

Señora Directora

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2018/0000523

Asunto: Solicitud de patente para: PRODUCCIÓN DE COLOR AZUL EN FLORES DE CRISANTEMO EMPLEANDO CASETES DE EXPRESIÓN.

Solicitante: NATIONAL AGRICULTURE AND FOOD RESEARCH ORGANIZATION;
SUNTORY HOLDINGS LIMITED

Fecha de solicitud: 19 de enero de 2018

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. 5450, notificado por fijación en lista el 28 de junio de 2018, estando en el plazo establecido para esto, toda vez que solicité prórroga el 17 de septiembre de 2019.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aportó un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 12 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

- Se eliminaron las modalidades (1-b) y (2-b) de las Reivindicaciones independientes 1 y 7. Así mismo, la expresión “y/o” fue reemplazada por el conector “y” en la Reivindicación 7 (antigua Reivindicación 5).
- Se delimitó en los numerales (1-c) y (2-c), anteriormente numerales (1-d) y (2-d), de las Reivindicaciones independientes 1 y 7, que el polinucleótido comprende 1 a 20 aminoácidos modificados de acuerdo con las enseñanzas del Párrafo [0017].
- Así mismo, se incluyeron las nuevas Reivindicaciones dependientes 2, 3, 8 y 9 con base en dichas enseñanzas.

INNOVACIÓN PARA LOS NEGOCIOS

BOGOTÁ DC, 110221 - COLOMBIA - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72A - 35 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650
MEDELLÍN, 050021 - COLOMBIA - San Fernando Plaza - Carrera 42A No. 1 - 25 Torre 4 Oficina 303 - Teléfono: (57-4) 520 4760

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

- Se incluyó en la nueva Reivindicación 7 (antigua Reivindicación 5) el numeral (2-c), con base en la Reivindicación original 10, el cual fue omitido en respuesta al primer examen de fondo por un error involuntario.
- Todas las reivindicaciones, así como sus relaciones de dependencia, fueron reenumeradas de acuerdo con los cambios arriba detallados.

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

En primer lugar, amablemente solicito al Examinador considerar como superada la objeción respecto de la numeración interna en la Reivindicación 7 (antigua Reivindicación 5), teniendo en cuenta que como lo detallé previamente, la modalidad faltante fue incluida en dicha reivindicación. Así mismo, señalo que la expresión “y/o” objetada por el Examinador fue completamente eliminada del Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto.

Por otro lado, deseo señalar que los antiguos numerales (1-b) y (2-b) referentes a un polinucleótido que se hibrida con un polinucleótido de determinada secuencia, fueron completamente eliminados del Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto. En este sentido, amablemente solicito al Examinador considerar como superada dicha objeción.

Tomando lo anterior en consideración, señalo que la materia reclamada en la nueva Reivindicación 1 y 7 se define de manera clara para la persona normalmente versada en la materia, toda vez que se dirige aun casete que comprende un polinucleótido caracterizado por su secuencia (1-a) y (2-a), o un polinucleótido que codifica para una proteína de secuencia definida (1-b) y (2-b); o un polinucleótido que codifica para una proteína de secuencia definida que comprende una delección, sustitución, inserción y/o adición de 1 a 20 aminoácidos (1-c) y (2-c).

Respecto de los polinucleótidos (1-b) y (2-b) deseo señalar que dicha caracterización es clara para una persona normalmente versada en la materia, dado que una persona normalmente versada en la materia podría inferir diferentes secuencias de polinucleótidos que codifiquen para dicha proteína, teniendo en cuenta que la degeneración del código genético hace posible que un mismo aminoácido sea codificado mediante diferentes tripletas de codones. En este sentido, señalo que la caracterización del polipéptido (1-b) permite abarcar una generalización razonable del concepto inventivo desarrollado puesto que, al definir una secuencia específica de polinucleótido, se estaría excluyendo del alcance de la invención polinucleótidos que igualmente codifican para la secuencia de la proteína especificada. Por lo tanto, señalo que una modificación como la sugerida por el Examinador limitaría injustificadamente el alcance de la invención.

En cuanto a los polinucleótidos definidos en (1-c) y (2-c), deseo llamar la atención del Examinador sobre las modificaciones introducidas en las Reivindicaciones 1 y 7, en donde se delimita que, por ejemplo, el polinucleótido codifica para una proteína SEC ID NO: 2 que comprende de 1 a 20 aminoácidos modificados. Particularmente, una secuencia proteica que tenga 20 aminoácidos modificados respecto de SEC ID NO:2 mantendría una identidad de al menos 96% con la secuencia de referencia. Como es bien sabido por una persona normalmente versada en la materia, los aminoácidos se agrupan bajo propiedades químicas comunes en cuanto a su carga, tamaño y polaridad, entre otros, permitiendo establecer sustituciones conservativas entre aminoácidos con identidades químicas comunes. Éstas son de amplio conocimiento en el área la técnica, entendiendo como conservativas sustituciones tales como un aminoácido cargado positivamente por otro aminoácido con carga positiva, un aminoácido polar por otro aminoácido polar y similares, en donde dichas sustituciones son conocidas como conservativas dado que no alteran la funcionalidad del polipéptido. En este sentido, señalo que una persona normalmente versada en la materia podría realizar sustituciones conservativas a la secuencia proteica SEC ID NO: 2 sin que se altere la actividad de dicha molécula, y por lo tanto, señalo que un polinucleótido que codifique para una secuencia de este tipo debe ser abarcado por la presente solicitud, a fin de dar una protección sólida al objeto de la misma.

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. EN CUANTO AL CAPÍTULO DESCRIPTIVO

El Examinador señala que el Capítulo Descriptivo no divulga la invención de manera suficientemente completa para que la persona normalmente versada en la materia técnica correspondiente pueda ejecutarla, puesto que no se evidencia el desarrollo de variantes de las proteínas de SEC ID NO: 2 y 4.

Respecto de lo anterior, deseo recalcar 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, el Artículo 30 de la Decisión 486 señala que la materia reclamada debe tener debido soporte en el Capítulo Descriptivo, como ocurre en los Párrafos [0012] y [0017], así como a lo largo de la presente solicitud, brindando así el debido soporte a dichas modalidades de la invención. En este sentido señalo que la posición del Examinador en cuanto a la supuesta falta de soporte de la materia referida 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, deseo señalar que las delimitaciones realizadas al Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto resaltan que el polinucleótido (1-c) y (2-c) de las Reivindicaciones 1 y 7 codifican para secuencias proteicas que guardan una alta identidad con la secuencia de referencia, lo cual confirma que una modificación de este tipo resultaría obvia para la persona normalmente versada en la materia con base en las enseñanzas de los Párrafos [0012] y [0017] del Capítulo Descriptivo.

IV. ESTADO DE LA TÉCNICA

El Examinador indica que los siguientes documentos son relevantes para la patentabilidad del objeto de la presente solicitud:

Tabla 1. Arte previo determinado con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad 01 de julio de 2015.

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	EP 2423312	<i>“Method for production of chrysanthemum plant having delphinidin-containing petals”</i>	29 de febrero de 2012
D3	Sasaki et al., Plant Cell Physiol.	<i>“Achievements and Perspectives in Biochemistry Concerning Anthocyanin Modification for Blue Flower Coloration”</i>	01 de enero de 2015

V. EN CUANTO A LA NOVEDAD

El Examinador señala que la materia reclamada en la Reivindicación 7 carece de novedad, considerando que revela un método para producir una planta de crisantemo que contiene delfinidina en sus pétalos donde el método comprende transformar una planta de crisantemo con un vector que contiene un casete de expresión que comprende el gen 3',5'-hidroxilasa flavonoide (F3'5'H) de campánula (D1, SEQ ID NO: 51).

Teniendo en cuenta las modificaciones arriba detalladas, amablemente solicito al Examinador considerar como superada la objeción respecto de la falta de novedad de la materia reclamada en la Reivindicación 7, toda vez que esta ha sido modificada para referirse a un método de producción de plantas de crisantemo con color azul, el cual consta de introducir un primer y un segundo polinucleótido que codifican para los genes F3'5'H y el gen 3', 5'-O-glucosiltransferasa de antocianina derivado de clitoria (CtA3'5'GT), respectivamente.

En este sentido, señalo que el objeto de dicha reivindicación se reviste de novedad sobre el método revelado en D1, puesto que éste último únicamente se refiere a la inclusión de un polinucleótido que codifica para el gen F3'5'H, considerando además que la *Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad* establece en la sección 2.12 que *“si la invención reivindicada es idéntica a lo revelado en el estado de la técnica, (...) se considera que no tiene novedad”*¹.

VI. EN CUANTO AL NIVEL INVENTIVO

El Examinador considera que el objeto de solicitud como se reclama en el Capítulo Reivindicatorio podría haber sido inferido de manera obvia por una persona normalmente

¹ Superintendencia de Industria y Comercio (2014) *GUÍA PARA EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTE DE INVENCIÓN Y MODELO DE UTILIDAD* (pp. 116). Bogotá, Colombia.

versada en la materia, en vista de las enseñanzas de D1 y D3, concluyendo así que la presente invención carece de nivel inventivo.

Respecto de lo anterior, deseo señalar que las enseñanzas de D3 se centran en divulgar que la combinación de enzimas glicosiltransferasas (GT) y aciltransferasas (AT) hace posible la obtención de flores de color azul. Particularmente, dicho documento no describe la combinación específica de los genes CamF3'5'H y CtA3'5'GT.

Respecto de lo anterior, el Párrafo [0093] del presente Capítulo Descriptivo establece que al transformar una planta con un casete de expresión que comprende genes que codifican para las enzimas A3'5'GT y A3'AT no se obtuvo una planta de crisantemo azul. En este sentido, las enseñanzas del arte previo citado no son efectivas para alcanzar un efecto técnico como el de la presente invención y, por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no encontraría una motivación en D3 para elucidar de manera obvia la materia de la presente solicitud.

Aunado a lo anterior, señalo que antes de la fecha de prioridad de esta solicitud era de amplio conocimiento en la técnica que el color azul no se produce en pétalos, incluso cuando una combinación de F3'5'H y cualquier 3'5'GT se ha transferido con éxito por ejemplo a un crisantemo, que tiene alta poliploidía, pero también en una planta de rosa o una planta de clavel. Como lo discute Noda et al. (2017)², en la técnica se conoce que la glucosilación en los residuos 3' y 5'-hidroxilo de antocianinas es responsable de la coloración roja en las flores, es decir al introducir por ejemplo CtUA3'5'GT como GT. Por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia se vería disuadida a introducir F3'5'H y GT para obtener una planta con flores de color azul.

De igual manera, como se describe reiteradamente en D3, antes de la fecha de presentación de la previamente solicitud se consideraba que para que se exprese el color azul en flores, era necesario que las antocianinas en los pétalos se modifiquen mediante la incorporación de múltiples ácidos orgánicos aromáticos empleando una enzima AT seguida de la acción de una enzima GT. Particularmente, D3 en la página 34 indica que:

“La modificación de antocianinas con grupos glicosilo y acilo (incluidos los grupos acilo aromáticos) es catalizada por glicosiltransferasas (GT) y

² Noda, N., Yoshioka, S., Kishimoto, S., Nakayama, M., Douzono, M., Tanaka, Y., & Aida, R. (2017). Generation of blue chrysanthemums by anthocyanin B-ring hydroxylation and glucosylation and its coloration mechanism. *Science Advances*, 3(7), e1602785.

aciltransferasas (AT), respectivamente, en un orden apropiado, donde la glicosilación por GT proporciona la base de la acilación por AT. La glucosilación y la acilación de antocianinas juegan un papel importante en el mantenimiento de la estabilidad del color y se cree que sirven como señales para el transporte vacuolar (Luo et al. 2007).” – D3, página 34, col. der., último párrafo.

Adicionalmente, en la sección *Perspectives* de dicho artículo concluye que:

“La ingeniería del metabolismo de las antocianinas para acumular antocianinas de tipo delfidina 3’ o 7’ poliaciladas en la vacuola de la célula de pétalo es un enfoque prometedor para la ingeniería de flores verdaderamente azules. Varios genes que codifican enzimas (UAGT, GH1-GT, BAHD-AAT y SCPL-AT) involucrados en la modificación de la posición 3’ o 7’ de las antocianinas ahora están disponibles, y es posible proponer una ruta bioquímica para la ingeniería de antocianinas azules utilizando las vías de modificación de la antocianina vacuolar con una combinación apropiada de vías citoplasmáticas.” - D3, página 37, col. der., último párrafo.

Lo anterior resalta que las enseñanzas de D3 no describen que sea posible obtener una flor de color azul sin poliacilar las antocianinas y no enseña ni sugiere que se pueda obtener una flor azul al glucosilar las posiciones 3 'y 5' de las antocianinas sin recurrir a una etapa previa de poliacilación. Como se describe en el Párrafo [0008] del Capítulo Descriptivo de la solicitud, la presente invención se basa en el hallazgo sorprendente de que cuando las enzimas CtA3'5'GT y CamF3'5'H son expresados en pétalos de crisantemo, es posible obtener una planta de crisantemo transformada que tiene un color de flor azul previamente inalcanzable (carta de colores RHS, 5a edición: grupo azul violeta/grupo azul y/o ángulo de tonalidad: 230° a 290°), sin que sea necesario expresar una enzima aciltransferasa. Cuando se introduce únicamente el gen F3'5'H, simplemente se obtiene una planta que tiene una flor de color púrpura. Incluso si se usa CtUA3'5'GT solo o Ct3'AT o AGS en combinación, no hay cambio en el color de la flor. Por lo tanto, está claro que la presente invención tiene un efecto técnico que no podría haberse previsto a partir de la técnica anterior.

Particularmente, UA3'5'GT de la presente es una especie molecular completamente diferente de la enzima UA3GT que se muestra en la Figura 2 de D3. Como se ilustra en la Figura 2 de la presente solicitud, UA3'5'GT es una enzima específica del guisante de

mariposa que glucosila grupos hidroxilo en las posiciones 3 'y 5' de delphinidina después de la 3-malonilación del 3-glucósido de delphinidina que se muestra en la Figura 2 de D3. El color de la flor de un mutante de guisante de mariposa sin función UA3'5'GT es malva (Phytochemistry 64 (2003) 1133). Por lo tanto, es evidente que un color de flor azul verdadero (Carta de colores RHS: grupo azul violeta o grupo azul, ángulo de tonalidad: 230° a 290°) diferente del malva y el púrpura no se puede crear solo mediante la utilización de los genes mostrados en la Figura 2 de D3. Como se ilustra en la Figura 5 de la presente solicitud, tanto F3'5'H como UA3'5'GT funcionan para sintetizar la delphinidina adicionalmente glucosilada en las posiciones 3 'y 5' (Dp3MG3'5'diG), por lo que se logra la coloración de la flor azul. Por lo tanto, la presente invención no podría haberse concebido a partir de la combinación de las enseñanzas del arte previo citado, dado la persona normalmente versada en la materia no podría llegar al objeto de la presente invención mediante ninguna combinación de la enzima F3'5'H descrita en D1 con ninguno de los diversos tipos de GT descritos en D3.

La Figura 2 de D3 ilustra que, después de la reacción de F3'5'H, la delphinidina 3-glucósido se sintetiza por glucosilación en la posición 3 de delphinidina con la enzima UA3GT, por lo que el color de la flor se torna morado o azul. Por otro lado, la Figura 1 de la presente solicitud ilustra la biosíntesis de delphinidina 3-malonilglucósido en crisantemos mediante la introducción de F3'5'H. Sin embargo, la combinación de F3'5'H introducido y UA3GT endógeno no puede desarrollar el color azul (Carta de colores RHS: grupo azul violeta o grupo azul, ángulo de tonalidad: 230° a 290°) de pétalos de crisantemo obtenido en la presente invención. Como se describe en el Párrafo [0003] de la sección *Antecedentes del arte previo* del Capítulo Descriptivo de la presente solicitud, el color de la flor resultante se puede cambiar simplemente a un color entre púrpura y violeta, dentro de un grupo púrpura-violeta o un grupo violeta de la tabla de colores RHS y con un ángulo de tono de aproximadamente 315°. Además, la introducción de solo F3'5'H dio como resultado un color púrpura, y el color de la flor no se cambió introduciendo solo UA3'5'GT como se evidencia en los ejemplos de referencia 1, 2 o 6 de la presente solicitud, como tampoco mediante la introducción de una combinación de UA3 '5'GT, Ct3'AT y AGS como en el Ejemplo de referencia 3 de la presente solicitud. El método de la presente solicitud en el que F3'5'H y UA3'5'GT se introducen juntos rompe los límites del color azul previamente obtenido y permite el desarrollo de un verdadero color azul en los pétalos de crisantemo. En este sentido, señalo que solo la presente invención ha demostrado que la combinación de F3'5'H y CtUA3'5'GT permite obtener pétalos de crisantemo azules.

Los autores de la presente invención realizaron la publicación Noda et al. (2017)³ después de la presentación de esta solicitud, en la que se evidencia que incluso cuando F3'5'H y UA3GT endógeno actuaban en conjunto, el color de la flor 1916-10 era violeta-violeta, no violeta-azul o azul (Figura 4A), tal como se ilustra en la FIG. 2 de D3. Sin embargo, dado que F3'5'H y UA3'5'GT, y UA3GT endógeno funcionaban de manera suficiente, los colores de las flores 1916-12 y 1916-23 eran azul violeta y azul (Fig. 4A). La longitud de onda de máxima absorción de luz en el pétalo púrpura de 1916-10 fue de 561 nm (longitud de onda máxima de absorción), mientras que las longitudes de onda de máxima absorción del pétalo azul en 1916-23 fueron 573 y 615 nm, es decir, hacia longitudes de onda más largas donde se exhibe color azul (Fig. 4G). Esto se debe a que la glucosilación en las posiciones 3' y 5' fue promovida por la función de F3'5'H y UA3'5'GT introducidos, por lo que no solo la longitud de onda de máxima absorción del pigmento de antocianina se desplazó al lado más largo de la longitud de onda, sino también el espectro de absorción se desplazó hacia el lado de longitud de onda más largo debido a la interacción con el glucósido de flavona acumulado en los pétalos de crisantemo (Fig. 6 F y H). Este hallazgo no se describe en las referencias citadas y, por lo tanto, una persona experta en la técnica no podría haber concebido de manera obvia un método que al coexpresar F3'5'H y UA3'5'GT logre el desarrollo de coloración azul en los pétalos de crisantemo, como se obtiene en la presente invención.

En consecuencia, señalo que la presente invención no podría haber sido inferida de manera obvia por un experto en la materia en vista de las enseñanzas de D1 y D3. En particular, considerando que era de conocimiento común del área de la técnica que para obtener el color de flor azul es necesario emplear una enzima AT además de la función de GT para modificar antocianinas y que adicionalmente, la antocianina se torna roja cuando los residuos glucosilo están unidos en las posiciones 3' o 5' por una enzima GT, como UA3'5'GT, como se evidencia en las referencias 23 a 26 de Noda et al. (2017)⁴. Por lo tanto, antes de la fecha de prioridad de la presente solicitud, no había realizaciones relacionadas con la introducción de F3'5'H y UA3'5'GT con el propósito de reproducir flores de color azul. En este sentido, señalo que la presente invención se reviste de nivel inventivo sobre las enseñanzas del arte previo citado.

³ Noda, N., Yoshioka, S., Kishimoto, S., Nakayama, M., Douzono, M., Tanaka, Y., & Aida, R. (2017). Generation of blue chrysanthemums by anthocyanin B-ring hydroxylation and glucosylation and its coloration mechanism. *Science Advances*, 3(7), e1602785.

⁴ Noda, N., Yoshioka, S., Kishimoto, S., Nakayama, M., Douzono, M., Tanaka, Y., & Aida, R. (2017). Generation of blue chrysanthemums by anthocyanin B-ring hydroxylation and glucosylation and its coloration mechanism. *Science Advances*, 3(7), e1602785.

VII. 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 segundo 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.

VIII. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 12 reivindicaciones.
2. Recibo de pago en línea por concepto de Examen de Patentabilidad adicional.

Señora Directora,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908

COLO-24062-0841-0001-3
LGV\LGV\ID-305678\WPC24062
No. M-2019-305678\LGV