

Bogotá D.C., 16 de Diciembre de 2019

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Ref.: Respuesta de requerimiento de fondo

No. de Exp.: NC2017/0009182

Patente: MÉTODO PARA LA SELECCIÓN DE UNA
CEPA BACTERIANA ÁCIDO LÁCTICA
PRODUCTORA DE HISTAMINA

Oficio: 10253 de 18 de Septiembre de 2019

Yo, **HASBLEYDI CALVO ROJAS** identificada con cédula de ciudadanía No. 53.123.537, portadora de la tarjeta profesional No. 248.664 del C. S. de la J., obrando como apoderada de BioGaia AB, solicitante de la solicitud de patente en cuestión, me permito establecer que:

1. MODIFICACIONES A LA SOLICITUD

En primera medida, el solicitante manifiesta el deseo de modificar el título de la solicitud con el objetivo de divulgar la invención de manera clara y completa teniendo en cuenta lo reivindicado en el nuevo pliego reivindicatorio aquí adjunto. Siguiendo la recomendación del Examinador, dicho nuevo título corresponde a “**MÉTODO PARA LA SELECCIÓN DE UNA CEPA BACTERIANA ÁCIDO LÁCTICA CAPAZ DE PRODUCIR HISTAMINA Y DIACILGLICEROL QUINASA QUE COMPRENDE LA DETECCIÓN DE LOS GENES HDCA, HDCA Y/O HDCA Y DAGK**”, el cual define la

invención de manera precisa y se encuentra acorde con lo divulgado en la reivindicación independiente 1.

Del mismo modo y de acuerdo a las disposiciones del artículo 34 de la Decisión 486, me permito adjuntar a este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio que consta de cinco (5) reivindicaciones, al cual se realizaron las siguientes modificaciones:

- La antigua reivindicación 1 fue enmendada.
- El contenido de las antiguas reivindicaciones 2 y 4 fue incorporado en la nueva reivindicación 1.

Con relación a las modificaciones anteriormente mencionadas, el solicitante manifiesta que éstas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la solicitud en estudio y se realizan con el fin de superar las objeciones planteadas por el examinador en el oficio del examen de fondo para el cual se está presentando respuesta.

2. CLARIDAD DE LA SOLICITUD

Reivindicaciones

Con el fin de superar la objeción de claridad a la reivindicación 1, el Solicitante desea manifestar que el contenido de las antiguas reivindicaciones 2 y 4 fue incorporado en la nueva reivindicación 1 enmendada. Así las cosas, la nueva reivindicación 1 describe las condiciones específicas, tales como el cultivo de las cepas, la extracción de ADN, la amplificación de los genes, en las que se lleva a cabo el método.

A partir de los cambios hechos a la reivindicación 1, resultan claras las condiciones

específicas que se comprenden en el método aquí divulgado para la búsqueda de una bacteria ácido láctica con presencia de un operón de histidina activo Y con presencia y/o expresión del gen *dagK*. A partir de lo anterior, el Solicitante se permite manifestar que la nueva reivindicación 1 es lo suficientemente clara que cualquier persona versada en la materia podría replicar lo allí descrito sin mayor dificultad.

Es pertinente llamar la atención del Examinador al hecho que la amplificación de un gen puede comprender el uso de un par de cebadores que flanqueen el gen de interés, que amplifiquen el gen desde sus extremos 5 y 3', que amplifiquen una parte interna del gen O una combinación de las anteriores posibilidades. Así, resulta evidente para una persona versada en la materia que no existe un único par de cebadores que permita la amplificación de un gen; y por ende, no es objeto de la solicitud comprender en el método de detección del gen *dagK* únicamente el par de cebadores SEQ ID NO:21 y SEQ ID NO:22 pues se limitaría de manera innecesaria el método de la invención.

El Examinador también señala que la reivindicación 1 no es concisa pues “*se refiere a un método para la selección de una cepa bacteriana, cuyos dos primeros pasos esenciales tienen el mismo objetivo, toda vez que tienen como fin la búsqueda de una bacteria ácido láctica ya sea mediante la presencia de un operón de histidina activo, o mediante la presencia del gen *dagK**”. En este aspecto, el Solicitante desea llamar la atención del Examinador al hecho que los dos primeros pasos del método divulgado en la reivindicación 1 no tienen el mismo objetivo pues hacen referencia a la búsqueda de bacterias ácido lácticas CON dos características esenciales diferentes. Así pues, el método de la reivindicación 1 incluye la búsqueda de una cepa bacteriana con presencia de un operón de histidina activo Y con presencia y/o expresión del gen *dagK*.

Mientras que el primer paso hace referencia a la búsqueda de una bacteria ácido láctica que tenga en su genoma un operón de histidina activo, el segundo paso implica que ADEMÁS

dicha bacteria debe codificar el gen *dagK* o expresarlo. Para una persona versada en la materia resulta evidente que el operón de histidina difiere totalmente del gen *dagK*, pues mientras el primero regula la producción de histidina, el gen *dagK* codifica la producción de la proteína diacilglicerol quinasa. El Solicitante también desea llamar la atención del Examinador al hecho que el pliego descriptivo de la solicitud es lo suficientemente claro en distinguir el operón de histidina del gen *dagK*. Así, en la página 18, líneas 1 a 15 se enseña lo siguiente:

*“En una realización particular, el operón de histidina comprende, o consiste de, un gen del antiportador histidina/histamina (*hdcP*), un gen de histidina descarboxilasa del tipo piruvato A (*hdcA*) y un gen de histidina descarboxilasa del tipo piruvato B (*hdcB*). Así, en una forma de realización la cepa bacteriana ácido láctico productora de histamina comprende los genes *hdcP*, *hdcA* y *hdcB*.”*

*“En una forma de realización, la cepa bacteriana ácido láctico productora de histamina es capaz de producir una diacilglicerol quinasa (*DagK*). Los datos experimentales tal como se presentan en el actual documento muestran que puede ser ventajoso el usar una cepa bacteriana ácido láctico productora de histamina y de *DagK* en la profilaxis, inhibición o tratamiento del cáncer colorrectal o en la reducción del riesgo de recaída del cáncer colorrectal.”*

“La producción de *DagK* tiene efectos benéficos en términos de la supresión de la señalización corriente abajo de *H1R* para suprimir los efectos inflamatorios que la histamina, de otro modo, puede causar. De acuerdo con lo anterior, la producción tanto de histamina como de *DagK* redirige la acción de activar *H1R* a activar *H2R*, el cual promueve los efectos anti-inflamatorios de la histamina.”

A partir de los anteriores párrafos resulta claro que la producción de diacilglicerol quinasa e histidina (regulada bajo el operón histidina) es controlada por diferentes rutas metabólicas y, particularmente, por diferentes genes (gen *dagK* y genes comprendidos en el operon histidina).

Vale la pena resaltar que el método de la invención cubre la búsqueda de una cepa bacteriana ácido láctica que comprenda un operón activo de histidina (primer paso) Y QUE ADEMÁS codifique y/o exprese el gen *dagK*, responsable de la producción de diacilglicerol quinasa (segundo paso) debido a que dicha cepa tendría efectos benéficos al ser administrada a un paciente en términos de prevención, reducción o tratamiento de varias condiciones inflamatorias. El Solicitante se permite citar lo descrito en la página 22, líneas 5 a 10, del pliego descriptivo:

“La DagK producida suprimirá las propiedades inflamatorias de la histamina mediante la supresión de la ruta de señalización corriente abajo de H1R. Por consiguiente, la histamina puede tener propiedades anti-inflamatorias debido a la activación de H2R.”

De lo anterior resulta claro para una persona versada en la materia que una cepa que tenga únicamente activo el operón histidina o que únicamente codifique o exprese el *dagK* no será capaz de generar un efecto positivo en pacientes con condiciones inflamatorias pues si la proteína DagK no es expresada, no ocurre la interrupción corriente abajo del receptor H1R mediante la inhibición del lípido DAG, y por ende, no se suprimen los efectos pro-inflamatorios de la histamina. En el mismo sentido, si el operón histidina no se encuentra activo en la cepa bacteriana, no será posible producir histamina, no se activará la ruta metabólica mediada por el receptor H2R y por ende no existirán efectos anti-inflamatorios en el paciente.

A partir de lo anterior, el Solicitante se permite señalar que contrario a lo afirmado por el Examinador, los dos primeros pasos de la reivindicación independiente 1 son diferentes y se encuentran debida y extensamente sustentados en el capítulo descriptivo de la solicitud.

Por otra parte, el Examinador señala que la antigua reivindicación 4 no es concisa pues “*no señala las condiciones específicas que permiten la selección de las cepas, como las técnicas y moléculas empleadas*”. En este aspecto, el Solicitante se permite señalar que el contenido de la antigua reivindicación 4 fue incorporado en la nueva reivindicación independiente 1. Vale la pena resaltar, que la nueva reivindicación 1 describe paso a paso las etapas requeridas para la búsqueda de una bacteria ácido láctica con presencia de un operón de histidina activo y presencia y/o expresión del gen *dagK*. Por las razones anteriores, se solicita al Examinador que desestime las objeciones presentadas a las antiguas reivindicaciones 1 y 4.

3. PRECISIÓN DEL ESTADO DE LA TÉCNICA

La Superintendencia relaciona el documento D1, el cual anticipa el objeto de la presente solicitud. Sin embargo, pasaremos a dar cuenta de que esta anterioridad no posee las mismas características esenciales tal como se encuentran definidas en el nuevo pliego reivindicatorio.

4. VIOLACIÓN DE NIVEL INVENTIVO

El Examinador establece en su concepto técnico que el pliego reivindicatorio carece de nivel inventivo a la luz del documento D1. Sin embargo, respetuosamente el Solicitante desea manifestar su desacuerdo por las razones que se señalarán a continuación.

D1 (US20130022586)

El documento D1 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la presente invención y, como bien lo indica el Examinador, se caracteriza por divulgar “*un método para seleccionar una cepa bacteriana para la producción de histamina en un mamífero que comprende los pasos de buscar bacterias que contengan un operón de histidina activo y seleccionar las bacterias ácido lácticas que tengan dicho operón y que sean capaces de producir histamina*” (Pág 11, reiv 1).

A partir de la definición anterior resulta claro que el documento D1 enseña un método para la selección de cepas bacterianas que posean un operón activo de histidina y que además sean capaces de producir histamina. Sin embargo, dicho método falla en enseñar o siquiera sugerir la posibilidad de buscar cepas bacterianas con presencia y/o expresión del gen *dagK*

A partir de lo anterior, el Solicitante se permite resaltar respetuosamente que es precisamente en la etapa de búsqueda de cepas bacterianas ácido lácticas con presencia y/o expresión del gen *dagK* donde radica la diferencia entre la presente invención y el método enseñado en D1. Lo anterior debido a que la combinación de la búsqueda de una cepa con un operón de histidina activo Y la búsqueda de una cepa con presencia y/o expresión del gen *dagK* resulta inventiva y novedosa pues no ha sido previamente divulgada en el arte, contrario a lo señalado por el Examinador.

El Examinador señala que “*el método de selección de una cepa bacteriana ácido láctica de la solicitud comprende un paso adicional que comprende la detección del *dagK*, pero este paso adicional hace más largo el método y no está asociado a ningún efecto técnico diferente al del método del documento D1, ya que el resultado del método de la solicitud es la detección de la expresión *dagK* para la selección de la cepa *Lactobacillus reuteri* 6475 (Pág. 9, Ej. 2, Párr. [0113-0114]), que es la misma cepa bacteriana seleccionada para la*

producción de histamina que resulta de la aplicación del método del documento D1)". En este aspecto, el Solicitante se permite manifestar que el método divulgado en la nueva reivindicación 1 se diferencia de lo enseñado en el documento D1, pues en dicho documento no se divulga ni se sugieren los pasos para la amplificación del gen *dagK* como parte del método. Vale la pena mencionar que la elección de dicho gen como parte del método aquí propuesto no es producto del azar sino que resulta de ardua experimentación que demuestra que ÚNICAMENTE las cepas que comprenden tanto el gen *dagK* como el operón histidina son capaces de producir efectos anti-inflamatorios.

De la misma manera, el Solicitante se permite señalar que el método de la invención no se encuentra diseñado únicamente para la amplificación de los genes en la cepa bacteriana *Lactobacillus reuteri* 6475, sino para bacterias ácidas lácticas en general tal como es enseñado en la descripción y en la reivindicación 1. Por lo consiguiente, el hecho de que se emplee la cepa *Lactobacillus reuteri* 6475 como ejemplo para la detección del gen *dagK* y el operón histidina no significa de ninguna manera que dicho método no sea inventivo a la luz del documento D1. Contrario a lo que afirma el Examinador, el efecto técnico de ambos métodos es completamente distinto. Mientras con el método del documento D1 se puede seleccionar una cepa bacteriana que contenga y/o exprese el operón histidina, NO existe certeza del efecto anti-inflamatorio de la misma pues se desconoce la presencia del gen *dagK* en su genoma. Por su parte, el método del Solicitante tiene como efecto técnico la selección de una cepa bacteriana ácido láctica con capacidad anti-inflamatoria al codificar el gen *dagK* y comprender el operón de histidina.

Cabe la pena señalar que antes de la presente invención ya se conocía en el estado del arte que unas pocas cepas bacterianas tenían la capacidad de producir histamina con actividad anti-inflamatoria. También era de conocimiento general que la producción local de dicha histamina en el tracto gastrointestinal podía proveer efectos antiinflamatorios terapéuticos

beneficiosos (D1). Sin embargo, así como era de conocimiento la existencia de cepas bacterianas ácido lácticas beneficiosas también se conocía que algunas cepas bacterianas productoras de histamina podrían ser tóxicas al estar asociadas con la toxicidad inducida por histamina.

El Solicitante desea hacer notar que la producción de DagK es un requerimiento para el efecto anti-inflamatorio de las cepas bacterianas de la presente invención. La histamina producida por una bacteria ubicada en el tracto gastrointestinal puede actuar sobre diferentes tipos de receptores. La activación de, por ejemplo, el receptor H1 tendría un efecto pro-inflamatorio el cual no es deseado. Así, la proteína DagK tiene la habilidad de interrumpir la señalización mediada por H1, ocasionando que la histamina actúe sobre el receptor H2 y tenga efectos anti-inflamatorios. Por consiguiente, una bacteria ácido láctica capaz de producir tanto histamina como DagK causaría la supresión de la ruta de señalización de H1R, pero al mismo tiempo induciría la activación de H2R. A partir de lo anterior, resulta inventivo y novedoso sobre el estado de la técnica el hecho que DagK suprime los efectos pro-inflamatorios de la histamina y promueve los efectos anti-inflamatorios mediante la activación del receptor H2R.

Así las cosas, antes de la presente invención no era de conocimiento general cuál era la diferencia entre las cepas productoras de histamina beneficiosas y las tóxicas, así como tampoco la razón por la cual la producción de histamina por parte de cepas bacterianas ácido lácticas podría ser beneficiosa o tóxica para el mamífero. Por consiguiente, a partir del estado de la técnica, una persona versada en la materia no hubiese podido identificar fácilmente cepas beneficiosas productoras de histamina y tampoco le hubiese sido evidente que estas cepas pudiesen ser útiles para la profilaxis, inhibición, tratamiento o reducción del riesgo de recaída de cánceres asociados con histamina.

Por lo anterior, la etapa de búsqueda de cepas con presencia y/o expresión del gen *dagK* sí resulta novedosa e inventiva sobre el documento D1 pues en dicho documento no se hace mención alguna a la posibilidad de detectar el gen o la proteína diacilglicerol quinasa (DagK) ni tampoco resulta evidente para una persona versada en la materia la detección específica de dicha proteína.

Cabe resaltar que la importancia de la búsqueda de cepas productoras de histamina con presencia y/o expresión del gen *dagK* radica en que **únicamente** estas son capaces de causar una supresión de la señalización corriente abajo de H1R pero inducir la activación de H2R. Lo anterior, a su vez, suprime los efectos pro-inflamatorios de la histamina y promueve los síntomas anti-inflamatorios que resultan beneficiosos para el mamífero al que se le administra la cepa.

Vale la pena resaltar que los inventores de la presente solicitud encontraron, como evento novedoso, que una cepa bacteriana ácido láctica capaz de producir tanto histamina como la proteína DagK causa una supresión en la ruta de señalización del receptor H1R e induce la activación de H2R. Lo anterior a su vez suprime los efectos pro-inflamatorios de la histamina y promueve los síntomas anti-inflamatorios, lo cual resulta beneficioso en la profilaxis, inhibición, tratamiento y/o reducción del riesgo de recaída de condiciones inflamatorias asociadas con histamina. Lo anterior resulta nuevo e inventivo y no se divulga o sugiere en ninguno de los documentos citados por el Examinador. D

Por las razones anteriores, la reivindicación independiente 1, y todas sus dependientes, resultan inventivas sobre los documentos D1. En vista de lo anterior, el Solicitante muy respetuosamente desea señalar que ningún documento del arte previo, ni ninguna de sus combinaciones, permitiría que el presente pliego reivindicatorio fuera anticipado u obvio para un experto en la materia.

De este modo, me permito establecer a la Superintendencia que la presente solicitud, tal como se encuentra definida en las nuevas reivindicaciones 1 a 5, cumple con los requisitos de claridad, novedad y nivel inventivo. Asimismo, el Solicitante se permite resaltar que las nuevas reivindicaciones se han modificado de modo que la invención allí definida está descrita en términos de sus características técnicas esenciales que permiten que un experto en la materia la entienda y la pueda desarrollar.

Documentos anexos

Con la presente respuesta se anexan los siguientes documentos:

1. Nuevo pliego de reivindicaciones.

De usted,



Hasbleydi Calvo Rojas

C.C. 53.123.537 de Bogotá D.C.

T.P. 248.664 del C.S.J