

P-12634

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Expediente No. **NC2016/0005027**

Solicitud de patente a nombre de **OXITEC LIMITED**

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 **OXITEC LIMITED**, domiciliada en Abingdon, Reino Unido, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al Oficio No. **3146** notificado por comunicación electrónica el 21 de marzo de 2018 y relacionado con concepto técnico de fondo, me permito manifestar:

1. Título

En primer lugar, tomando en consideración lo expuesto por el examinador en el oficio arriba mencionado con relación al título de la presente solicitud, me permito manifestar que es deseo del solicitante presentar el siguiente nuevo título:

*«POLINUCLEÓTIDOS Y MÉTODOS PARA UN SISTEMA DE EXPRESIÓN
LETAL CONDICIONAL EN INSECTOS»*

De esta manera, el nuevo título es lo suficientemente claro, breve y descriptivo para referirse a la solicitud en estudio.

2. Modificaciones al capítulo reivindicatorio

Por otro lado, con fundamento en la facultad que confiere el Artículo 34 de la Decisión 486/00 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, me permito presentar junto con este memorial un nuevo

capítulo reivindicatorio que consta de 40 reivindicaciones y reemplaza completamente al anteriormente presentado, el cual contempla lo siguiente:

2.1. Las reivindicaciones 29 a 31 anteriormente presentadas han sido eliminadas, se han agregado las nuevas reivindicaciones 8, 10, 19, 24, 32 y 40, y las reivindicaciones 8 a 28 y 32 a 37 anteriormente presentadas han sido reenumeradas en consecuencia.

2.2. Las reivindicaciones 7, 8, 14, 16, 18, 20, 23, 25, 27, 28, 33 y 37 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 7, 9, 16, 18, 21, 23, 27, 29, 31, 33, 35 , y 39) han sido modificadas para mayor claridad.

2.3. Las reivindicaciones 23 a 28 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 27 a 31 y 33) se han modificado para sustituir el término «constructo genético» por «vector recombinante».

En cuanto a estas modificaciones, me permito decir que las mismas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud, y se realizaron con el ánimo de superar las objeciones planteadas por el examinador en su concepto técnico.

3. Pago de tasas

En relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito comentar que no se adjunta tasa por reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio cuenta con menos cláusulas que el originalmente presentado.

Por otra parte, me permito adjuntar recibo por concepto de pago de tasa para un nuevo examen de patentabilidad sobre el nuevo pliego reivindicatorio, según lo estipulado en la Resolución No. 3719 de 2016.

4. Excepción de patentabilidad

En este sentido, con relación a lo mencionado por el examinador en cuanto a que: *«El objeto de las reivindicaciones 29 a 31 no es patentable de acuerdo con el art. 20 D 486 literal c), toda vez que dichas reivindicaciones se refieren a un artrópodo, el cual es un phylum del reino Animalia, por tanto, está excepto de patentabilidad. (...)»*, me permito indicar que dichas

reivindicaciones fueron eliminadas del nuevo capítulo reivindicatorio. Por tanto, la objeción a este respecto se ve superada.

5. Claridad, concisión y soporte del capítulo reivindicatorio

Ahora bien, con relación a la claridad y concisión de las reivindicaciones, me permito manifestar que mediante el nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones a este respecto, ya que las nuevas reivindicaciones proporcionan claridad y concisión a la invención reclamada, y cuentan con pleno soporte en la descripción de la solicitud en estudio, siguiendo además las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En particular, me permito resaltar lo siguiente:

5.1. Las reivindicaciones 1 y 23 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 1 y 27) fueron objetadas por supuestamente carecer de soporte en la descripción. Si bien el examinador reconoce que un sistema de expresión con tres genes letales cuenta con soporte, el examinador afirma que un sistema de expresión con sólo dos genes letales no está soportado.

No obstante, amablemente me permito resaltar que la descripción de la solicitud en estudio sí proporciona soporte para secuencias de polinucleótidos y sistemas de expresión que contienen dos genes letales. Por ejemplo, la descripción:

- describe secuencias de polinucleótidos que contienen dos genes letales (*véase*, por ejemplo, la página 3, líneas 13-33; la página 4, líneas 15-26; la página 10, líneas 6-10; y la página 12, líneas 6-17, de la publicación internacional correspondiente WO 2015/185933),
- proporciona ejemplos de qué genes letales se pueden incorporar en una secuencia de polinucleótidos que contiene dos genes letales (*véase*, por ejemplo, la página 2, líneas 4-12; la página 5, líneas 27-29; la página 11, líneas 1-16, 18-23, y 25-34; la página 12, líneas 6-17; la página 21, líneas 17-27, de la publicación internacional correspondiente WO 2015/185933),
- proporciona orientación sobre la construcción de secuencias de polinucleótidos que contienen dos genes letales (*véase*, por ejemplo, la página 12, líneas 6-21; la página

13, líneas 20-31; la página 16, líneas 7-14; la página 22, líneas 17 - 35; y la página 23, líneas 20-31, de la publicación internacional correspondiente WO 2015/185933), y

- proporciona orientación sobre el uso de secuencias de polinucleótidos que contienen dos genes letales para controlar una población de insectos (*véase*, por ejemplo, la página 34, líneas 1-26, de la publicación internacional correspondiente WO 2015/185933).

Basándose en la descripción proporcionada en la memoria descriptiva, así como en los conocimientos generales en la técnica, la persona normalmente versada en la materia entendería completamente cómo construir y usar con éxito secuencias de polinucleótidos que contienen dos genes letales que dan como resultado la letalidad específica de las hembras en los insectos. Por al menos estas razones, las secuencias de polinucleótidos que contienen dos genes letales se encuentran totalmente soportadas por la descripción de la presente solicitud. Por tanto, me permito solicitar a ese Despacho que la objeción a este respecto sea retirada.

5.2. Las reivindicaciones 7, 8, 16, 18, 20, 25, 27, 28, 33 y 37 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 7, 9, 18, 21, 23, 29, 31, 33, 35 y 39) se han modificado para eliminar el término «preferiblemente».

5.3. La reivindicación 14 anteriormente presentada (nueva reivindicación 16) se ha modificado para reemplazar la frase «se expresan durante al menos el desarrollo embrionario» con el término «promotor embrionario».

5.4. Las reivindicaciones 23 y 37 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 27 y 39) fueron modificadas para eliminar el término artrópodo de la nueva reivindicación 27 y reemplazar el término «artrópodo» por «insecto» en la nueva reivindicación 39.

5.5. La reivindicación 23 anteriormente presentada (nueva reivindicación 27) fue modificada para eliminar la frase «para transformar un artrópodo».

5.6. La reivindicación 23 anteriormente presentada (nueva reivindicación 27) también fue objetada por referirse a los polinucleótidos mencionados en otras reivindicaciones. No obstante, me permito destacar que la nueva reivindicación 27 está dirigida a ***un vector que comprende*** la secuencia de polinucleótidos de

cualquiera de las reivindicaciones 1-22. La persona normalmente versada en la materia reconocería que un vector que comprende una secuencia de polinucleótidos puede distinguirse de la secuencia de polinucleótidos en sí misma. El experto en la materia, por lo tanto, reconocería que el objeto de la nueva reivindicación 27 no se limita a simplemente mencionar materia ya señalada en las reivindicaciones anteriores. Por tanto, me permito solicitar a ese Despacho que la objeción a este respecto sea retirada.

5.7. La reivindicación 37 anteriormente presentada (nueva reivindicación 39) ha sido modificada para incluir el paso de «liberar un insecto que comprende el vector recombinante (...)». De esta manera, la nueva reivindicación 39 menciona un paso definido y, por lo tanto, es clara.

En consecuencia, me permito manifestar que el nuevo capítulo reivindicatorio adjunto al presente memorial, que incluye 40 reivindicaciones, cumple a cabalidad con las disposiciones del Artículo 30 de la Decisión 486/00.

6. Unidad de invención

Por otra parte, el examinador afirma que las reivindicaciones carecen de unidad de invención porque supuestamente se dirigen a dos invenciones separadas:

1° Una secuencia de polinucleótidos que comprende un primer y un segundo sistema de expresión génica (reivindicaciones 1-28), y un método para controlar una población de artrópodos (reivindicación 37).

2° Un método para detectar un insecto transformado (reivindicaciones 32-34), un par de primers (reivindicación 35) y una sonda (reivindicación 36).

Además, el examinador menciona que *«No hay unidad de invención entre los dos grupos inventivos ya que el concepto común inventivo, una secuencia de polinucleótidos que comprende un primero y un segundo sistema de expresión génica, no cumple con el requisito de nivel inventivo de acuerdo con los documentos WO2007091099 y WO2005012534.»*

Sin embargo, me permito manifestar que sí existe unidad de invención entre el grupo 1 y el grupo 2 al menos porque ambos grupos comparten el mismo concepto inventivo, es decir, la secuencia de polinucleótidos mencionada que comprende los

primer y segundo sistemas de expresión génica. Este concepto es inventivo sobre D1 y D2 al menos por las razones que se describen más adelante.

7. Nivel inventivo

Finalmente, y en conexión con lo anterior, el examinador establece en su concepto técnico la falta de nivel inventivo de las reivindicaciones 1-28 y 37 anteriormente presentadas (que corresponden a las nuevas reivindicaciones 1-33 y 39-40) a la vista de D1 (WO2007091099) y D2 (WO2005012534). Asimismo, el examinador asegura que las reivindicaciones 23-28 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 27-33) no tienen nivel inventivo a la vista de D1, D2 y D3 (WO2005003364).

A este respecto, me permito indicar que el Artículo 18 de la Decisión 486/00 establece que: *“Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica”*.

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo no es una comparación del estado del arte y la solicitud en estudio. El análisis de nivel inventivo debe demostrar la obviedad de la invención analizada, estableciendo que para una persona normalmente versada en la materia dicha invención habría sido evidente a la luz de lo divulgado por el arte previo en el momento de su desarrollo.

Considerando esta definición, me permito exponer los siguientes argumentos técnicos que demuestran el nivel inventivo de la invención definida en las nuevas reivindicaciones 1 a 40.

7.1. Reivindicaciones 1-22 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 1-26)

El examinador reconoce que las reivindicaciones 1-22 anteriormente presentadas son novedosas, pero asegura que carecen de nivel inventivo sobre D1 y D2. D1 supuestamente describe un sistema de expresión de polinucleótidos que comprende los diferentes elementos reguladores y codificantes de la secuencia de polinucleótidos actualmente reivindicada, tal como una proteína funcional y letal, un promotor, una secuencia de control de empalme y un factor de transcripción. El examinador

reconoce que los polinucleótidos de D1 solo contienen un único sistema de expresión compuesto por elementos reguladores y un gen letal, pero menciona que el experto en la materia estaría motivado a generar un polinucleótido con dos sistemas de expresión basándose en las enseñanzas de D2. Específicamente, el examinador afirma que D2 enseña sistemas de expresión que son multicistronicos.

No obstante, los polinucleótidos reivindicados actualmente son inventivos al menos porque poseen una efectividad sorprendente e inesperada para producir letalidad específica femenina en insectos que no podrían haberse predicho basándose en las enseñanzas de D1 y D2.

D1 y D2 no revelan una secuencia de polinucleótidos que comprende un primer gen letal dominante unido operativamente a un primer promotor, un gen que codifica un primer factor de transcripción de activación y una primera secuencia de control de empalme, *y* un segundo sistema de expresión génica que comprende ***un segundo gen letal dominante*** operativamente unido a ***un segundo promotor***, un gen que codifica ***un segundo factor de transcripción de activación***, *y una segunda secuencia de control de empalme* como se reivindica actualmente. Los dos sistemas de expresión génica comprenden cada uno un gen que codifica un factor de transcripción de activación, tal como tTAV o variante del mismo. Los factores de transcripción de activación se pueden unir a los promotores dentro de la secuencia de polinucleótidos e impulsar más expresión de los factores de transcripción de activación. Por lo tanto, se puede considerar que la secuencia de polinucleótidos actualmente reivindicada contiene dos bucles de retroalimentación positiva.

Los polinucleótidos descritos por D1 y D2 solo contienen bucles de retroalimentación positivos únicos. Un ejemplo de un polinucleótido que contiene un único bucle de retroalimentación positiva es el constructo LA3097 de D1, que exhibió la muerte en las etapas de pupa. Cuando se examinaron los transgénicos LA3097 para la tasa de eclosión de la progenie de estas moscas Medflies genéticamente modificadas (GE, por sus siglas en inglés) cruzadas con moscas Medflies de tipo salvaje, hubo una diferencia significativa en las tasas de eclosión. Las Medflies transgénicas LA3097 se identificaron con marcadores fluorescentes. Eclosionaron más pupas no fluorescentes que pupas fluorescentes, lo que concuerda con un efecto letal de la construcción LA3097 que se produce durante la fase de pupa. Cuando se examinaron adultos que emergieron de pupas fluorescentes, casi todos eran varones. Tomados en

conjunto, estos datos fueron consistentes con los transgénicos LA3097 femeninos que sobrevivieron a las etapas de pupa (que componen ~ 50% de las pupas LA3097 en el grupo), pero murieron antes de eclosionar, lo que representa que todos o casi todos los transgénicos LA3097 eclosionados son varones.

Estos resultados se muestran en la Tabla 1 a continuación, que muestra los machos fluorescentes como un porcentaje del número total de adultos fluorescentes eclosionados de los cruces entre machos heterocigotos y hembras de tipo salvaje criadas con tetraciclina y el porcentaje de pupas fluorescentes eclosionadas del mismo cruce.

Tabla 1

	LA3097A	LA3097B	LA3097C
Machos	98%	100%	100%
Eclosión	52%	58%	45%

Por el contrario, cuando se observó lo mismo en constructos de bucle de retroalimentación positiva doble (por ejemplo, LA3376A y LA3376B, ambos con dos copias de tTAV), la tasa de eclosión de pupas fluorescentes frente a pupas no fluorescentes (que son una mezcla del 50% de machos y hembras) no fue significativamente diferente, lo que sugiere la misma viabilidad de las pupas en ambos grupos. Sin embargo, cuando se examinaron adultos que emergieron de pupas fluorescentes, todos (o casi todos en el caso de LA3376B) eran varones, lo que sugiere que las hembras morían antes de la etapa de pupa. Los datos para este resultado se muestran en la Tabla 2 a continuación, que muestra machos fluorescentes como un porcentaje del número total de adultos fluorescentes eclosionados de los cruces entre machos heterocigotos y hembras de tipo salvaje criadas con tetraciclina y el porcentaje de pupas eclosionadas del mismo cruce.

Tabla 2

	LA3376A	LA3376B
Machos	100%	99.5%
Eclosión	73%	77%

Además, hubo una falta de larvas muertas de los transgénicos de bucle de retroalimentación positiva doble, lo que indica que las hembras estaban muriendo en una etapa muy temprana, incluso antes de que crecieran lo suficiente como para ser detectadas. En otras palabras, las hembras muertas eran demasiado pequeñas para encontrarlas - las larvas Medfly se entierran en el medio de alimentación y solo emergen del medio de alimentación como larvas L3, por lo que es muy difícil hurgar para encontrar pequeños embriones y larvas tempranas. Por lo tanto, los constructos de bucle de retroalimentación positiva doble exhibieron letalidad específica femenina en una etapa de larva muy temprana, mucho antes que los constructos de bucle de retroalimentación único que mostraron letalidad en la etapa de pupa.

La evidencia anterior demuestra que los constructos con un bucle de retroalimentación positiva doble exhiben una mortalidad de acción más rápida en las hembras, lo cual muestra una mejora significativa sobre los constructos de bucle de retroalimentación positiva único. Este efecto técnico es sorprendente ya que los inventores probaron este enfoque entre otras ideas que tenían, sin saber si habría tal efecto.

Por al menos estas razones, D1 y D2, solos o en combinación, no afectan el nivel inventivo de las nuevas reivindicaciones 1-26.

7.2. Reivindicaciones 23-28 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 27-33)

El examinador reconoce que las reivindicaciones 23-28 anteriormente presentadas (nuevas reivindicaciones 27-33) son novedosas, pero afirma que las reivindicaciones carecen de nivel inventivo sobre D1 y D2, y en vista de, además, D3.

Las nuevas reivindicaciones 27-33 mencionan, *inter alia*, vectores recombinantes que comprenden las secuencias de polinucleótidos reclamadas. Como se discutió anteriormente, D1 y D2 no afectan el nivel inventivo de las secuencias de polinucleótidos actualmente reivindicadas.

D3 no soluciona esta deficiencia. D3 supuestamente enseña una constructo que comprende un elemento transponible con al menos cuatro repeticiones invertidas que es eficaz en la integración de ADN en el genoma de un huésped. D3 no proporciona

ninguna enseñanza o sugerencia que motivaría a la persona normalmente versada en la materia a generar un vector recombinante que comprenda una secuencia de polinucleótidos que comprenda dos sistemas de expresión y/o dos bucles de retroalimentación positiva. Además, D3 no proporciona ninguna enseñanza o sugerencia de que dicho vector que contiene dos bucles de retroalimentación positiva tendría una efectividad sorprendente o inesperada para letalidad específica femenina.

Por al menos estos motivos, D1-D3 no afectan el nivel inventivo de las nuevas reivindicaciones.

7.3. Reivindicación 37 anteriormente presentada (nueva reivindicación 39)

El examinador reconoce que la reivindicación 37 anteriormente presentada (nueva reivindicación 39) es novedosa, pero asegura que esta carece de nivel inventivo sobre D1 y D2. Sin embargo, la nueva reivindicación 39 menciona, *inter alia*, la liberación de insectos que comprenden los vectores de las reivindicaciones 27-33. Por las razones indicadas anteriormente, el vector de las reivindicaciones 27-33 es inventivo sobre D1 y D2. El método de la nueva reivindicación 39 es, por lo tanto, también inventivo sobre D1 y D2.

En consecuencia, me permito señalar que los documentos D1, D2 y D3 no afectan el nivel inventivo de la presente solicitud y la objeción a este respecto se ve superada, toda vez que no existe motivación alguna para que una persona normalmente versada en la materia derive de manera obvia la presente invención a partir de dichas anterioridades, la cual cuenta además con un efecto técnico mejorado y sorprendente.

De esta manera, me permito manifestar que las reivindicaciones 1 a 40 del nuevo capítulo reivindicatorio cumplen con el requisito de nivel inventivo según los lineamientos del Artículo 18 de la Decisión 486/00.

8. Conclusiones

Finalmente, a la luz de las modificaciones al capítulo reivindicatorio y los argumentos presentados, es posible concluir lo siguiente:

8.1. La presente solicitud es clara, concisa y está debidamente soportada por la descripción, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 30 de la Decisión 486/00.

8.2. La presente solicitud cumple con el requisito de unidad de invención según lo establecido en el Artículo 25 de la Decisión 486/00.

8.3. La presente solicitud es patentable sobre los documentos D1, D2 y D3, de acuerdo con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486/00.

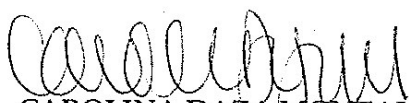
Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486/00.

9. Anexos

9.1. Nuevo capítulo reivindicatorio que comprende 40 reivindicaciones.

9.2. Comprobante de pago de tasa para nuevo examen de patentabilidad.

Señor Director,



CAROLINA DAZA MONTALVO

C.C. 66.783.790 de Palmira Valle

TP-141563 CSJ

notificaciones@clarkemodet.com.co

P-12634

Nuevo capítulo reivindicatorio

Junio 20, 2018

REIVINDICACIONES

1. Una secuencia de polinucleótidos que comprende un primero y un segundo sistema de expresión génica, en el que:

- i) el primer sistema de expresión génica comprende un primer gen letal dominante operativamente unido a un primer promotor, un gen que codifica un primer factor de transcripción de activación, y una primera secuencia de control de empalme,
- ii) el segundo sistema de expresión génica comprende un segundo gen letal dominante operativamente unido a un segundo promotor, un gen que codifica un segundo factor de transcripción de activación, y una segunda secuencia de control de empalme,

en donde

cada uno de dichos factores de transcripción de activación es capaz de activar al menos uno de dichos promotores, con la condición de que ambos de dichos promotores se activan cuando se expresan ambos de dichos factores de transcripción,

cada una de la primera y segunda secuencias de control de empalme media la expresión específica para la hembra del primero y segundo gen letal dominantes, respectivamente, mediante empalme alternativo, y una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan, independientemente, de un gen *transformer (tra)*, *doublesex (dsx)*, o *Actina-4*.

la actividad de transactivación de cada uno del primero y el segundo factores de transcripción de activación es represible por un primero y un segundo factor de control exógeno, respectivamente, en donde dicho primer factor de control exógeno es igual o diferente de dicho segundo factor de control exógeno; y

cada uno de dichos componentes de dicho primer sistema de expresión génica es el mismo o diferente de dichos componentes de dicho segundo sistema de expresión génica.

2. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el primer factor de transcripción de activación es el producto génico del primer gen letal dominante y/o el segundo factor de transcripción de activación es el producto génico

del segundo gen letal dominante, de manera que dicho factor de transcripción también proporciona el efecto letal conferido por dicho gen letal dominante.

3. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en la que una o ambas de la primera y la segunda secuencia de control de empalme media la expresión específica de la hembra por el respectivo gen letal dominante, junto con un spliceosoma mediando el empalme de un transcripto de ARN del gen letal dominante respectivo para producir un mARN que codifica una proteína funcional y al menos un mARN que codifica una proteína no funcional, en donde el mARN que codifica una proteína funcional se produce en una hembra.

4. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que cada uno de los promotores primero y segundo es sustancialmente inactivo en ausencia del factor de transcripción de activación capaz de activar dicho promotor.

5. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno o ambos del primero y segundo gen letal es, independientemente, tTA (activador de la transcripción reprimible con tetraciclina) o una tTAV (variante del gen tTA).

6. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 5, en la que uno o ambos del primero y segundo gen letal dominantes es, independientemente, uno de *tTAV* (SEQ ID NO: 26), *tTAV2* (SEQ ID NO: 27) y *tTAV3* (SEQ. ID NO: 28).

7. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan, independientemente, de un intrón *tra*, un gen *dsx* o un gen *Actina-4*.

8. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan, independientemente, de un intrón *tra*.

-
9. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan de un Tephritid.
10. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en la que una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan de uno de los géneros *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Anastrepha* y *Rhagoletis*.
11. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en la que una o ambas de la primera y segunda secuencia de control de empalme se derivan de *Ceratitis capitata*.
12. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en la que una de la primera y segunda secuencias de control de empalme se deriva de *Ceratitis capitata* y la otra secuencia de control de empalme se deriva de una especie diferente.
13. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno o ambos del primero y segundo sistemas de expresión de génica además comprende un potenciador asociado con el promotor respectivo, y al menos uno de los factores de transcripción de activación actúa en el potenciador respectivo.
14. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 13, en la que el potenciador, o uno o ambos de los potenciadores, es un elemento *tetO* (operador de tetraciclina) que comprende una o más repeticiones de *tetO*.
15. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 14, en la que cada potenciador es, independientemente, *tetOx7*, *tetOx14* o *tetOx21*.
16. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno o ambos del primero y segundo promotores es un promotor embrionario.

17. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno o ambos de los promotores primero y segundo es un promotor mínimo.

18. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 16, en la que cada uno de los promotores primero y segundo es, independientemente, *Hsp70* (proteína de choque térmico 70) o *srya* (proteína del locus de serendipia alfa).

19. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 15-17, en la que uno de los promotores primero y segundo es *Hsp70* y el otro de los promotores primero y segundo es *srya*.

20. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que uno del primero y segundo sistemas de expresión génica comprende un tercer gen dominante letal y un tercer promotor operativamente unido al tercer gen letal dominante, en el que el factor de transcripción de activación capaz de activar el promotor de dicho sistema de expresión génica también es capaz de activar el tercer promotor.

21. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 20, dependiente de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en la que dicho sistema de expresión génica comprende además un potenciador asociado con el promotor de dicho sistema de expresión génica, y el tercer promotor está también asociado con dicho potenciador.

22. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 20 o 21, en la que el tercer gen letal dominante es *VP16* (proteína del virus del herpes simple *vmw65*) y el tercer promotor es *Hsp70* o *srya*.

23. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la secuencia de polinucleótidos comprende además un marcador fluorescente.

24. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con la reivindicación 23, en la que el marcador fluorescente es *DsRed2*.

25. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el primer gen letal dominante es tTAV (SEQ ID NO: 26), el primer factor de transcripción de activación es el producto del gen tTAV, el primer promotor es *Hsp70*, la secuencia de control es Cctra,

el segundo gen letal dominante es tTAV3 (SEQ ID NO: 28), el segundo factor de transcripción de activación es el producto génico tTAV3, el segundo promotor es *rya* y la segunda secuencia control de empalme es Bztra,

el primer sistema de expresión génica comprende además un primer potenciador asociado con el primer promotor, en el que el primer potenciador es tetOx7,

el segundo sistema de expresión génica comprende además un segundo potenciador asociado con el segundo promotor, en el que el segundo potenciador es tetOx14,

la secuencia de polinucleótidos comprende además un tercer gen letal dominante operativamente unido a un tercer promotor, estando asociado el tercer promotor al segundo potenciador, en el que el tercer gen dominante letal es *VP16* y el tercer promotor es *Hsp70*, en el que el segundo promotor está asociado con un extremo del segundo potenciador y el tercer promotor está asociado con el otro extremo del segundo potenciador,

la secuencia de polinucleótidos comprende además un primer marcador genético, que es *DsRed2*.

26. La secuencia de polinucleótidos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la secuencia de polinucleótidos comprende la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 1.

27. Un vector recombinante, que comprende la secuencia de polinucleótidos según se describe en cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

28. El vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 27, en el que el constructo comprende además, al menos cuatro repeticiones invertidas de transposón, formando al menos dos pares de repeticiones invertidas de transposón opuestas, en donde dicha secuencia de polinucleótidos está situada entre dos pares de repeticiones invertidas de transposón opuestas de tal manera que la escisión por una transposasa o transposasas de dichos pares, *in situ*, es efectiva para poder dejar dicha

secuencia de polinucleótidos integrada en el genoma del huésped, sin repeticiones invertidas del transposón flanqueante en el genoma del huésped.

29. El vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 28, en la que cada una de las repeticiones invertidas del transposón que delimitan dicha secuencia de polinucleótidos es una repetición invertida terminal mínima.

30. El vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 28 o 29, que tiene cuatro repeticiones invertidas de transposón.

31. El vector recombinante de acuerdo con la reivindicación 30, en la que las cuatro repeticiones invertidas de transposón forman un primero y un segundo par de repeticiones invertidas opuestas, en donde:

las cuatro repeticiones invertidas del transposón son repeticiones invertidas *piggyBac*,

el primer par consta de un extremo 3' *piggyBac* interno proximal de la secuencia de polinucleótidos y un extremo 5' *piggyBac* externo distal de la secuencia de polinucleótidos, y

el segundo par consiste en un extremo 5' *piggyBac* interno proximal de la secuencia de polinucleótidos y un extremo distal 3' *piggyBac* externo de la secuencia de polinucleótidos.

32. El polinucleótido de la reivindicación 31, en el que:

el extremo interno 3' *piggyBac* consiste en la secuencia de polinucleótidos representada por la SEQ ID NO: 32,

el extremo 5' *piggyBac* externo consiste en la secuencia de polinucleótidos representada por la SEQ ID NO: 30

el extremo 5' *piggyBac* interno consiste en la secuencia de polinucleótidos representada por la SEQ ID NO: 30, y

el extremo 3' *piggyBac* externo consiste en la secuencia de polinucleótidos representada por la SEQ ID NO: 31.

33. El vector recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27-32, que comprende además al menos un marcador genético entre las repeticiones invertidas de transposón de al menos un par de repeticiones invertidas de transposón opuestas.

34. Un método para detectar un insecto transformado que comprende el constructo genético de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27-33, que comprende las etapas de:

i) poner en contacto una muestra de ADN aislado de un insecto con un par de primers específico para el insecto transformado, en el que el primer primer en el par es específico para la secuencia de polinucleótidos del constructo genético del insecto y el segundo primer en el par es específico para una secuencia nucleótido genómico que flanquea la secuencia de polinucleótidos,

ii) amplificar la muestra de ADN, y

iii) detectar el ADN amplificado,

en el que el primer primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 6 y el segundo primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 7; o el primer primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 4 y el segundo primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 5; o el primer primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 10 y el segundo primer tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 11.

35. El método de acuerdo con la reivindicación 34, en el que la etapa i) comprende además poner en contacto la muestra de ADN con una sonda específica del producto de amplificación por PCR producido en la etapa ii), para la detección del producto de amplificación por PCR, en el que la sonda es una sonda doblemente etiquetada que comprende una molécula reportera y una molécula de desactivación fluorescente, y en el que la molécula reportera es liberada de la sonda por Taq polimerasa durante la amplificación por PCR, cuando dicha sonda se hibrida a dicho producto de amplificación por PCR, en el que la sonda tiene la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 12.

36. Un primer, que comprende la secuencia de nucleótidos representada por una de las SEQ ID NOs: 4, 5, 6, 7, 10 u 11.

37. Un par de primers, que comprenden las secuencias de nucleótidos representadas por las SEQ ID NOs: 10 y 11.

38. Una sonda, que comprende la secuencia de nucleótidos representada por la SEQ ID NO: 12.

39. Un método para controlar una población de insectos que comprende liberar un insecto que comprende el vector recombinante de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 28-33.

40. El método de la reivindicación 39, en el que el insecto es *Ceratitis capitata*.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2016/0005027

Recibo: 18-45834

Fecha: 20/06/2018

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO

CC: 66.783.790

Pago PSE No: 191052

CUS: 346474663

Patente PCT

SISTEMA DE EXPRESIÓN GÉNICA

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-01	Solicitud examen de patentabilidad Patente de Invención (DESCUENTO INTERNET	1	\$ 1,053,500	\$ 1,053,500
TOTAL					\$ 1,053,500

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