

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un método para manufacturar un anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno, acoplado a una molécula de PEG, que comprende un residuo de cisteína en la región bisagra, caracterizado por que comprende:
 - a) cultivar una célula hospedera de *Escherichia coli* bajo condiciones tales que exprese el anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno en el periplasma,
 - b) someter las células hospederas a un tratamiento con calor,
 - c) purificar dicho anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno a partir de una mezcla que contiene las células hospederas y otros contaminantes, en donde dicha purificación comprende una etapa de cromatografía que sirve de etapa de captura del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno, y una etapa subsecuente de cromatografía sin afinidad y en donde un agente reductor se agrega a dicha mezcla y el anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno se mantiene en presencia de dicho agente reductor a partir de la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía,
 - d) agregar PEG al anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno,
 - e) acoplar el anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno a PEG mediante un enlace covalente al residuo de cisteína de la región bisagra del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno, y
 - f) recuperar dicho anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno acoplado a PEG,en donde el agente reductor es 0.5 mM a 2 mM de glutatona.
2. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado por que el agente reductor es removido del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno la recuperado en el paso c).
3. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes , caracterizado por que dicho fragmento de unión a antígeno es un Fab'.

4. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que dicha molécula de PEG es PEG-maleimida 40,000.
5. El método de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la purificación del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno de la etapa c) comprende una primera etapa de cromatografía que es una cromatografía de intercambio catiónico a partir de la cual un primer eluato que contiene el anticuerpo o fragmento del mismo de unión al antígeno es eluido, y una segunda etapa de cromatografía que es una cromatografía de intercambio aniónico para producir un flujo continuo que contiene el anticuerpo o fragmento del mismo de unión al antígeno.

Señora Directora

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2017/0006157

Asunto: Solicitud de patente para: MÉTODO PARA MANUFACTURAR UN ANTICUERPO O FRAGMENTO DEL MISMO DE UNIÓN A ANTIGENO ACOPLADO A PEG

Solicitante: UCB BIOPHARMA SPRL

Fecha de solicitud: 21 de junio de 2017

RESPUESTA A TERCER 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 No. 1744, notificado por fijación en lista el 29 de marzo de 2019.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aportó un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 5 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

- Se incorporaron las características técnicas de las antiguas Reivindicaciones 2, 4 y 6 en la Reivindicación 1.
- Se eliminó de la Reivindicación 1 la expresión “al menos”.
- Se delimitó la Reivindicación 1, de manera tal que ésta indica que la célula hospedera en la cual se expresa el anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno es *Escherichia coli*, en cuyo periplasma se expresa la célula de interés, de acuerdo con las enseñanzas de la página 2 (líneas 14 a 17) del Capítulo Descriptivo. Así mismo, se indicó que la etapa de purificación comprende una etapa de cromatografía que sirve de etapa de captura de proteína y una etapa subsecuente de cromatografía sin afinidad, en donde un agente reductor se agrega a la mezcla,

INNOVACIÓN PARA LOS NEGOCIOS

de conformidad con lo revelado en el Capítulo Descriptivo en las páginas 8 (líneas 12 y 13) y 10 (líneas 1 a 11).

- Las reivindicaciones correspondientes, así como sus relaciones de dependencia, fueron reenumeradas de acuerdo con los cambios anteriormente mencionados.

Me permito resaltar que estas modificaciones se ajustan completamente a lo establecido por el Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000, ya que no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

A pesar de eliminar materia del Capítulo 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 Y CONCISIÓN

En primer lugar, considero como superadas las objeciones en cuanto al preámbulo de la Reivindicación 1, así como la expresión “*al menos*” en la misma y la objeción referente a la relación de dependencia de la antigua Reivindicación 2, toda vez que como lo detalle en el numeral I del presente memorial, el preámbulo de la Reivindicación 1 ha sido modificado para indicar que el objeto de la solicitud corresponde a un “*método para manufacturar un anticuerpo, o fragmentos del mismo de unión al antígeno, acoplado a PEG que comprende un residuo de cisteína en la región bisagra*”, refiriendo adecuadamente la materia reclamada. Por otro lado, la expresión “*al menos*” fue eliminada del Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto y la antigua Reivindicación 2 incluida dentro de la presente Reivindicación 1.

Adicionalmente, en cuanto al preámbulo de la Reivindicación 1, señalo que a partir de las delimitaciones realizadas al mismo, así como las condiciones y etapas definidas como características esenciales del método reclamado, no sería necesario dirigir dicha reivindicación exclusivamente a un método para manufacturar un fragmenta Fab’ como lo sugiere el Examinador, dado que esto implicaría una limitación excesiva del alcance de la reivindicación, teniendo en cuenta que los rangos de concentración del agente reductor fueron delimitados y características técnicas esenciales adicionales fueron proveídas.

Por otro lado, en cuanto a la objeción concerniente a la falta de concisión de la Reivindicación 1, resalto que las modificaciones señaladas en la Reivindicación 1 delimitan adecuadamente el objeto de la presente solicitud, toda vez que se define que en el periplasma de *E. coli* se expresa el anticuerpo o fragmento del mismo de unión al antígeno. Así mismo, se indicó que el paso de purificación comprende una etapa de cromatografía que sirve como etapa de captura de proteína y una etapa subsecuente de cromatografía sin afinidad.

De acuerdo a lo indicado en las páginas 8 (líneas 12 y 13) y 10 (líneas 1 a 11) del Capítulo Reivindicatorio, señalo que restringir el tipo de cromatografía empleado delimitaría de manera excesiva el alcance de la reivindicación independiente, permitiendo que terceros usen impunemente el concepto inventivo de la presente solicitud, puesto que una persona normalmente versada en la materia, tendría una expectativa razonable de lograr una captura de la proteína de interés y posterior purificación de los residuos celulares empleando un tipo de cromatografía diferente de una primera cromatografía de intercambio catiónico y una segunda etapa de cromatografía de intercambio aniónico. Por lo tanto, definir el tipo de cromatografía empleado de acuerdo a lo divulgado en la sección de ejemplos no permitiría a la Solicitante reclamar la totalidad del concepto inventivo desarrollado, a la cual tiene derecho, teniendo en cuenta que la funcionalidad de las etapas de cromatografía fue definida y que el experto en la técnica podría emplear cualquier otro tipo de cromatografía (como las mencionadas en las páginas 8 y 10 de la presente solicitud) obteniendo un resultado similar.

Así mismo, deseo resaltar que los Ejemplos 2 y 4 de la presente solicitud se evidencia que se requirieron 3 columnas (Capto S, Capto Q and PD10 de desalación) para purificar la proteína heteróloga de interés, mientras que en los Ejemplos 3 y 5 fueron necesarios solo dos pasos de cromatografía (Capto S, Capto Q) para obtener el eluato proteico evaluado. Lo anterior se debe a que la separación cromatográfica depende de interacciones derivadas de la solubilidad, carga, adsorción superficial y velocidad de elución del soluto, así como de la longitud y tipo de columna empleada o del tiempo de retención conferido por la misma, lo cual induce variabilidad en el número de cromatografías requeridas para purificar una muestra, en función además de la naturaleza del soluto, el tipo de solvente empleado y el origen de la muestra tratada. Con base en todo lo anterior, señalo que fijar un valor en esta característica se constituiría en una limitación injustificada del alcance de

la invención, dejando por fuera del alcance de la invención realizaciones que comparten el mismo concepto inventivo.

Por otro lado, tanto en el preámbulo como en el paso d) del método reclamado, se señaló que la molécula de polietilenglicol (PEG) se acopla al anticuerpo mediante un enlace covalente con la cisteína presente en la región bisagra de la proteína de interés. Así mismo, se definió la concentración específica del agente reductor empleado. Con base en todo lo anterior, señalo que la materia reclamada está definida en términos de sus características técnicas esenciales, es decir indicando las etapas y condiciones específicas que permiten a la persona normalmente versada en la materia la implementación del método reclamado, razón por la cual amablemente solicito al Examinador considerar la objeción aquí discutida como superada.

En conclusión, considero que el Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto cumple con todos los requisitos de claridad y concisión, ajustándose así a los lineamientos del Artículo 30 de la Decisión 486, ya que cualquier persona del oficio normalmente versada en la materia está en completa capacidad de reproducir la invención sin ambigüedad alguna.

III. ESTADO DE LA TÉCNICA

El Examinador indica que los siguientes documentos son relevantes para la patentabilidad de las Reivindicaciones 1 a 13 de la presente solicitud:

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación
D2	WO2008076933	<i>"Long acting proteins and peptides and methods of making and using the same"</i> ¹	26 de junio de 2008
D4	WO2007003898	<i>"Process for attaching effector molecules to proteins"</i> ²	11 de enero de 2007

IV. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

El Examinador señala que la invención divulgada en D4 es el arte previo más cercano al objeto de la presente solicitud, considerando que revela un método para manufacturar un

¹ <https://patents.google.com/patent/WO2008076933A2/en?q=WO2008076933>

² <https://patents.google.com/patent/WO2007003898A1/en?q=WO2007003898>

anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, acoplado a una molécula de PEG caracterizado por unir selectivamente una o más moléculas efectoras a una o más cisteínas en una proteína. El método divulgado en D4 emplea una etapa de activación de una o más cisteínas mediante diafiltración contra un agente reductor de monotiol tal como glutatona o un agente reductor de múltitol. Adicionalmente, el Examinador indica que la principal diferencia entre ambas invenciones es que, en la presente solicitud, durante la etapa de purificación de la proteína de interés, se agrega glutatona, como agente reductor desde la primera etapa de cromatografía hasta la última etapa de cromatografía, y, señala que el efecto técnico de dicha diferencia es la optimización del método de manufactura de la proteína.

Por otro lado, el Examinador indica que dicha característica diferencial ya estaría divulgada en D2, de acuerdo con las enseñanzas de la página 14 (líneas 29 a 33), en donde se indica que una de las ventajas del método divulgado en el documento D2 consiste en que a lo largo de la etapa de purificación de la proteína se puede mantener presente el agente reductor, sin que ocurra una inactivación de la molécula de PEG, puesto que el agente y concentración empleados no inactivan el grupo tiol libre en la cisteína que reacciona con la molécula de PEG. Basado en lo anterior, el Examinador indica que las características técnicas de la presente invención se encuentran divulgadas en el arte previo y podrían haber sido fácilmente inferidas por una persona normalmente versada en la materia a la luz de las enseñanzas de los documentos citados.

Respecto de lo anterior, deseo señalar que si bien D2 establece que según el método de dicha invención las proteínas no necesariamente tienen que ser purificadas antes de una modificación adicional con un PEG reactivo con tiol, dado que el agente reductor no desactiva el PEG ni interfiere con la modificación de la proteína, deseo resaltar que el Ejemplo 3 de dicho documento revela que el agente reductor empleado es tris (2-carboxietil) fosfina (TCEP), y respecto de emplear agentes reductores diferentes a TCEP indica lo siguiente:

"Alternativamente, otros agentes reductores (cisteína, ditiotreitól, cisteamina, glutatión reducido, beta mercaptoetanol y compuestos relacionados) pueden incluirse en los tampones de la columna y luego eliminarse mediante diálisis o cromatografía antes de agregar el reactivo PEG. Si un agente reductor como la

cisteína o cisteamina, ditiotreitól, glutatión reducido, beta mercaptoetanol o un ditiol (por ejemplo, cistina, glutatión oxidado, cistamina) que es capaz de formar un disulfuro mixto con el cisteínas libres en IFN-Dis es utilizado en los tampones de columna o soluciones de replegamiento y renaturalización, se requerirá un paso de reducción adicional antes de la PEGilación.” - D2, página 46 (líneas 6 a 11).

El párrafo anterior resalta que, de acuerdo con las enseñanzas de D2, si se emplea un agente reductor diferente de TCEP, por ejemplo, glutatión (como ocurre en la presente invención), se requeriría un paso de reducción adicional para obtener grupos tiol disponibles para reacciones posteriores de acoplamiento. Por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no se vería motivada a emplear un agente reductor diferente de TCEP para obtener residuos de tiol libres en la proteína purificada que reaccionen con PEG y en este sentido, dichas enseñanzas disuadirían a la persona versada en la materia de emplear glutatión como agente reductor en un método de manufactura de proteínas que no implemente un paso de activación de cisteínas posterior a la etapa de purificación. Por lo tanto, la presente invención supera un prejuicio técnico en el campo de la invención, considerando que emplea glutatión como agente reductor, sin requerir etapas adicionales dirigidas a la activación de cisteínas, lo cual en sí mismo conlleva altura inventiva. Lo anterior resalta que las características técnicas específicas definidas en el Capítulo Reivindicatorio de la presente invención, es decir, el rango de concentración particular, así como las condiciones específicas del método definido en la presente invención, se revisten de nivel inventivo dado que implican ir en contra de las enseñanzas del arte previo citado y además permiten superar un prejuicio técnico, puesto que emplean un agente reductor en condiciones tales que no denaturan los enlaces que confieren la estructura tridimensional de la proteína, sino que actúan activando únicamente el residuo tiol de la cisteína que reaccionará con la molécula de PEG.

Adicionalmente, deseo señalar que, en la presente invención las proteínas se producen en células de *E. coli* en condiciones tales que la proteína es expresada en el periplasma y las células, después de la extracción, son sometidas a una etapa de tratamiento térmico, la cual permite obtener una muestra de proteínas solubles plegadas y ensambladas correctamente, facilitando la eliminación de otros materiales relacionados con residuos de anticuerpos.

De esta manera, las condiciones en las cuales se encuentra la proteína de interés de la presente invención difieren significativamente de lo descrito en D2, considerando que éste se refiere a un método para el replegamiento de proteínas. En tal caso, la proteína de interés se expresa en forma desnaturalizada y se acumula en cuerpos de inclusión en el citoplasma bacteriano. Los cuerpos de inclusión se aíslan y luego se solubilizan utilizando agentes desnaturalizantes. Este paso garantiza una configuración linearizada de la proteína de interés, es decir, en su estructura primaria. Después de este paso, la proteína se repliega en condiciones reductivas.

Por lo tanto, señalo que las enseñanzas de D2 no son relevantes respecto del método divulgado en la presente invención, teniendo en cuenta que la conformación de la proteína en D2 se encuentra linearizada, y por tanto las condiciones reductivas reveladas en dicho documento pretenden devolver la proteína a su conformación tridimensional, por el contrario, en la presente invención dicha estructura no es alterada y en este sentido, las condiciones reductivas proveídas son específicas para garantizar que haya un residuo tiol libre en la cisteína de la región bisagra, de manera que esté activa para el acoplamiento con PEG. Adicionalmente, aún si la persona normalmente versada en la materia tomara en cuenta las enseñanzas de D2, ésta se vería motivada a no emplear un agente reductor glutatona oxidada puesto que como lo indiqué anteriormente, D2 señala que dicho agente reductor, entre otros, promovería la formación de enlaces en el grupo tiol de la cisteína en la región bisagra del anticuerpo, inactivando la misma, y por tanto, requeriría llevar a cabo una etapa reductiva adicional.

Así las cosas, indico que el Examinador falla en presentar un segundo documento cuyas enseñanzas en combinación con lo divulgado en D4 indiquen de manera directa o sugieran el objeto de la invención, considerando que elucidar el método de la presente invención implicaría ir en contra de las enseñanzas de D2. Teniendo en cuenta lo anterior, deseo llamar la atención del Examinador sobre las directrices de la *Guía Colombiana para el Examen de Solicitudes de Patente* en donde se establece que un documento carece de nivel inventivo cuando:

“(...) en el estado de la técnica en su conjunto hay un segundo documento que contiene una enseñanza que indicaría (no sólo que podría indicar, sino que indicaría) a la persona medianamente versada en la materia, enfrentada al

problema técnico, cómo modificar o adaptar el estado de la técnica más cercano para resolver el problema, de la forma reivindicada, sin realizar una actividad inventiva”. – GCESP, sección 2.13.5.1.³

Con base en lo anterior, indico que la presente invención se reviste de altura inventiva en vista del arte previo citado, teniendo en cuenta que el segundo documento citado por el Examinador no motivaría a una persona normalmente versada en la materia a emplear glutatona en las concentraciones definidas en la presente Reivindicación 1, así como tampoco a elucidar un método con las etapas y condiciones particulares presentadas en esta solicitud. Por el contrario, las enseñanzas de D2 indican que al emplear un agente como la glutatona, se hace necesaria una etapa adicional de activación de cisteínas para garantizar que la proteína de interés tenga residuos tiol libres, disponibles para el acoplamiento a una segunda molécula.

Por otro lado, en cuanto a D4 indico que dicho documento requiere primero obtener un fragmento Fab’ purificado, para después llevar a cabo una etapa especial para activar las cisteínas presentes en la proteína por diafiltración de la misma en contra de los efectos del agente reductor, diferencia que no es subsanada por D2 como se discutió anteriormente. Por el contrario, el método de la presente invención permite la purificación del anticuerpo o fragmento del mismo de unión a antígeno, de manera tal que la molécula es recuperada en una conformación que permita una reacción inmediata con PEG, lo cual implica que las cisteínas están activas y no requieren una etapa adicional de activación, gracias a la presencia controlada de un agente reductor durante el proceso de purificación.

Con base en todo lo anterior, enfatizo que las enseñanzas del arte previo no son suficientes para inferir de manera obvia la materia reclamada en la presente solicitud, toda vez que lo divulgado en D4 y en D2, ya sea por separado o en conjunto, no permitiría que la persona normalmente versada en la materia llegara al método reclamado en la presente invención, puesto que a partir de los documentos citados la persona versada no tendría una expectativa razonable de obtener un método de manufactura de proteínas en

³ Superintendencia de Industria y Comercio (2014) “GUÍA PARA EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTE DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD”. Sección 2.13.5.1, p. 131. Bogotá, Colombia.

el cual no sea necesario emplear un paso adicional de activación de cisteínas, cuando el agente reductor es glutatona.

V. PETICIÓN

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

VI. ENTREVISTA CON EXAMINADOR

Además de este memorial de respuesta, he solicitado una entrevista en las oficinas de la Dirección de Nuevas Creaciones con el fin de discutir con el Examinador temas que Considero de importancia para el trámite. Atentamente solicito no se resuelva este expediente hasta después de llevar a cabo dicha reunión.

VII. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 5 reivindicaciones.

Señora Directora,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908