

P-2018/14912

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2018/0001256**
Solicitud de Patente de Invención a nombre de **JANSSEN BIOTECH INC.**

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, piso 3, obrando como apoderada de la sociedad solicitante **JANSSEN BIOTECH INC.**, en respuesta al oficio No. **2210** notificado por medio electrónico el 28 de febrero de 2018, relacionado con el resultado de examen de forma, me permito presentar la siguiente información:

1. Resumen

En relación con el resumen, solicito amablemente a ese Despacho tener en cuenta que el solicitante atendiendo la sugerencia hecha en cuanto a la adecuación del resumen de la presente solicitud, desea modificarlo para que sea reemplazado por:

“La presente invención refiere un anticuerpo antagonista o una porción de unión al antígeno de este que se une específicamente a CD154 humana de SEQ ID NO: 1, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 17 (SYGIS), una HCDR2 de SEQ ID NO: 23 (WISPIFGNTNYAQKFQG) y una HCDR3 de SEQ ID NO: 30 (SRYYGDLDY) o una variante de este como se describe en este documento. También, se proporciona un anticuerpo antagonista aislado que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, en donde el anticuerpo comprende ciertas secuencias de aminoácidos de VH y VL como se describe en la presente descripción. La invención proporciona, además, un anticuerpo antagonista aislado que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, en donde el anticuerpo comprende ciertas secuencias de aminoácidos de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 y LCDR3 como se describe en la presente descripción. Adicionalmente, la invención proporciona, además, un anticuerpo antagonista aislado o una porción de unión al antígeno de este que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, en donde CD154 es un homotrímero y el anticuerpo se une a un primer monómero de CD154 en el homotrímero dentro de los residuos de aminoácidos 182-207 de CD154 y a un segundo monómero de CD154 en el homotrímero dentro de los residuos de aminoácidos 176-253 de CD154, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con la SEQ ID NO: 1. La invención proporciona, además, un inmunoconjugado que comprende el anticuerpo o la porción de unión al antígeno del anticuerpo de la invención unido a un agente terapéutico o a un agente de formación de imágenes. La invención proporciona, además, una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo de la invención y un portador farmacéuticamente aceptado, así como un polinucleótido que codifica la VH del anticuerpo de la invención, la VL del anticuerpo de la invención, o la VH y la VL del anticuerpo de la

invención. La invención proporciona, además, un vector que comprende el polinucleótido de la invención, así como una célula huésped que comprende el vector de la invención. Adicionalmente, la invención proporciona un método para producir un anticuerpo, así como un anticuerpo antiidiotípico que se une al anticuerpo de la invención, y un estuche que comprende el anticuerpo de la invención.”

2. Título

Solicito a ese Despacho tener en cuenta que el solicitante atendiendo la sugerencia hecha en cuanto al título de la presente solicitud, desea modificarlo para que sea reemplazado por: “ANTICUERPOS ANTI-CD154 Y MÉTODOS PARA PRODUCIR LOS MISMOS” y así estar en correspondencia con el objeto de la presente invención.

3. Descripción

El señor examinador objeta la descripción por falta de claridad “*cuando se refiere a ‘RU (unidades de respuesta) de anticuerpos’ porque es un término no conocido en el campo técnico*”. En este respecto, la solicitante respetuosamente desea manifestar su desacuerdo ya que la Unidad de Respuesta (RU) es un término bien conocido utilizado en la tecnología de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR) para detectar una interacción con una molécula (tal como un anticuerpo de prueba) inmovilizada en una superficie del sensor. Durante el análisis de SPR, el analito (tal como CD154 o un fragmento del mismo) se inyecta en solución acuosa a través de la celda de flujo, en flujo continuo. A medida que el analito se une a la molécula inmovilizada, la acumulación de proteína en la superficie del sensor provoca un aumento en el índice de refracción. Este cambio de índice de refracción se mide en tiempo real, y el resultado se traza como Unidades de Respuesta (RU) en función del tiempo para generar un sensograma, que tiene el eje X en la unidad de segundos y el eje Y en la unidad de unidades de respuesta (RU) (Se adjunta como referencia la Guía del procesamiento de datos SPR en el Sistema ProteOn™ XPR36).

De acuerdo con lo anterior, se supera la objeción realizada y se solicita amablemente sea retirada dicha objeción.

4. Pago por excedente de reivindicaciones.

Se informa a este Despacho que teniendo en cuenta que se presenta modificación al capítulo reivindicatorio, el cual ahora consta de 47 reivindicaciones, nos permitimos adjuntar el recibo de pago de la Tasa Oficial por 37 reivindicaciones adicionales. De esta forma, se solicita que el nuevo capítulo reivindicatorio presentado sea tenido en cuenta en el análisis de patentabilidad de la solicitud.

5. Modificaciones a las reivindicaciones

En relación con las objeciones a **las reivindicaciones**, me permito informar lo siguiente:

Con fundamento en la facultad que confiere el artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial, un nuevo pliego reivindicatorio que comprende 47 reivindicaciones, en donde únicamente se realizaron modificaciones por concepto de claridad, en un esfuerzo por acelerar el trámite. Las modificaciones realizadas se presentan a continuación:

5.1 Las antiguas reivindicaciones 16, 24, 34-43, 56 y 68-79 han sido canceladas con el fin de acelerar el trámite. Las antiguas reivindicaciones 5, 22, 25, 26 62 se cancelaron para evitar redundancia en vista de las reivindicaciones dependientes múltiples modificadas 61, 63 y 64, respectivamente.

5.2 Las antiguas reivindicaciones 1 y 2 se modifican por objeciones relacionadas con la claridad y dichas modificaciones se encuentran sustentadas por al menos las reivindicaciones originales 1 y 2.

5.3 Las antiguas reivindicaciones 2-4, 6-15, 17-20, 44-55, 57-64, 80 y 81 (nuevas reivindicaciones 2-17, 25-40, 46 y 47) se han modificado para adicionar la expresión “*o una porción de unión al antígeno de este*”. Dicha modificación se encuentra sustentada en lo divulgado a través de la solicitud como se present originalmente. Por ejemplo, la reivindicación original 1 y el Resumen de la invención describen: “*o una porción de unión al antígeno de este*”. El término “*anticuerpo*” como es usado en la solicitud incluye “*cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobina que comprende un sitio de unión a antígeno de la especificidad requerida*” (Página 8, líneas 3-4 de la solicitud original PCT publicada en el documento WO2017024146).

5.4 Las modificaciones adicionales presentadas en el nuevo capítulo reivindicatorio se realizaron particularmente para reclamar la invención en diferentes alcances. Todas las modificaciones son sustentadas por la solicitud tal como fue presentada originalmente. Por ejemplo, el sustento para las nuevas reivindicaciones 9 y 10 se puede encontrar en las páginas 31-33 de la solicitud original PCT publicada en el documento WO2017024246.

6. Claridad

El artículo 30 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina establece:

***Artículo 30.-** Las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción.*

6.1 Respecto a la objeción a las antiguas reivindicaciones 1, 2, 9 y 10 por falta de claridad debido al término “*opcionalmente*”, la solicitante sin aceptar el rechazo del señor examinador y los argumentos en apoyo de esto, se permite informar que, las

reivindicaciones 1, 2, 9 y 10 han sido modificadas para que ya no contengan la palabra “*opcionalmente*”. Las mutaciones descritas en las reivindicaciones 1 y 2 son mutaciones neutrales que pueden introducirse en las secuencias de CDR citadas sin afectar a la estructura global del complejo y que, por lo tanto, se espera que no afecten a las propiedades del anticuerpo reclamado o a la porción de unión a antígeno de este (Ver el Ejemplo 11 de la presente solicitud en las páginas 94-96 del documento WO2017024146). Por tanto, se solicita sea retirada la objeción realizada.

6.2 Las reivindicaciones 5-8 son rechazadas, supuestamente porque las reivindicaciones no tienen una definición clara del alcance de la protección. El razonamiento del señor examinador parece ser que estas afirmaciones son indefinidas porque incluyen expresiones que corresponden a los resultados a alcanzar, es decir, en la forma del efecto deseado. A este respecto, se informa a este Despacho que dichas reivindicaciones fueron eliminadas del nuevo pliego reivindicatorio de acuerdo con las sugerencias del señor examinador.

6.3 Las reivindicaciones 9 y 10 se rechazan porque no refieren específicamente a “*sustituciones de aminoácidos*”. Se informa a este Despacho que dichas reivindicaciones han sido modificadas para que ya no reclamen de una a quince sustituciones de aminoácidos, sino que más bien describen la identidad de secuencia. Este lenguaje reclama más específicamente la invención. Por consiguiente, se solicita respetuosamente el retiro del rechazo a las reivindicaciones 9 y 10.

6.4 En vista de la eliminación de las reivindicaciones 24, 34-43 y 68-78, la solicitante respetuosamente considera que el nuevo pliego reivindicatorio está dirigido a materia patentable bajo la legislación Colombiana.

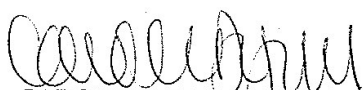
De esta manera, se considera que se ha respondido a las observaciones hechas por el señor Examinador en este respecto, por tanto, se superan las objeciones planteadas y en consecuencia, el nuevo pliego reivindicatorio de la presente solicitud, cumple a cabalidad con este requisito.

Habiendo atendido cabalmente las objeciones presentadas por ese Despacho en el Oficio No. 2210 solicito atentamente sea tenida en cuenta la información aquí presentada y continuar con el trámite de la presente solicitud.

7. Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por 47 reivindicaciones.
- Recibo de pago correspondiente a la Tasa Oficial por 37 reivindicaciones adicionales.

Señor Director,


CAROLINA DAZA MONTALVO

C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo antagonista aislado o una porción de unión al antígeno de este, que se une específicamente a CD154 humana de SEQ ID NO: 1, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 de SEQ ID NO: 17 (SYGIS), una HCDR2 de SEQ ID NO: 23 (WISPIFGNTNYAQKFQG) y una HCDR3 de SEQ ID NO: 30 (SRYYGDL DY), o una variante de este, en donde en la variante,
 - a) el residuo S1 de HCDR1 se muta a A, C, D, E, G, I, K, L, M, N, Q, R, T o V;
 - b) el residuo I4 de HCDR1 se muta a M, L o V;
 - c) el residuo S5 de HCDR1 se muta a A;
 - d) el residuo S3 de HCDR2 se muta a A, T o V;
 - e) el residuo P4 de HCDR2 se muta a V, T, L Q o E;
 - f) el residuo N8 de HCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y;
 - g) el residuo T9 de HCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y;
 - h) el residuo N10 de HCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y;
 - i) el residuo S1 de HCDR3 se muta a A o M;
 - j) el residuo R2 de HCDR3 se muta a A, S, Q o K; y/o
 - k) el residuo L7 de HCDR3 se muta a M.
2. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 de SEQ ID NO: 37 (RASQSISSYLN), una LCDR2 de SEQ ID NO: 44 (YANSLQS) y una LCDR3 de SEQ ID NO: 52 (QQSDSIPWT), o una variante de este, en donde en la variante,
 - a) el residuo Q4 de LCDR1 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, R, S, T, V, W o Y;
 - b) el residuo S5 de LCDR1 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y;
 - c) el residuo S7 de LCDR1 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y;
 - d) el residuo S8 de LCDR1 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y;

- e) el residuo A2 de LCDR2 se muta a S;
 - f) el residuo N3 de LCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, Q, R, S, T, V, W o Y;
 - g) el residuo S4 de LCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y;
 - h) el residuo L5 de LCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, M, N, Q, R, S, T, V, W o Y;
 - i) el residuo Q6 de LCDR2 se muta a E, D o N;
 - j) el residuo S7 de LCDR2 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y;
 - k) el residuo S3 de LCDR3 se muta a A;
 - l) el residuo D4 de LCDR3 se muta a N;
 - m) el residuo S5 de LCDR3 se muta a A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, T, V, W o Y; y/o
 - n) el residuo I6 de LCDR3 se muta a A, C, D, E, G, K, L, M, N, Q, R, S, T, V.
3. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 1, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1, una LCDR2 y una LCDR3 de las
- a) SEQ ID NOs: 36, 43 y 51, respectivamente;
 - b) SEQ ID NOs: 37, 44 y 52, respectivamente;
 - c) SEQ ID NOs: 38, 45 y 53, respectivamente;
 - d) SEQ ID NOs: 39, 46 y 54, respectivamente;
 - e) SEQ ID NOs: 40, 47 y 55, respectivamente;
 - f) SEQ ID NOs: 41, 47 y 56, respectivamente;
 - g) SEQ ID NOs: 42, 48 y 57, respectivamente;
 - h) SEQ ID NOs: 37, 49 y 52, respectivamente; o
 - i) SEQ ID NOs: 37, 50 y 52, respectivamente.
4. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 2, que comprende la HCDR1 de SEQ ID NO: 17 (SYGIS), la HCDR2 de SEQ ID NO: 23 (WISPIFGNTNYAQKFQG), la HCDR3 de SEQ ID NO: 30 (SRYYGDLDY), la LCDR1 de SEQ ID NO: 37 (RASQSISSYLN), la LCDR2 de SEQ ID NO: 44 (YANSLQS) y la LCDR3 de SEQ ID NO: 52 (QQSDSIPWT).

5. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 2, que comprende una región variable de cadena pesada (VH) que es al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntico a la SEQ ID NO: 59.
6. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 5, que comprende una región variable de cadena ligera (VL) que es al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% idéntico a SEQ ID NOs: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 o 73.
7. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 6, que comprende la VL de SEQ ID NOs: 66, 72 o 73.
8. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 7, que comprende la VH de SEQ ID NO.: 59 y la VL de SEQ ID NO: 66.
9. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 7, que comprende la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 72.
10. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 7, que comprende la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 73.
11. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 10, en donde el anticuerpo es de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.
12. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 11 que comprende al menos una sustitución en una región Fc, en donde la al menos una sustitución en la región Fc es una sustitución L234A, L235A, G237A, P238S, M252Y, S254T, T256E, H268A, A330S o P331S, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
13. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 12, que comprende las sustituciones L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S y P331S en la región Fc, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
14. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 11, que comprende al menos una sustitución en una región Fc, en donde la al menos una sustitución en la región Fc es una sustitución V234A, G237A, P238S, M252Y, S254T, T256E, H268A, V309L, A330S o P331S, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
15. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 14, que comprende las sustituciones V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S

- y P331S en la región Fc, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
16. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 11, que comprende una cadena pesada (HC) y una cadena ligera (LC) de SEQ ID NOs:
 - a) 80 y 81, respectivamente;
 - b) 82 y 81, respectivamente; o
 - c) 83 y 81, respectivamente.
 17. Un anticuerpo antagonista aislado o una porción de unión al antígeno de este que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, que comprende
 - a) la HCDR1, la HCDR2, la HCDR3, la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 17, 23, 30, 37, 44 y 52, respectivamente;
 - b) la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 66; o
 - c) la cadena pesada de SEQ ID NO: 80 y la cadena ligera de SEQ ID NO: 81.
 18. Un polinucleótido que codifica la VH de anticuerpo de SEQ ID NO: 59.
 19. Un polinucleótido que codifica la VL de anticuerpo de SEQ ID NO: 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72 o 73.
 20. Un polinucleótido que comprende la secuencia de polinucleótido de SEQ ID NO: 76, 77, 78 o 79.
 21. Un polinucleótido que codifica la VH de anticuerpo de SEQ ID NO: 59 y la VL de anticuerpo de SEQ ID NO: 66.
 22. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 18, 19, 20 o 21.
 23. Una célula huésped que comprende el vector de la reivindicación 22.
 24. Un método para producir un anticuerpo antagonista aislado o una porción de unión al antígeno de este, que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 23 en condiciones en que el anticuerpo se expresa, y recuperar el anticuerpo producido por la célula huésped.
 25. Un anticuerpo antagonista aislado o una porción de unión al antígeno de este que se une específicamente a CD154 de SEQ ID NO: 1, que comprende la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de
 - a) SEQ ID NOs: 16, 22 y 29, respectivamente;
 - b) SEQ ID NOs: 17, 23 y 30, respectivamente;
 - c) SEQ ID NOs: 16, 24 y 31, respectivamente;
 - d) SEQ ID NOs: 18, 25 y 32, respectivamente;

- e) SEQ ID NOs: 19, 26 y 33, respectivamente;
 - f) SEQ ID NOs: 20, 27 y 34, respectivamente; o
 - g) SEQ ID NOs: 21, 28 y 35, respectivamente; en donde la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 se definen por Kabat, Chothia o IMGT.
26. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 25, que comprende la LCDR1, la LCDR2, y la LCDR3 de las
- a) SEQ ID NOs: 36, 43 y 51, respectivamente;
 - b) SEQ ID NOs: 37, 44 y 52, respectivamente;
 - c) SEQ ID NOs: 38, 45 y 53, respectivamente;
 - d) SEQ ID NOs: 39, 46 y 54, respectivamente;
 - e) SEQ ID NOs: 40, 47 y 55, respectivamente;
 - f) SEQ ID NOs: 41, 47 y 56, respectivamente;
 - g) SEQ ID NOs: 42, 48 y 57, respectivamente;
 - h) SEQ ID NOs: 37, 49 y 52, respectivamente; o
 - i) SEQ ID NOs: 37, 50 y 52, respectivamente, en donde la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 se definen por Kabat, Chothia o IMGT.
27. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 16, 22 y 29, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 36, 43 y 51, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 58 y la VL de SEQ ID NO: 65.
28. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 17, 23 y 30, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 37, 44 y 52, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 66.
29. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 16, 24 y 31, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 38, 45 y 53, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 60 y la VL de SEQ ID NO: 67.

30. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 18, 25 y 32, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 39, 46 y 54, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 61 y la VL de SEQ ID NO: 68.
31. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 19, 26 y 33, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 40, 47 y 55, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO.: 62 y la VL de SEQ ID NOAS 69.
32. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 20, 27 y 34, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 41, 47 y 56, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ IID NO: 63 y la VL de SEQ ID NO: 70.
33. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 21, 28 y 35, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 42, 48 y 57, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 64 y la VL de SEQ ID NO: 71.
34. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
- a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 17, 23 y 30, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 37, 49 y 52, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 72.

35. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 26, que comprende
 - a) la HCDR1, la HCDR2 y la HCDR3 de SEQ ID NOs: 17, 23 y 30, respectivamente, y la LCDR1, la LCDR2 y la LCDR3 de SEQ ID NOs: 37, 50 y 52, respectivamente; o
 - b) la VH de SEQ ID NO: 59 y la VL de SEQ ID NO: 73.
36. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 26 - 35, en donde el anticuerpo es de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4.
37. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 36 que comprende al menos una sustitución en una región Fc, en donde la al menos una sustitución en la región Fc es una sustitución L234A, L235A, G237A, P238S, M252Y, S254T, T256E, H268A, A330S o P331S, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
38. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 37, que comprende las sustituciones L234A, L235A, G237A, P238S, H268A, A330S y P331S en la región Fc, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
39. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 36 que comprende al menos una sustitución en una región Fc, en donde la al menos una sustitución en la región Fc es una sustitución V234A, G237A, P238S, M252Y, S254T, T256E, H268A, V309L, A330S o P331S, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
40. El anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de la reivindicación 39, que comprende las sustituciones V234A, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S y P331S en la región Fc, en donde la numeración de residuos es de acuerdo con el índice EU.
41. Un inmunoconjugado que comprende el anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 17 y 25 - 40, unido a un agente terapéutico o un agente de formación de imágenes.
42. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 17 y 25 – 40 o el inmunoconjugado de la reivindicación 41 y un portador farmacéuticamente aceptado.

43. Un polinucleótido que codifica la VH del anticuerpo, la VL del anticuerpo o la VH del anticuerpo y la VL del anticuerpo de la reivindicación 26.
44. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 43.
45. Una célula huésped que comprende el vector de la reivindicación 44.
46. Un estuche que comprende el anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este de cualquiera de las reivindicaciones 1 – 7 y 25 - 40.
47. El estuche de la reivindicación 46, que comprende, además, reactivos para detectar el anticuerpo o una porción de unión al antígeno de este y las instrucciones de uso.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2018/0001256
Recibo: 18-32288
Fecha: 02/05/2018

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 175712
CUS: 333889415

Patente PCT
ANTICUERPOS ANTI-CD154 Y MÉTODOS DE USO DE ESTOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-02	Pago unitario reivindicacion adicional patente de invencion (A partir de de	37	\$ 38,500	\$ 1,424,500
TOTAL					\$ 1,424,500

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

Web: www.sic.gov.co e-mail: contactenos@sic.gov.co Conmutador: (571)5870000 Contact Center: (571)5920400

Guide to SPR Data Processing on the ProteOn™ XPR36 Protein Interaction Array System

Ruben Luo, Bio-Rad Laboratories, Inc.,
2000 Alfred Nobel Drive, Hercules, CA 94547

Interaction Sensorgram Terms

A surface plasmon resonance (SPR) sensorgram is a graph of time-traced SPR responses during a biomolecular interaction analysis. The x-axis is time in seconds and the y-axis is SPR response in response units (RU). It should be noted that both ligand immobilization and analyte injection steps generate sensorgrams, but the sensorgram in the analyte injection step is more often used because it contains the ligand-analyte interaction information for affinity or kinetic analysis. Therefore, where not otherwise specified, “sensorgram” hereinafter refers to that generated in the analyte injection step.

As illustrated in Figure 1, an SPR sensorgram can be divided into three different phases:

Baseline is the phase before the injection of the analyte. Running buffer flows over the sensor chip surface bearing the immobilized ligand and the baseline response is recorded.

Association is the phase during the injection of the analyte. The analyte flows over the sensor chip surface and binding occurs between the ligand and the analyte. A concave increasing response curve is produced. Depending on the binding kinetics of the interaction partners and the experimental conditions, the increasing response curve may or may not reach a plateau, which indicates that interaction equilibrium has been reached.

Dissociation is the phase after the injection of the analyte is finished. Running buffer flows over the sensor chip surface and washes off the analyte bound to the ligand. A convex decreasing response curve is produced. Depending on the binding kinetics of the interaction partners and the experimental conditions, the decreasing response curve may or may not return to baseline, which indicates complete dissociation of the analyte from the ligand surface.

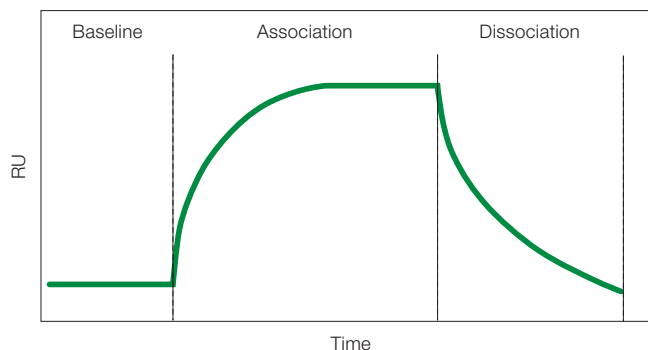


Fig. 1. A typical SPR sensorgram displaying the three sensorgram phases.

Kinetic analysis requires the presence of all three phases, whereas equilibrium and concentration analyses do not. However, note that (1) the association phase must reach the interaction equilibrium plateau for an equilibrium analysis, and (2) the beginning of the association phase must be linear to reveal mass-transport limitations to kinetics in a concentration analysis.

Sensorgram Display

In the 6 × 6 experimental configuration of the ProteOn XPR36 system, 36 sensorgrams are produced simultaneously in each SPR experiment. In the sensorgram display, by default the sensorgrams are grouped by ligand in six sensorgram windows, or graphs. In the One-shot Kinetics™ approach, each graph contains a set of six dose-response sensorgrams for a dilution series of the analyte interacting with six identical ligand surfaces. During data processing, the grouping of sensorgrams can be adjusted in the **Data Grouping** screen, and individual sensorgrams can be removed from or added back to the sensorgram display in the **Interaction** screen.

The sensorgram graphs can be selected or deselected by clicking their blue title bars. In the menu bar, click **View** and **Select All Graphs** to select all the sensorgram graphs. While **Auto** data processing activities apply to all the sensorgram graphs, **Selected** data processing activities apply only to the selected sensorgram graphs.

Sensorgram Processing

1. Align the sensorgram set

To perform reliable kinetic analysis, a set of dose-response sensorgrams for the same interaction are typically analyzed together to minimize system deviations. This action requires the alignment of the graphs in a sensorgram set in both the vertical and horizontal dimensions. In scientific experiments, it is common to perform diagram or sensorgram alignment when processing multiple data groups in a dataset. The alignment action for SPR sensorgrams is similar to those performed for other bioanalytical technologies such as spectroscopy. ProteOn Manager™ software offers automatic injection alignment along the x-axis and baseline alignment along the y-axis available in the **Process** menu, as shown in Figure 2.

Injection alignment adjusts all the sensorgrams to share the same starting point along the x-axis, thus removing time differences among the different sensorgrams. Unlike traditional serial-flow SPR systems, the ProteOn XPR36 system has a parallel flow design that allows for synchronized analyte injection across different flow channels. Therefore, injection alignment is typically achieved with very good accuracy.

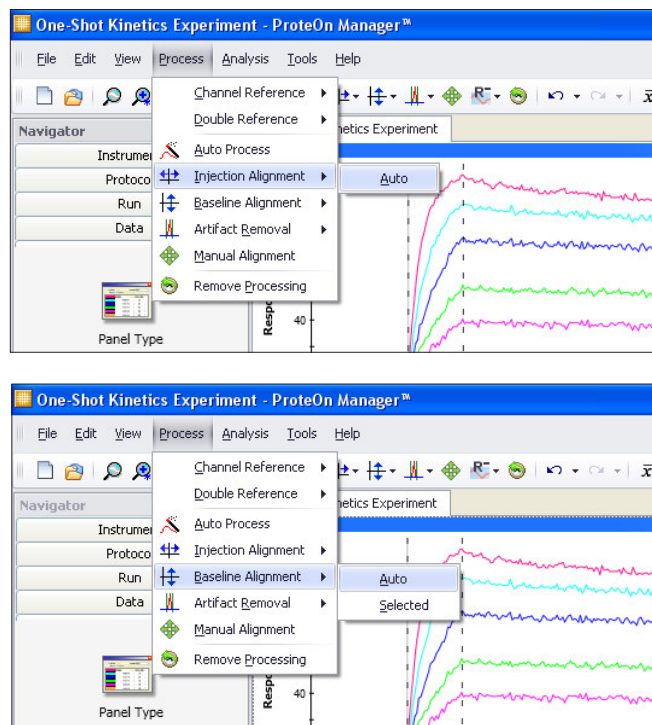


Fig. 2. The automatic injection alignment and baseline alignment functions offered in ProteOn Manager software.

Baseline alignment adjusts all the sensorgrams to the same zero-baseline level along the y-axis, thus removing slight baseline-level differences among the sensorgrams resulting from previous steps. Although the automatic baseline alignment function processes entire sensorgrams by default, it is possible to align the sensorgrams based on the values in a selected region. To define the selected region, click and drag in the sensorgram graph. Click **Process**, select **Baseline Alignment**, and choose **Selected** in the submenu to perform baseline alignment for the selected region.

In addition to the alignment options described above, manual correction may be applied to fine-tune the sensorgrams. To perform the manual sensorgram alignment, click **Process** and select **Manual Alignment**. Individual sensorgrams can then be moved when selected with the mouse.

2. Remove the artifacts

Sensorgram artifacts, usually spikes caused by tiny air bubbles in the analyte solution, are sometimes present and should be removed. Note that *artifact* here refers to a response deviation over a very small time period. If a significant portion of the sensorgram deviates from the expected response, the trial should be re-run.

ProteOn Manager software offers automatic artifact removal that flattens these artifacts to restore sensorgram integrity, as illustrated in Figure 3. Although the automatic artifact removal processes entire sensorgrams by default, it is possible to process a selected region of the sensorgrams. To define the selected region, click and drag in the sensorgram graph. Click **Process**, select **Artifact Removal**, and choose **Selected** in the submenu to perform artifact removal within the selected region.

For ease of use, ProteOn Manager software allows the user to conduct all the sensorgram processing steps with a single command. Selecting **Auto Process** in the **Process** menu sequentially performs injection alignment, baseline alignment, and artifact removal.

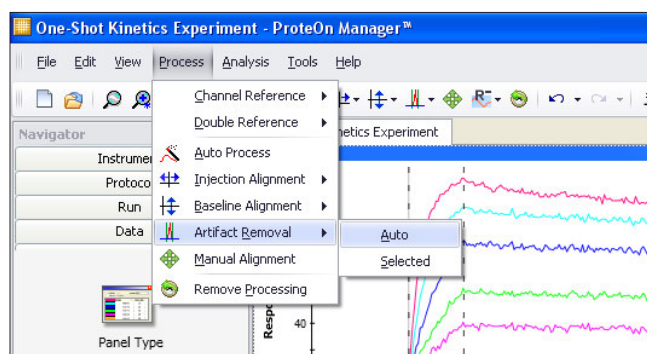


Fig. 3. The automatic artifact removal function offered in ProteOn Manager software.

Sensorgram Referencing

Sensorgram referencing is the most important step in data processing. The subtraction of references removes artifacts of refractive index change (bulk effect) from the analyte sample, nonspecific binding (NSB) of the analyte and impurities on the sensor chip surface, and changes of the ligand surface. There are two types of referencing in SPR analysis: blank surface referencing and blank buffer referencing. A blank surface reference is used to correct for bulk effect and NSB, and a blank buffer reference is used to correct for baseline drift resulting from the changes of the ligand surface.

The novel 6 × 6 experimental configuration in the ProteOn XPR36 system offers a comprehensive set of referencing options. The referencing options can be selected from the **Process** menu, as shown in Figure 4. The available referencing options are listed below.

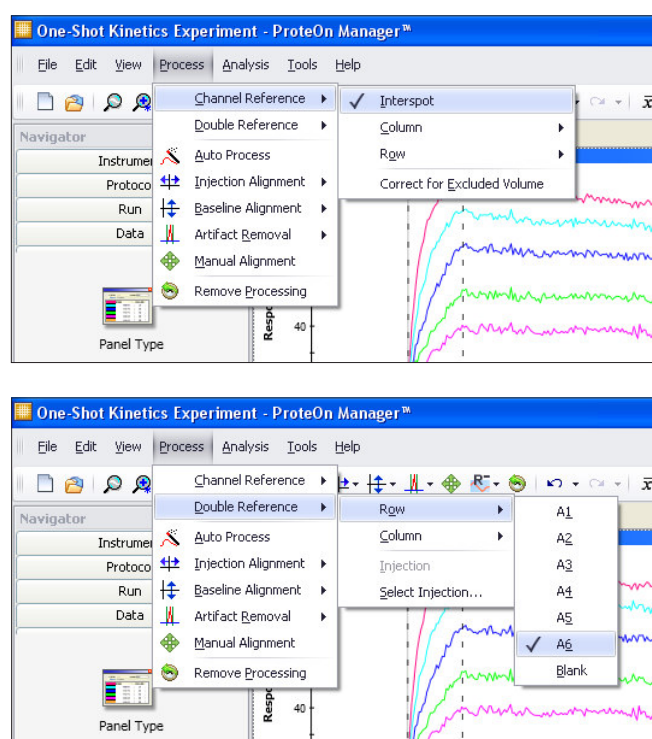


Fig. 4. ProteOn Manager software presents all the referencing options available in the ProteOn XPR36 system for selection.

1. Blank surface referencing (also known as channel referencing)

Blank surface referencing is performed on a blank surface (either an empty or an irrelevant protein-coated surface) with an analyte solution flowing over it. The reference responses are collected on blank surfaces during the analyte injection (that is, blank surface reference = blank surface + analyte solution), as shown in Figure 5. Blank surface referencing is used to correct for bulk effect and NSB.

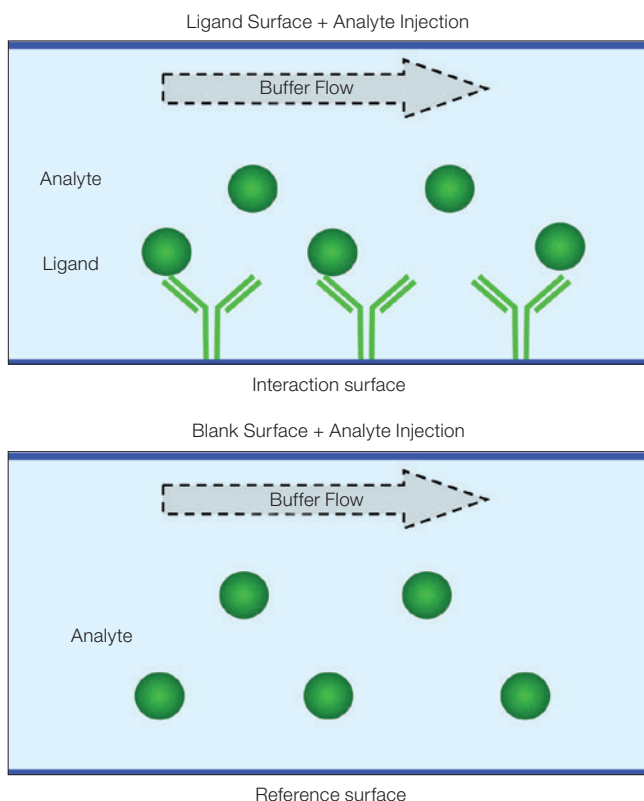


Fig. 5. Schematic diagram of a blank surface reference.

The ProteOn XPR36 system offers two blank surface referencing options, as illustrated in Figure 6.

Channel referencing is the reference method traditionally used in commercial SPR biosensors. It involves reserving a portion of the potential interaction surfaces for use as blank surfaces.

Interspot referencing is unique to the ProteOn XPR36 system. Instead of consuming potential interaction surfaces, this reference method employs the interval surfaces adjacent to interaction surfaces. Compared with the traditional channel reference, the interspot reference has the advantages of immediate proximity to interaction spots and the conservation of interaction spots. The immediate proximity enhances the referencing quality.

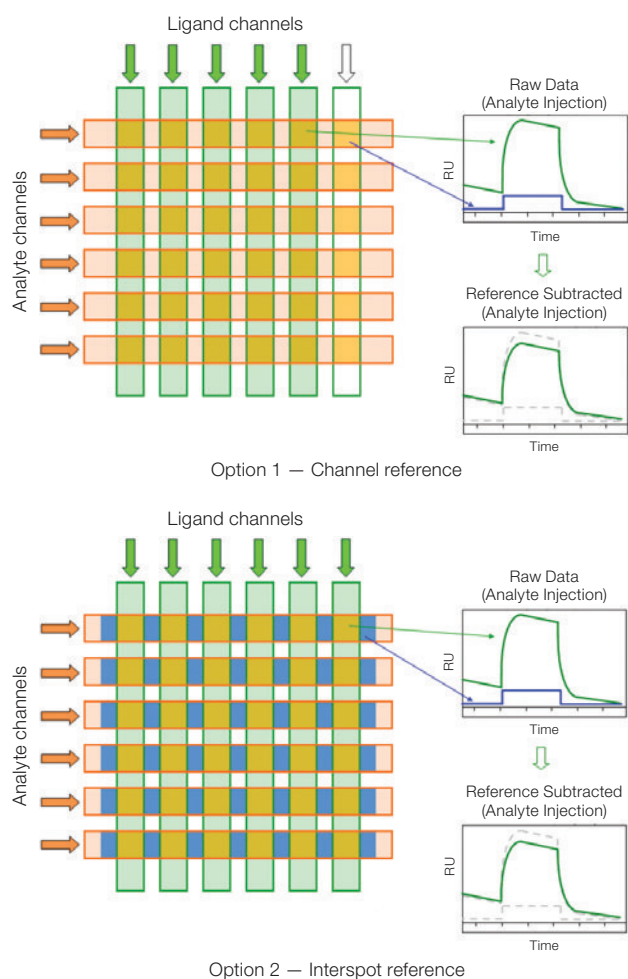


Fig. 6. The two blank surface referencing options in the ProteOn XPR36 system.

2. Blank buffer referencing (also known as double referencing)

Blank buffer referencing is performed on a ligand surface with a blank buffer (either a running buffer or a negative control sample) flowing over it. The reference responses are collected on ligand surfaces during a blank buffer injection (that is, blank buffer reference = ligand surface + blank buffer), as shown in Figure 7. Blank buffer referencing is used to correct for baseline drift resulting from the changes of the ligand surface.

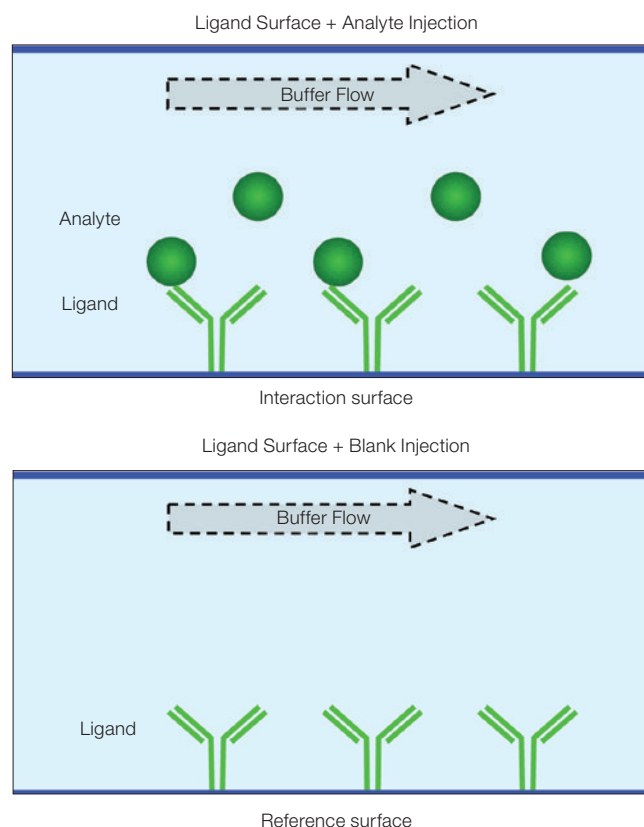


Fig. 7. Schematic diagram of a blank buffer reference.

The ProteOn XPR36 system offers two blank buffer referencing options, as illustrated in Figure 8.

Injection referencing is the reference method traditionally used in commercial SPR biosensors. It requires a blank buffer injection performed prior to the analyte injection.

Real-time double referencing is unique to the ProteOn XPR36 system. This method employs a blank buffer injection in parallel with the analyte injection. Compared with the traditional injection reference, the real-time double reference has the advantages of accurate monitoring of possible changes on ligand surfaces and saving time by eliminating the additional blank buffer injection. The accurate monitoring of ligand surfaces greatly enhances the referencing quality, especially in the cases of capture surfaces, where reversible capture of the ligand is employed and exponential baseline decay is often observed.

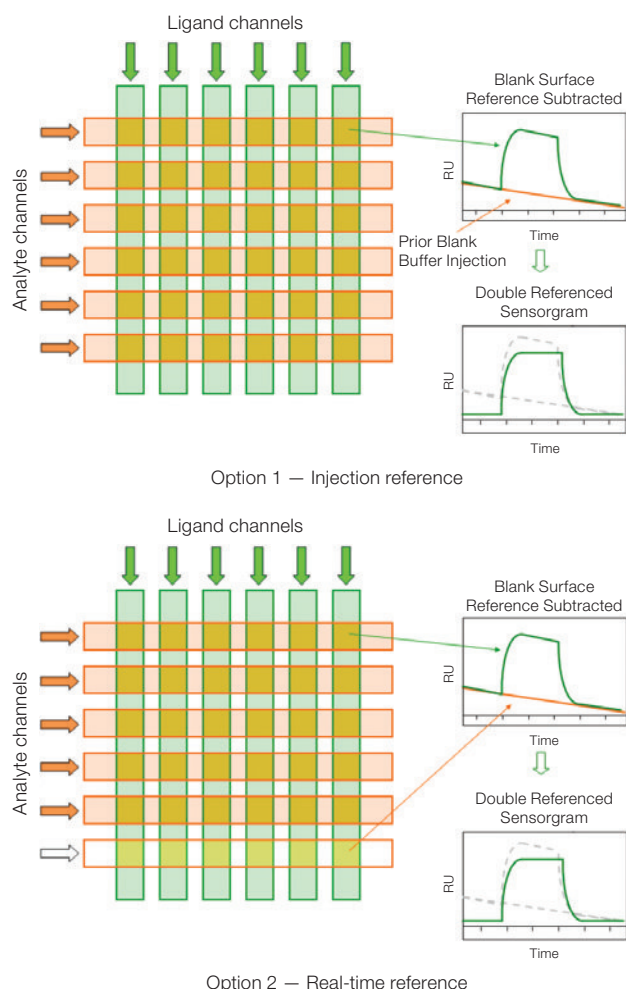


Fig. 8. The two blank buffer referencing options in the ProteOn XPR36 system.

Referencing options should be selected in the experiment design phase, as the reference surfaces are created in ligand immobilization and analyte injection steps. A combination of blank surface and blank buffer referencing is usually applied to yield high-quality SPR results. This combination is implemented by sequentially subtracting one blank surface reference and one blank buffer reference. The ProteOn XPR36 system offers the flexibility of selecting any combination of the four references to optimize data processing.

3. Excluded volume correction

Excluded volume correction (EVC) is not an independent referencing option but rather a calibration with a blank surface reference. This calibration is applied when a cosolvent with a high refractive index, such as DMSO, is used in an analyte solution to increase the analyte solubility. A high refractive index cosolvent may produce a larger bulk effect on a reference surface than on an interaction surface due to the volume exclusion of the cosolvent by the ligand on the interaction surface. This inconsistency can be resolved by the EVC calibration. Please refer to Bio-Rad bulletin 5822 for a detailed explanation of this calibration and experimental guidance.

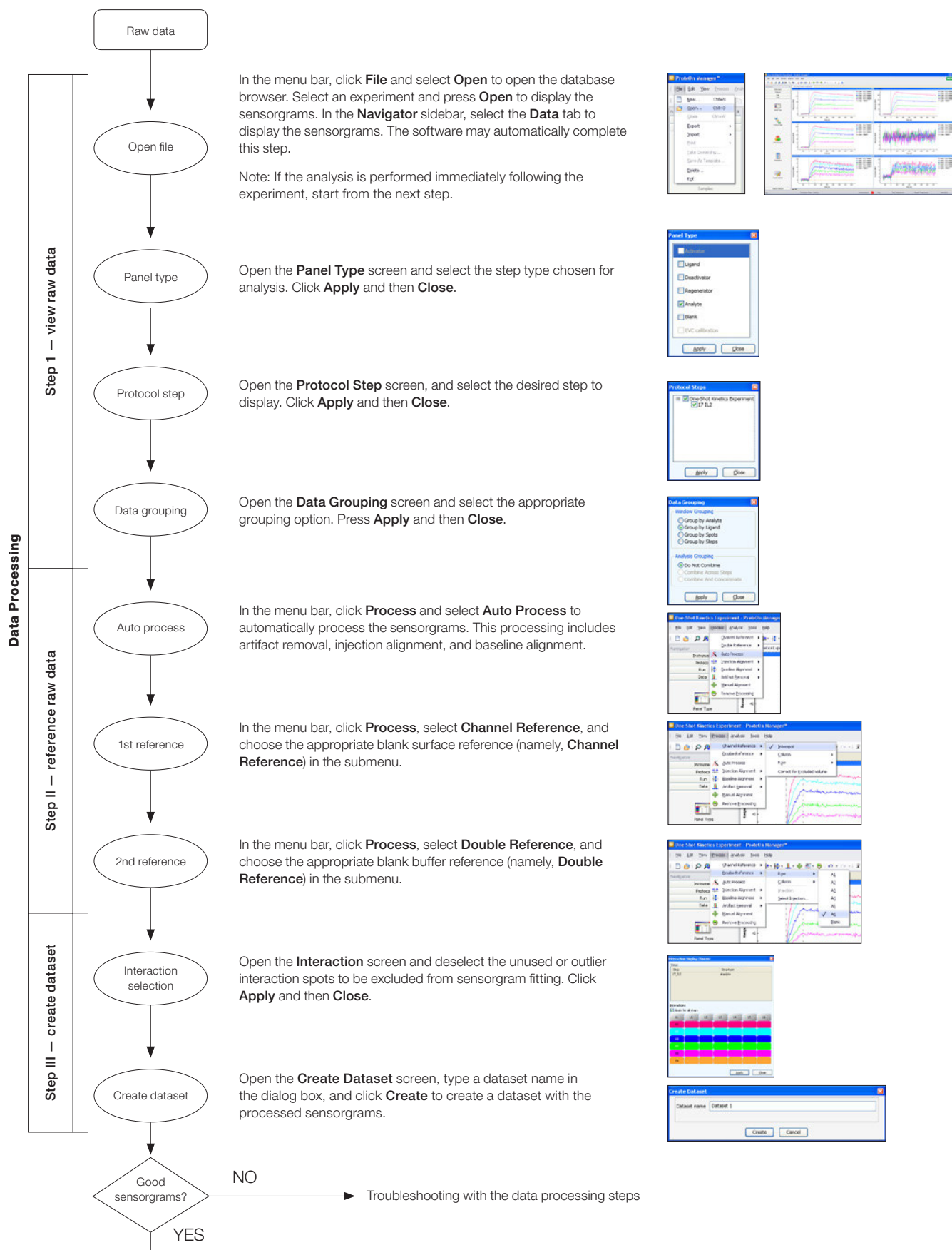
Quality Standards for Processed Sensorgrams

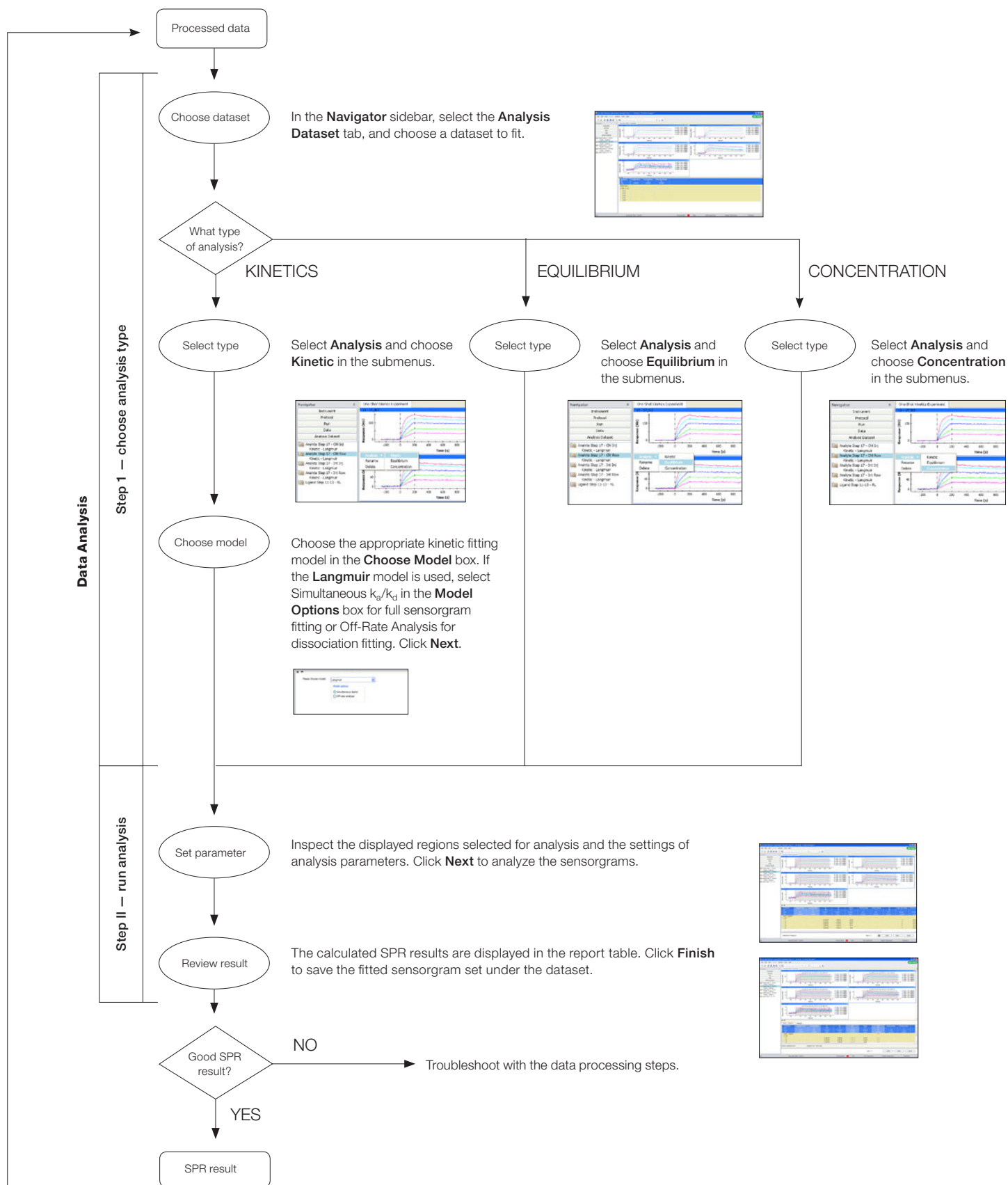
The following standards are used to judge the quality of processed sensorgrams:

1. **Processed sensorgrams** — the sensorgrams are aligned in both dimensions, and artifacts, such as air bubbles, are removed. This processing requires both good-quality raw sensorgrams and appropriate software functions.
2. **Good choice of referencing** — both blank surface referencing (channel referencing) and blank buffer referencing (double referencing) are appropriately performed. The experimental design must ensure the incorporation of the correct referencing options. The referenced sensorgrams should not show bulk effects or baseline drift. Although it is not required, the best practice is to have no response jump present between the end of association and the beginning of dissociation phases.
3. **Sufficient interaction time** — the interaction time or the time of analyte injection in the association phase is long enough to show curvature, and the running buffer injection time in the dissociation phase is long enough to show adequate response decrease to resolve the dissociation rate constant. The choice of appropriate injection conditions, including interaction time, analyte concentration, and injection flow rate, is based on the user's understanding of the interaction. For example, the user can determine the binding affinity and ligand-analyte complex stability by obtaining this information from either preliminary experimental trials or literature values. This consideration is essential for accurate sensorgram fitting.

Note: The steps of data processing and data analysis using ProteOn Manager software are outlined in the Appendix.

Appendix: Data Processing and Analysis Flowchart







**Bio-Rad
Laboratories, Inc.**

Life Science
Group

Web site www.bio-rad.com **USA** 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 01 877 89 01 **Belgium** 09 385 55 11 **Brazil** 55 11 5044 5699
Canada 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 420 241 430 532 **Denmark** 44 52 10 00 **Finland** 09 804 22 00
France 01 47 95 69 65 **Germany** 089 31 884 0 **Greece** 30 210 9532 220 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 36 1 459 6100 **India** 91 124 4029300
Israel 03 963 6050 **Italy** 39 02 216091 **Japan** 03 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 0318 540666
New Zealand 64 9 415 2280 **Norway** 23 38 41 30 **Poland** 48 22 331 99 99 **Portugal** 351 21 472 7700 **Russia** 7 495 721 14 04
Singapore 65 6415 3188 **South Africa** 27 861 246 723 **Spain** 34 91 590 5200 **Sweden** 08 555 12700 **Switzerland** 026 674 55 05
Taiwan 886 2 2578 7189 **Thailand** 800 88 22 88 **United Kingdom** 020 8328 2000