

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un producto de tabaco con niveles reducidos de nitrosamina específica del tabaco (TSNA) generado a partir de una planta de tabaco modificada que comprende:
una enzima nitrato reductasa desregulada que tiene la secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 4 o fragmentos de la misma, la cual comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 523 de dicha secuencia.
2. Un producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 1, en donde en donde la posición 523 del aminoácido de secuencia SEQ ID NO: 4 se sustituye por ácido aspártico.
3. Un producto de tabaco de conformidad con las Reivindicaciones 1 o 2, donde la enzima nitrato reductasa desregulada es una enzima nitrato reductasa que está activa constitutivamente.
4. Un producto de tabaco de conformidad con las Reivindicaciones 1, 2 o 3, donde el producto de tabaco comprende material de planta de una planta de tabaco de la especie *Nicotiana tabacum*.
5. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el polinucleótido que codifica la enzima nitrato reductasa desregulada es un polinucleótido heterólogo que codifica un polipéptido de nitrato reductasa modificada.
6. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 4, donde el polinucleótido heterólogo está enlazado a un promotor que no está asociado de manera natural con un gen de nitrato reductasa endógena.
7. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 4 o 5, donde el promotor es el promotor del virus del mosaico del coliflor 35S.

8. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el polinucleótido que codifica una enzima nitrato reductasa desregulada comprende una secuencia de polinucleótido SED ID NO. 5.
9. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4, donde el polinucleótido que codifica la enzima nitrato reductasa desregulada es un gen de nitrato reductasa endógeno que se modificó por un sistema de edición de genomas o por un mutagen.
10. Un producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 9, donde el sistema de edición de genomas comprende un sistema basado en CRISPR/Cas diseñado, una nucleasa efectora similar al activador de la transcripción diseñada, una nucleasa de dedos de zinc diseñada o una meganucleasa diseñada.
11. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que tiene niveles reducidos de nitrosamina específica del tabaco (TSNA) en comparación con un producto de tabaco derivado de una planta de tabaco de control en la que la enzima nitrato reductasa no se desreguló.
12. El producto de tabaco de la Reivindicación 11, donde el nivel de al menos una TSNA en el producto de tabaco es menor en comparación con un nivel de control para al menos una TSNA, donde al menos una TSNA se selecciona del grupo que consiste en N-nitrosornicotina (NNN), 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK), N-nitrosoanabasina (NAB), N-nitrosoanatabina (NAT) y combinaciones de estas.
13. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 11 a 12, donde los niveles totales de TSNA se reducen en al menos 50%.
14. Un producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 11, donde los niveles de TSNA se miden en el humo obtenido de la combustión de hojas de la planta de tabaco.
15. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 14, donde los niveles totales de TSNA se reducen en al menos 70%.

16. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 15, donde el nivel de NNN se reduce en 90%
17. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 16, donde el nivel de NNK se reduce en 66%.
18. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 17, donde el nivel de NAB se reduce en 92%.
19. El producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 12 a 18, donde el nivel de NAT se reduce en 88%.
20. Un producto de tabaco de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la planta de tabaco comprende además un gen de la vía de nor nicotina modificado.
21. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 20, donde el gen de la vía de nor nicotina modificado comprende un gen de nicotina desmetilasa modificado o un gen citocromo P450.
22. Un producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 20 o 21, donde la planta de tabaco comprende un gen CYP82E4 modificado o un gen CYP82E10 modificado.
23. El producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 22, donde el gen CYP82E4 modificado o gen CYP82E10 modificado están inactivados.
24. Un método para producir un producto de tabaco donde los niveles de TSNA medidos en el humo obtenido de la combustión de hojas de una planta de tabaco modificada se reducen en comparación con los niveles de TSNA medidos en el humo obtenido de la combustión de una planta de tabaco no modificada, que comprende:
 - (a) modificar una planta de tabaco para que comprenda:
 - una enzima nitrato reductasa desregulada que tiene la secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO: 4 o fragmentos de la misma,

la cual comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 523 de dicha secuencia.

- (b) cosechar hojas de tabaco de dicha planta de tabaco modificada; y
- (c) producir un producto de tabaco a partir de las hojas cosechadas.

25. El método de acuerdo con la Reivindicación 24, en donde la posición 523 del aminoácido de secuencia SEQ ID NO: 4 se sustituye por ácido aspártico.

Señor Director

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2017/0004076

Asunto: Solicitud de patente para: REDUCCIÓN DE NITROSAMINAS ESPECÍFICAS DEL TABACO MEDIANTE LA ALTERACIÓN DE LA VÍA DE ASIMILACIÓN DE NITRATO

Solicitante: NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY; PHILIP MORRIS PRODUCTS S.A.

Fecha de solicitud: 26 de abril de 2017

RESPUESTA A PRIMER 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. 6986, notificado por fijación en lista el 07 de junio de 2018, estando en el plazo establecido para esto toda vez que solicité prórroga el 04 de septiembre de 2018.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aporté un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 25 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

- La antigua Reivindicación 9 ha sido eliminada.
- Los términos “*preferiblemente*”, “*opcionalmente*” y “*aproximadamente*” fueron completamente eliminados del Capítulo Reivindicatorio adjunto. Las modalidades preferidas mencionadas haciendo uso de dichos términos fueron incluidas en reivindicaciones dependientes.

- La expresión “(...) *que se genera a partir de una planta de tabaco, dicha planta de tabaco se modifica para comprender (...)*” fue eliminada del preámbulo de la Reivindicación 1 y sustituida por la expresión “(...) *generada a partir de una planta de tabaco modificada, que comprende: (...)*”.
- Se eliminaron las características técnicas (i) – (iv) de las Reivindicaciones 1 y 24 (antigua Reivindicación 16).
- Se incluyeron las nueva Reivindicaciones 2 y 25 las cuales comprenden las características técnicas esenciales mencionadas en las antiguas Reivindicaciones 1 (b) y 16 (b).
- 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 CLARIDAD Y CONCISIÓN

El Examinador indica que la materia reclamada en las Reivindicaciones 1 y 24 (antigua Reivindicación 16) carece de claridad y concisión.

En vista de las modificaciones detalladas en el numeral I de este memorial, considero como superadas las objeciones referentes a la falta de claridad y concisión de las Reivindicaciones 1 y 24, toda vez que los literales (i) a (iv) fueron eliminados de la Reivindicación 1 y de la etapa (a) de la Reivindicación 24, superando así las consecutivas objeciones respecto de los términos empleados en dichos literales. De igual manera el preámbulo y las características técnicas esenciales de dichas reivindicaciones fueron redactadas de manera tal que las mismas resulten claras para una persona normalmente versada en la materia. De acuerdo con lo anterior, el experto apreciaría que la

Reivindicación 1, reclama un producto de tabaco generado a partir de una planta de tabaco modificada, la cual comprende una enzima reductasa desregulada con una secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 4 que presenta una sustitución en la posición 523 de la misma. Asimismo, a partir de las modificaciones realizadas a la Reivindicación 24, resulta claro que la materia reclamada comprende un método para producir un producto de tabaco, caracterizado por las etapas de: modificar una planta de manera que comprenda una enzima nitrato reductasa desregulada de secuencia de aminoácidos como se indica en SEQ ID NO. 4 con una sustitución en la posición 523 de dicha secuencia; cosechar las hojas de dicha planta y producir un producto de tabaco a partir de las hojas colectadas.

El Examinador asegura que la Reivindicación 3 (antigua Reivindicación 2) no es clara debido a que emplea la expresión “*constitutivamente activa*” respecto de la enzima nitrato reductasa desregulada.

Sobre este particular, respetuosamente discrepo de la posición del Examinador teniendo en cuenta que una persona normalmente versada en la materia conoce que una enzima constitutivamente activa es aquella que presenta niveles de actividad robustos que no dependen de otros factores de regulación para ser alcanzados, los cuales se pueden generar a partir de mecanismos espontáneos de activación como la autofosforilación¹. De acuerdo con lo anterior, considero que la materia reclamada en la Reivindicación 3, es clara para una persona normalmente versada en la materia.

Asimismo, el Examinador señala que la Reivindicación 4 (antigua Reivindicación 3) no es clara ni concisa toda vez que menciona la expresión “*donde el producto de tabaco comprende material de planta de una planta de tabaco de la especie Nicotiana tabacum*”. El Examinador señala que el Capítulo Descriptivo hace referencia específica a DH98-325-6#775 la cual presenta una sustitución W329Stop en la secuencia de aminoácidos de la enzima CYP82E4.

Respecto de objeción arriba detallada, deseo llamar la atención del Examinador sobre las enseñanzas de la página 94, líneas 1 a 13, las cuales señalan:

¹ Olsen, B. B., Guerra, B., Niefind, K., & Issinger, O.-G. (2010). Structural Basis of the Constitutive Activity of Protein Kinase CK2. Constitutive Activity in Receptors and Other Proteins, Part A, p. 515–529. doi:10.1016/b978-0-12-381298-8.00025-3

*“DH98-325-6#775 representa una selección de una población de Burley mutagenizada con etilmetano sulfonato (EMS) que contiene una mutación de inactivación en CYP83E4 (...) La mutación de inactivación de CYP82E4 en DH98-325-6#775 evita la conversión de nicotina y **esta línea se seleccionó para evitar posibles complicaciones que podrían haber surgido al interpretar los datos de TSNA entre los diversos materiales transgénicos generados**, lo que probablemente se hubiera vuelto un problema si se hubiera usado una planta de cultivo Burley estándar (debido a la gran variabilidad en los niveles de nornicotina que se esperaría observar usando un fondo de Burley normal).”*

De acuerdo con lo anterior, resulta claro que dicha línea de planta comprende una mutación de tipo *knock out*, la cual es empleada para minimizar las fuentes de error en la medición de TSNA requeridas para validar adecuadamente los efectos técnicos de la presente invención. Por consiguiente, teniendo en cuenta que un producto de tabaco de conformidad con la Reivindicación 4 tiene debido soporte en la página 3, líneas 15 – 17 del Capítulo Descriptivo, así como a lo largo del mismo; amablemente solicito considerar como superada la objeción referida, toda vez que la referencia puntual a la línea DH98-325-6#775 hace parte de un mecanismo de validación del efecto técnico de la presente invención, más no limita de ninguna manera el concepto inventivo de la presente solicitud, el cual abarca un producto de tabaco que comprende material vegetal de una planta de tabaco de la especie *N. tabacum*, como se describe en la Reivindicación 4.

Adicionalmente, el Examinador indica que la Reivindicación 5 (antigua Reivindicación 4) no es clara ni concisa considerando que esta señala que el polinucleótido que codifica la nitrato reductasa desregulada es un polinucleótido heterólogo, lo cual abarcaría en el criterio del Examinador, un número de posibilidades aún no desarrolladas por el Examinador.

A este respecto, señalo que dicha reivindicación es dependiente de la Reivindicación 1, la cual estipula que la secuencia de aminoácidos de la nitrato reductasa posee una sustitución S523D, por consiguiente, considerando que una reivindicación dependiente incluye las características técnicas de las reivindicaciones de las cuales depende, una persona normalmente versada en la materia apreciaría que el polinucleótido heterólogo

codificaría un aminoácido en el cual la posición equivalente a la posición 523 de la SEQ ID NO: 4 correspondería a un residuo diferente a serina (Reivindicación 1), o a un residuo de ácido aspártico (Reivindicación 2). Lo anterior resulta claro teniendo en cuenta que dicha reivindicación aclara: “(...) donde el polinucleótido que codifica la enzima nitrato reductasa desregulada es un polinucleótido heterólogo que codifica un polipéptido de nitrato reductasa modificada”. De esta manera, la Reivindicación 5, corresponde a una generalización razonable de la materia reclamada, teniendo en cuenta que es la sustitución S523D la característica técnica que confiere el efecto técnico sorprendente de la invención. Por lo tanto, definir una secuencia particular de polipéptido heterólogo limitaría de manera injustificada el alcance de la invención, considerando que no es la secuencia del polinucleótido heterólogo que codifica para la enzima lo que confiere el efecto técnico a la invención, sino la sustitución puntual previamente definida.

Por otro lado, el Examinador señala que las Reivindicaciones 9 y 10 (antiguas Reivindicaciones 6 y 10) carecen de claridad y sustento, en cuanto señala que abarcan posibilidades aún no exploradas por la Solicitante. Además, indica que las características definidas en dichas reivindicaciones no corresponden a características técnicas de la invención.

En relación con este señalamiento, me permito indicar que la materia reclamada en las reivindicaciones mencionadas cuenta con debido soporte a lo largo del Capítulo Descriptivo tal y como se evidencia en las páginas 3 y 4 (líneas 23 – 25 y 1 – 3). De esta manera, teniendo en cuenta que el Artículo 30 de la Decisión 486 señala que la materia reclamada debe tener debido soporte en el Capítulo Descriptivo de la solicitud, considero como superada la objeción señalada, en vista de que la legislación vigente no establece como requerimiento legal la presentación de evidencia experimental respecto de cada una de las realizaciones abarcadas bajo el alcance de una solicitud. En este sentido señalo que la posición del Examinador respecto de la falta de soporte de las Reivindicaciones 9 y 10, carece de fundamento en la Decisión 486 de 2000, ya que como se mencionó anteriormente, la materia reclamada cuenta con debido soporte en el Capítulo Descriptivo.

Adicionalmente, me permito indicar que modificaciones al polinucleótido que codifica la nitrato reductasa desregulada realizadas empleando CRISPR/Cas, una nucleasa de dedos

de zinc o cualquier otra tecnología dejarían una “marca” en el material vegetal de la planta modificada, como por ejemplo ácidos nucleicos expresando una enzima Cas, vectores expresando ARNs guía CRISPR u otros componentes, afectando las características del material vegetal que compone el producto de tabaco.

Asimismo, el Examinador indica que las Reivindicaciones 21 – 23 (antiguas Reivindicaciones 14 y 15) no son claras y carecen de sustento en el Capítulo Descriptivo, argumentando que no se evidencia el desarrollo de ninguna modificación en “*un gen de nicotina desmetilasa modificado o un gen citocromo P450*” o “*un gen CYP82E4 modificado o un gen CYP82E10 modificado*”.

Una vez más enfatizo que la legislación vigente no establece como requerimiento legal la presentación de evidencia experimental respecto de cada una de las realizaciones abarcadas bajo el alcance de una solicitud. En vista de lo anterior y teniendo en cuenta que la materia reclamada en las Reivindicaciones 21 – 23 tiene debido soporte en las páginas 4, 60 y 61 (líneas 19 – 23, 23 – 25, 1 – 2) entre otros, del Capítulo Descriptivo adjunto a este memorial; considero como superada la objeción arriba mencionada.

El Examinador señala que la Reivindicación 10 (antigua Reivindicación 7) no es clara debido a que depende de una reivindicación posterior a la misma.

Considero como superada dicha objeción, teniendo en cuenta que la dependencia de la Reivindicación 10 fue corregida.

Con respecto a las Reivindicaciones 11 – 19 (antiguas Reivindicaciones 8, 10 – 13), el Examinador señala que estas no son claras toda vez que comprenden resultados a alcanzar, los cuales no son considerados como una definición válida del producto.

Sobre este particular, me permito indicar que la *Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad* establece claramente que este tipo de lenguaje es aceptable si la invención es también definida por sus características estructurales². Las reivindicaciones citadas dependen de las Reivindicaciones 1 a 10, las cuales definen, el

² Superintendencia de Industria y Comercio (2014) *Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad*. (Sección 2.6.5.8., pp. 79).

producto de tabaco reclamado en las Reivindicaciones 11 a 19. Con base en lo anterior, una persona normalmente versada en la materia apreciaría que la materia comprendida en las Reivindicaciones 11 – 19, está debidamente definida en reivindicaciones precedentes, y por tanto incluirían las características estructurales previamente dichas, teniendo en cuenta que el producto de tabaco de acuerdo con las Reivindicaciones 11 – 19, se lograría únicamente mediante la realización de la materia comprendida en las reivindicaciones precedentes. De esta manera, las expresiones señaladas por el Examinador, contribuyen a delimitar y clarificar la materia reclamada.

Por último, el Examinador indica que la antigua Reivindicación 9 carece de claridad, dado que no establece características técnicas propias de la materia reclamada.

Respecto de lo anterior, considero dicha objeción como superada teniendo en cuenta que dicha objeción fue completamente eliminada del Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto, tal y como lo detalle en el numeral I de este memorial.

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 – 25 de la presente solicitud:

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación	Reivindicaciones Afectadas
D1	WO2013140155	<i>“Transgenic plants with altered nitrate levels in leaves”</i>	26 Septiembre 2013	Nivel inventivo: 1 - 16
D2	Art. 1	<i>“Posttranslational regulation of nitrate reductase strongly affects the levels of free amino acids and nitrate, whereas transcriptional regulation has only minor influence”</i>	Marzo 2006	Nivel inventivo: 1 - 16

IV. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

Finalmente, el Examinador objeta la altura inventiva del producto reclamado en las Reivindicaciones 1 – 23 (antiguas Reivindicaciones 1 – 15), así como del proceso de acuerdo con las Reivindicaciones 24 – 25 (antiguas Reivindicación 16), toda vez que según su criterio resultaría evidente para la persona versada en la materia incluir la nitrato reductasa modificada de D2 en el producto divulgado en D1. Igualmente argumenta que las enseñanzas del arte previo sugerirían de manera obvia y evidente emplear las plantas de tabaco modificadas con la enzima nitrato reductasa descritas en D2 en el procedimiento divulgado en D1.

Asimismo, el Examinador asegura que las reivindicaciones dependientes no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente puedan conferir nivel inventivo a la materia reclamada en la presente solicitud.

En primer lugar, me permito indicar que la estrategia empleada en D1 para obtener un producto con niveles reducidos de nitrato y nitrosamina específica del tabaco (TSNA) es significativamente diferente a la empleada en la presente solicitud. D1 emplea un constructo genético que comprende un polipéptido que codifica proteínas con actividad transportadora de nitrato, las cuales median el influjo y el flujo de salida de NO⁻³ a través de la membrana plasmática en las raíces, así como la carga y descarga de esta molécula en el xilema³. Por otro lado, el núcleo de la presente invención describe un polipéptido de

³ Forde, B. G. (2000). Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1465(1-2), 219-235.

nitrato reductasa que cataliza la conversión de nitrato en nitrito, como se destaca a continuación:

*"El polipéptido de nitrato reductasa desregulada puede ser un polipéptido de nitrato reductasa con una sustitución de aminoácidos en la posición que corresponde a la posición 523 de la sec. con la SEQ ID NO: 4. Mutar el residuo de serina en un sitio de fosforilación putativa (véase Figura 2), eliminando así los controles de regulación postraducciona l mediante luz y oscuridad, aumenta y mantiene altos niveles de forma activa de nitrato reductasa en plantas transgénicas para **facilitar la asimiliación de nitrato.**" (Capítulo Descriptivo, páginas 39 y 40, líneas 22 – 24 y 1 – 3 respectivamente)*

Lo anterior destaca claramente que el núcleo de la invención divulgada en D1 difiere significativamente de la actividad resultante de la enzima empleada en la presente invención, lo que indica que el único aspecto que la presente invención comparte con D1 es que ambos pretenden reducir las concentraciones de nitrato en las plantas. Basándonos en lo anterior, considero que citar D1 como estado de la técnica es discutible, especialmente considerando que no existen características estructurales adicionales que se puedan considerar comunes a ambas invenciones. Lo anterior hace hincapié en que ambas solicitudes difieren significativamente en la estrategia empleada para obtener niveles reducidos de nitrato, y solo comparten el efecto técnico que pretenden lograr.

Por otro lado, respecto de D2 señalo que dicho documento describe una enzima nitrato reductasa que comprende una sustitución S521D la cual permanece constitutivamente activa en condiciones en las que la enzima nitrato reductasa de tipo salvaje se inactivaría fácilmente (D2, pág. 1085). Sin embargo, la presente invención se refiere a una mutación **S523D**, la cual es considerada como una modificación obvia por el Examinador, teniendo en cuenta las enseñanzas de D2. No obstante, llamo la atención del Examinador sobre el hecho de que la reducción inesperada y mejorada del nivel de TSNA observadas en la presente invención (páginas 9 y 10, líneas 23 – 24 y 1 – 2; Ejemplos 3, 4, 6 y 7) supera las encontradas en el arte previo, indicando que la modificación realizada tiene un efecto técnico significativo y sorprendente. De esta manera, considero que D2 no proporciona ninguna enseñanza general o particular que en conjunto con D1, pueda guiar a una persona normalmente versada en la materia a realizar dicha modificación, ya que este

documento no sugiere otras posiciones posibles en las que tal sustitución conlleve un efecto técnico sorprendente.

Adicionalmente, es necesario tener en cuenta que la posición 521 es un residuo muy particular, cuya fosforilación conduce a la inactivación de la enzima, es decir, la sustitución de la serina en este residuo elimina la capacidad de la planta para responder a la fosforilación como una señal para inactivar la nitrato reductasa. Lo anterior sugiere que sustitución de S por D en la posición 521 puede remover la regulación de la enzima, mas no sugiere de ninguna manera particular que active constitutivamente la enzima a través del mimetismo de la fosforilación.

Por consiguiente, considerando además que los autores de D2 indican que en estudios previos han encontrado que el mimetismo de la fosforilación por sustituciones con ácido aspártico (D) realizadas a residuos de serina (S) no ocurre en *Nicotiana tabacum*, (D2, página 1085, col. der., líneas 5 – 10), el experto en la materia no esperaría que la posición 523, o cualquier otra fuera un candidato viable para que a través de mimetismo de la fosforilación, se logre activar constitutivamente la enzima, logrando reducir los niveles de TSNA como se alcanza en la presente solicitud mediante la sustitución S523D. De esta manera, una persona normalmente versada en la materia no se vería particularmente motivada a realizar tal modificación, ya que lo divulgado en D2, sugiere que es la fosforilación específicamente en la posición 521 lo que genera la inactivación de la enzima, en vista de lo cual otras posiciones de dicha secuencia no serían apreciadas como relevantes, considerando además que este mismo documento asegura que la mimetización por fosforilación no ocurre en *N. tabacum*. Lo anterior resalta que el concepto inventivo de la presente invención no pudo haber sido deducido a partir de las enseñanzas de D2 en combinación con D1, sino que por el contrario se deriva de un cuidadoso proceso experimental que conllevó a obtener los sorprendentes resultados alcanzados por la presente invención.

En vista de lo anterior, y teniendo en cuenta que los resultados obtenidos en *N. tabacum* con la mutación S523D no son anticipados por el arte previo, y considerando que D1 no presenta un mecanismo si quiera comparable con lo divulgada en la presente invención para generar una reducción de TSNA, señalo que el arte previo de ninguna manera sugiere que una mutación del tipo S523D en la secuencia SEQ ID NO: 4 que codifica una nitrato

reductasa, pueda conllevar a una reducción de TSNA del 70-80% en humo como lo demuestra la presente invención (páginas 9 y 10, líneas 23 – 24 y 1 – 2; Ejemplos 3, 4, 6 y 7), ya que el arte previo no sugiere ni anticipa que tal mutación esté correlacionada con la reducción de TSNA. Es decir, la aproximación del Examinador evidencia un análisis en retrospectiva, en donde se hace una mención simple y no relacionada de ciertas características en el arte previo, intentando encontrar las características esenciales de la invención reivindicada en porciones dispersas del arte previo, como un rompecabezas, las cuales no orientan inmediatamente la persona normalmente versada en la materia a obtener la invención reclamada con los efectos específicos conseguidos. Con base en todo lo anterior, indico que las reivindicaciones independientes y dependientes de la presente solicitud tienen altura inventiva respecto del arte previo citado.

V. PAGO DE TASA ADICIONAL POR EL NÚMERO DE REIVINDICACIONES

Teniendo en cuenta que las modificaciones detalladas en el numeral I del presente memorial evidencian la presentación de un Capítulo Reivindicatorio conformado por 25 reivindicaciones, presento junto con este memorial el pago de tasa por 9 reivindicaciones adicionales, teniendo en cuenta que en la respuesta al examen preliminar radicada el 13 de septiembre de 2018, adjunté el pago correspondiente a la tasa generada por 6 reivindicaciones adicionales.

VI. PETICIÓN

1. 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.
2. De manera subsidiaria, y en caso de que su Despacho considere que la modificación introducida al Capítulo Reivindicatorio amerita revisión adicional, solicito un tercer examen de patentabilidad de conformidad con lo dispuesto en el Artículo 2 de la Resolución 3719 de 02 de febrero de 2016, para lo cual realizo el pago de tasa correspondiente.

VII. 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.

VIII. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 25 reivindicaciones.
2. Pago en línea por concepto de la tasa de reivindicación adicional por 9 reivindicaciones.
3. Recibo de pago en línea por concepto de examen de patentabilidad adicional.

Señor Director,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908

LGV\LGV\ID-302672\WPC23408