno oxidasa mutada (mut-PPO) que es resistente o tolerante a un ‘herbicida derivado de benzoxazinona’ y la cual tiene una de las siguientes secuencias:

i)

MVIQSITHLSPNLALPSPLSVSTKNYPVAVMGNISEREEPTSAKRVA VVGAGVSGLAAAYKLKSHGLSV
TLFEADSRAGGKLKTVKKDGIWDEGANTMTESEAEVSSLIDDLGLREKQQLPISQNKAYIARDGLPVL
LPSNPAALLTSNILSAKSKLQIMLEPFLWRKHNATELSDEHVQESVGEFFERHFGKEFVDYVIDPFVAGT
CGGDPQSLSMHHTFPEVWNIEKRFGSVFAGLIQSTLLSKKEKGGENASIKKPRVRGSFSFQGGMQTLV
DTMCKQLGEDELKLQCEVLSLSYNQKGIPSLGNWSVSSMSNNTSEDQSYDAVVVTAPIRNVKEMKIM
KFGNPFSLDIFIPEVTYVPLSVMITAFKKDKVKRPLEGFGVLIPSKEQHNGLKTGTLFSSMMFPDRAPSD
MCLFTTMVGGSRNRKLANASTDELKQIVSSDLQQLGTEDEPSFVNHLFWSNAFPLYGHNYDSVLRAI
DKMEKDLPGFFYAGNHKGGLSVGKAMASGCKAAELVISYLD SHIYVKMDEKTA

ii)

MVIQSITHLSPNLALPSPLSVSTKNYPVAVMGNISEREEPTSAKRVA VVGAGVSGLAAAYKLKSHGLSV
TLFEADSRAGGKLKTVKKDGIWDEGANTMTESEAEVSSLIDDLGLREKQQLPISQNKAYIARDGLPVL
LPSNPAALLTSNILSAKSKLQIMLEPFLWRKHNATELSDEHVQESVGEFFERHFGKEFVDYVIDPFVAGT
CGGDPQSLSMHHTFPEVWNIEKRFGSVFAGLIQSTLLSKKEKGGENASIKKPRVRGSFSFQGGMQTLV
DTMCKQLGEDELKLQCEVLSLSYNQKGIPSLGNWSVSSMSNNTSEDQSYDAVVVTAPIRNVKEMKIM
KFGNPFSLDIFIPEVTYVPLSVMITAFKKDKVKRPLEGFGVLIPSKEQHNGLKTGTLFSSMMFPDRAPSD
MCLFTTLVGGSRNRKLANASTDELKQIVSSDLQQLGTEDEPSFVNHLFWSNAFPLYGHNYDSVLRAID
KMEKDLPGFFYAGNHKGGLSVGKAMASGCKAAELVISYLD SHIYVKMDEKTA

iii)

MVIQSITHLSPNLALPSPLSVSTKNYPVAVMGNISEREPTS AKRVAVVGAGVSGLAAAYKLKSHGLSV
TLFEADSRAGGKLKTVKKDGFWDGANTMTESAEVSSLIDDLGLREKQQLPISQNKAYIARDGLPVL
LPSNPAALLTSNILSAKSKLQIMLEPFLWRKHNA TELSD EHVQESVGEFFERHFGKEFVDYVIDPFVAGT
CGGDPQSLSMHHTFPEVWNIEKRFGSVFAGLIQSTLLSKKEKGGENASIKKPRVRGSFSFQGGMQTLV
DTMCKQLGEDELKLQCEVLSLSYNQKGIPSLGNWSVSSMSNNTSEDQSYDAVVVTAPIRNVKEMKIM
KFGNPFSLDIFIPEVTYVPLSVMITAFKKDKVKRPLEGFGVLIPSKEQHNGLKTGLTLFSSMMFPDRAPSD
MCLFTTIVGGSRNRKLANASTDELKQIVSSDLQQLGTEDEPSFVNHLFWSNAPPLYGHNYDSVLRAID
KMEKDLPGFFYAGNHKGGLSVGKAMASGCKAAELVISYLD SHIYVKMDEKTA

en donde dicha planta de cultivo se selecciona de soja, maíz, girasol, algodón, arroz, caña de azúcar, remolacha azucarera, colza y sorgo.

2.- El método de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque el herbicida derivado de benzoxazinona se aplica conjuntamente con Saflufenacil, Bifenox, Diuron, Lactofen, Butafenacil, y/o Acifluorfen.

3.- Un método para producir una célula de planta transgénica con una resistencia incrementada a un herbicida derivado de bezoxazinona en comparación con una variedad de tipo silvestre de la célula de planta, **caracterizado** porque comprende transformar la célula de planta con un casete de expresión que comprende un ácido nucleico mut-PPO, en donde el ácido nucleico mut-PPO comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido como se define en la reivindicación 1 (i), (ii) o (iii), y en donde el casete de expresión además comprende un región reguladora de la iniciación de la transcripción y una región reguladora de la iniciación de la traducción que son funcionales en la planta.