

Doctora

Edna Marcela Ramírez Orozco

Directora de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO -SIC-

E.

S.

D.

TOBOS ABOGADOS S.A.S.

Calle 151 No. 18A-34

Oficina 409 Bogotá D.C.

C.P. 110131166 - Colombia

NIT 900.367.556-3

Tel +57 1 526 0350

Tel +57 1 805 1166

Cel +57 320 334 0887

<http://www.tobos.com.co>

tobos@tobos.com.co

Referencia: Solicitud divisional de patente de invención No. NC2019/0008989

Solicitantes: CIBUS US LLC, CIBUS EUROPE B.V

Título: “Métodos para la mutación de los genes de acetohidroxiácido sintasa (AHAS) en *Euphorbiaceae*”

RESPUESTA AL EXAMEN DE FONDO CONTENIDO EN EL OFICIO No. 933

ANDREA TOBOS MATEUS, mayor de edad y vecina de Bogotá D.C., identificada como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderada de las sociedades CIBUS US LLC, CIBUS EUROPE B.V, respetuosamente me dirijo a usted con el fin de dar respuesta al examen de fondo dentro del término legal.

En resumen, el resultado del referido Examen de Fondo indica que la solicitud no cumple con los requisitos establecidos por la Ley.

Se solicita reconsideración de las objeciones y deficiencias señaladas con base en los siguientes argumentos y modificaciones:

1. Reivindicaciones – Falta de soporte en la descripción

1.1. De acuerdo con la Examinadora, la reivindicación 3 carece de sustento porque señala que *“dicho ácido nucleico codifica una proteína de AHAS que es resistente a la inhibición mediante cada uno de un herbicida de imidazolinona y un herbicida de triazolopirimidina”*, sin embargo, de acuerdo con lo divulgado en el capítulo descriptivo, la proteína de AHAS que comprende la mutación D376A sólo es resistente al herbicida de imidazolinona (Fig. 7 y Figs. 8A-8B).

1.2. En respuesta a dicha objeción, las solicitantes desean expresar que, contrario a lo que afirma la Examinadora, la sustitución D376A también provee resistencia hacia herbicidas de triazolopirimidina. Evidentemente las figuras 7, 8A y 8B demuestran una sorprendente tolerancia que otorga dicha sustitución hacia el herbicida de imidazolinona, de una manera más notoria que hacia la triazolopirimidina. Sin embargo, al observar la figura 7 en concentraciones de 100µM y 1mM de TP,

comparando con células con el gen de AHAS de mandioca wt de control negativo, se puede notar que si hay una tolerancia ante este tipo de herbicidas. En concentraciones de 5mM se puede evidenciar que cesaron todos los crecimientos, incluyendo el control positivo con el mutante ALS de colza, por lo cual, es normal que no haya crecimiento a esta concentración. Debido a lo anterior, las solicitantes afirman que la reivindicación 3 no carece de sustento y desea insistir en dejar la triazolopirimidina como parte de dicha reivindicación.

2. Reivindicaciones – Falta de claridad

2.1. La Examinadora afirma que la reivindicación 5 no es clara porque reclama un vector de expresión que comprende un ácido nucleico de la reivindicación 10, pero el capítulo reivindicatorio sólo contiene 6 reivindicaciones.

2.2. Se desea aclarar a la Examinadora que la reivindicación 5 contiene un error tipográfico, el cual se corrigió apropiadamente la dependencia a la reivindicación 1, no 10.

3. EXAMEN DE PATENTABILIDAD – NIVEL INVENTIVO

La Examinadora informa que después de realizada la búsqueda de anterioridades en este caso, concluyó que el nivel inventivo de la solicitud se encuentra afectado por lo divulgado en los siguientes documentos:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	US 2013/0042366	“Herbicide-tolerant plants”	14 de febrero de 2013
D2	US 2009/0205064	“Mutated acetohydroxyacid synthase genes in Brassica”	13 de agosto de 2009

3.1. Nivel inventivo

3.1.1. La Examinadora expresa los siguientes argumentos con respecto a la reivindicación 1:

“El documento D1 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque divulga un alelo mutante de un gen de AHAS (Pág. 20, Párr. [0110]) que comprende una mutación en la posición 376 (Pág. 21, Tabla 11), de acuerdo a la numeración de Arabidopsis thaliana (Pág. 21, Párr. [0113]).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el alelo mutante del gen AHAS divulgado en D1 consiste en que D1 no divulga una modalidad específica en la cual el gen de AHAS sea derivado de Manihot esculenta.

El efecto que se logra al incluir un gen de AHAS derivado de Manihot esculenta es que se confiere resistencia a herbicidas de imidazolinona (Fig. 7 y Figs. 8A-8B) a las plantas de mandioca.

(...)

Sin embargo, el transformar plantas de mandioca para conferir resistencia a herbicidas, ya está divulgado en el documento D1 que se refiere a la transformación de plantas de Manihot esculenta (Pág. 17, Párr. [0089]) con genes de resistencia a herbicidas, entre los que se encuentra el gen AHAS (Pág. 18, Párr. [0099]). El documento menciona que una de las sustituciones que confieren resistencia es la sustitución de ácido aspártico a alanina en la posición 376 (Pág. 21, Tabla 11).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a transformar plantas de mandioca con un gen AHAS que comprende una sustitución de ácido aspártico a alanina en la posición 376 como lo sugiere el documento D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.”

Por otro lado, la Examinadora considera que las reivindicaciones dependientes 2 a 5 no mencionan ninguna característica que aporte nivel inventivo al ácido nucleico de la reivindicación 1. Por lo tanto, dichas reivindicaciones tampoco cumplen con el requisito de nivel inventivo.

3.1.2. Con respecto a la reivindicación 6, la Examinadora considera:

“El documento D2 se considera el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 6 porque divulga un método para producir una planta resistente a herbicidas que comprende (Pág. 143, Reiv. 102) introducir en una célula vegetal una oligonucleobase de reparación génica (GRON) con una mutación dirigida en un gen de acetohidroxiácido sintasa (AHAS) para producir una célula vegetal con un gen de AHAS que expresa una proteína que comprende una mutación en una o más posiciones de aminoácidos que corresponden a las posiciones seleccionadas del grupo de A205, D376, W574, R577 y S653 de la secuencia SEQ ID NO: 1 (Pág. 143, Reiv. 102), identificar una célula vegetal que tiene crecimiento y actividad catalítica sustancialmente normales en comparación con una célula vegetal de tipo silvestre correspondiente en presencia de un herbicida que inhibe AHAS (Pág. 143, Reiv. 102) y regenerar una planta resistente a herbicidas no transgénica que tiene un gen de AHAS mutado a partir de dicha célula vegetal (Pág. 143, Reiv. 102). La SEQ ID NO: 1 del documento D2 es 100% idéntica a la SEQ ID NO: 4 reclamada en la solicitud, tal como se evidencia en el alineamiento de la Figura 1.

CLUSTAL O(1.2.4) multiple sequence alignment

```

US20090205064A1_1      MAAATTTTSSSISFSTKPSSSSKSPLISRFSLPFLNPNKSSSSRRRGKSSSPS      60
US20170369899A1_4      MAAATTTTSSSISFSTKPSSSSKSPLISRFSLPFLNPNKSSSSRRRGKSSSPS      60
                        *****

US20090205064A1_1      SISAVLNTTNTVTTTPSPTKPTKPTFISRFAPDQPRKGADILVEALERQGVETVFAYPG      120
US20170369899A1_4      SISAVLNTTNTVTTTPSPTKPTKPTFISRFAPDQPRKGADILVEALERQGVETVFAYPG      120
                        *****

US20090205064A1_1      GASMEIHQALTRSSSIRNVLPHEQGGVFAAEGYARSSGKPGICIAATSGPGATNLVSGLA      180
US20170369899A1_4      GASMEIHQALTRSSSIRNVLPHEQGGVFAAEGYARSSGKPGICIAATSGPGATNLVSGLA      180
                        *****

US20090205064A1_1      DALLDSVPLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRISITKHNYLVMDEVIPRIIEEAF      240
US20170369899A1_4      DALLDSVPLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRISITKHNYLVMDEVIPRIIEEAF      240
                        *****

US20090205064A1_1      LATSGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSRMPKPPEDSHLEQIVRLISESK      300
US20170369899A1_4      LATSGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWEQAMRLPGYMSRMPKPPEDSHLEQIVRLISESK      300
                        *****

US20090205064A1_1      KPVLYVGGGCLNSSDELGRFVELTGIPVASTLMGLGSPCDELSLHMLGMHGTVYANYA      360
US20170369899A1_4      KPVLYVGGGCLNSSDELGRFVELTGIPVASTLMGLGSPCDELSLHMLGMHGTVYANYA      360
                        *****

US20090205064A1_1      VEHSDLLLAFGVRFDORVTGKLEAFASRAKIVHIDIDSAEIGKNKTPHVSVCQDVKLALQ      420
US20170369899A1_4      VEHSDLLLAFGVRFDORVTGKLEAFASRAKIVHIDIDSAEIGKNKTPHVSVCQDVKLALQ      420
                        *****

US20090205064A1_1      GMNKVLENRAEELKLDGFWRNELNVQKQKFPLSFKTFGEAIPPQYAIKVLDELTDGKAI      480
US20170369899A1_4      GMNKVLENRAEELKLDGFWRNELNVQKQKFPLSFKTFGEAIPPQYAIKVLDELTDGKAI      480
                        *****

US20090205064A1_1      ISTGVGQHQMWAQFYNYKKPRQWLSGGGLGAMGFLPAAIGASVANPDAIVVDIDGDGS      540
US20170369899A1_4      ISTGVGQHQMWAQFYNYKKPRQWLSGGGLGAMGFLPAAIGASVANPDAIVVDIDGDGS      540
                        *****

US20090205064A1_1      FIMNVQELATIRVENLPVKVLLNNQHLGMVMQWEDRFYKANRAHTFLGDPAQEDEFIPN      600
US20170369899A1_4      FIMNVQELATIRVENLPVKVLLNNQHLGMVMQWEDRFYKANRAHTFLGDPAQEDEFIPN      600
                        *****

US20090205064A1_1      MLLFAAACGIPAARVTKKADLREAIQTMLDTPGPYLLDVICPHQEHVLPIMPSSGTFNDV      660
US20170369899A1_4      MLLFAAACGIPAARVTKKADLREAIQTMLDTPGPYLLDVICPHQEHVLPIMPSSGTFNDV      660
                        *****

US20090205064A1_1      ITEGDGRIKY      670
US20170369899A1_4      ITEGDGRIKY      670
                        *****

```

Figura 1. Alineamiento múltiple entre la SEQ ID NO: 4 de la solicitud (US20170369899) y la SEQ ID NO: 1 del documento D2 (US20090205064).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 6 y el método divulgado en D2 consiste en que la célula vegetal transformada es de *Manihot esculenta* y la sustitución de la posición 376 es de ácido aspártico a alanina.

El efecto que se logra al transformar una célula vegetal de *Manihot esculenta* con un gen de AHAS que codifica una proteína que comprende una sustitución de ácido aspártico a alanina en la posición 376 es conferir resistencia a herbicidas de imidazolinona (Fig. 7 y Figs. 8A-8B) a las plantas de mandioca.

(...)

Sin embargo, transformar plantas de mandioca para conferir resistencia a herbicidas, ya está divulgado en el documento D1 que se refiere a la transformación de plantas de *Manihot esculenta* (Pág. 17, Párr. [0089]) con un gen de AHAS mutante (Pág. 18, Párr. [0099]). El

documento menciona que una de las sustituciones que confieren resistencia es la sustitución de ácido aspártico a alanina en la posición 376 (Pág. 21, Tabla 11).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia, estaría motivada a transformar una planta de mandioca con un gen de AHAS que comprende una sustitución de ácido aspártico a alanina en la posición 376 como lo sugiere el documento D1 utilizando el método divulgado en D2, para así llegar al objeto de la reivindicación 6. Por lo cual se considera obvia.”

4. Argumentos a favor del nivel inventivo de la invención

4.1. La Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitido por la Superintendencia de Industria y Comercio, Delegatura para la Propiedad Industrial, Dirección de Nuevas Creaciones, establece con respecto al requisito de nivel inventivo, lo siguiente:

*“Si el estado de la técnica provee las enseñanzas para derivar la solución, revisar si el conjunto de enseñanzas del estado de la técnica lo llevarían de forma inmediata a la solución propuesta por la solicitud. **Si se requiere de pasos adicionales o de corroboración o de superar obstáculos revelados por las propias enseñanzas entonces el estado de la técnica no revela la solución al problema.**” (Subrayado fuera de texto)¹*

Frente a esto, se evidencia que el nivel inventivo es afectado siempre y cuando el invento se obtenga de manera obvia a partir de documentos del estado de la técnica, por lo cual, los documentos D1 y D2 citados por la Examinadora, no son pertinentes para desvirtuar el nivel inventivo la presente solicitud, dado que no llevan evidentemente hacia la solución propuesta por la invención como se explicará a continuación.

4.2. Las solicitantes desean empezar aclarando que no hay ningún documento en el estado de la técnica que demuestre que se han secuenciado los genes AHAS de *Manihot esculenta*. Por dicha razón, las solicitantes han decidido incluir las características de la reivindicación 4 en las reivindicaciones objetadas 1 y 6, es decir, hacer referencia a una variación de ácido aspártico a alanina en la posición 364 de la SEQ ID NO: 1, la cual corresponde directamente a la secuencia de Cassava y está debidamente soportada en el listado de secuencias y en las páginas 6 a 9 de la descripción. Por lo tanto, se elimina la reivindicación dependiente 4 y se remueve la referencia de *Arabidopsis thaliana* en las reivindicaciones independientes 1 y 6.

Teniendo en cuenta los cambios presentados, también cabe resaltar que la secuencia de Cassava no se menciona ni se divulga en ninguno de los documentos citados del arte previo a la presente solicitud. A pesar de que D1 haga mención de *Manihot esculenta* como una posible extensión de la invención que se divulga, este documento centra su atención en obtener una planta o parte de planta que comprende un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido citocromo P450, cuya expresión confiere a la

¹Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitido por la Superintendencia de Industria y Comercio, Delegatura para la Propiedad Industrial, Dirección de Nuevas Creaciones. Año 2011. Página 119.

planta o tolerancia de parte de planta al saflufenacilo, en donde el polipéptido es un polipéptido Brachypodium CYP450, un polipéptido CYP72A15 o una isoforma de CYP81A o CYP73A (reivindicación 1 en D1). Por otro lado, si bien es cierto que la tabla 11 hace mención de una posible sustitución de ácido aspártico en la posición 376, el documento no resalta la importancia de que dicha sustitución sea de ácido aspártico a alanina, al menos no de manera explícita. De hecho, la nomenclatura en dicha tabla muestra exactamente una sustitución D376X, siendo X cualquier aminoácido. Entre las sustituciones preferidas se encuentran ácido glutámico, valina y la asparagina. Si bien se hace mención de alanina como una de las sustituciones, esta no se destaca de manera relevante en el documento y de hecho, se encuentra casi al final de la lista de dichas sustituciones. Bajo esta perspectiva, la elección de una sustitución de ácido aspártico a alanina en la presente solicitud no corresponde al producto de una obviedad directamente obtenida del estado de la técnica.

4.3. Por otra parte, el documento D2 se enfoca principalmente en estudios con plantas de la familia *Brassica*, tal como la canola (incluyendo sus células y semillas), pero nunca se hace mención de la familia *Euphorbiaceae*, específicamente a la especie mandioca (*Manihot esculenta*), por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no consideraría realizar una mutación D376A según la numeración de referencia *Arabidopsis thaliana* para modificar genes AHAS de Cassava siguiendo las enseñanzas de D2. Aun en el caso hipotético que una persona normalmente versada en la materia llevara a cabo la mutación D376A del documento D1 en una planta, se vería motivada a realizar dicha mutación en *Brassica* y no en una planta de la familia *Euphorbiaceae*.

Incluso en el escenario de que se considerara transformar una planta de *Manihot esculenta*, la mutación de ácido aspártico a alanina en la posición 364 de una secuencia de genes AHAS de Cassava no se menciona en ningún documento del estado del arte, por lo cual sería necesario realizar pasos adicionales para superar los obstáculos revelados por el estado de la técnica, que no se obtienen de manera obvia para lograr lo que propone la presente solicitud.

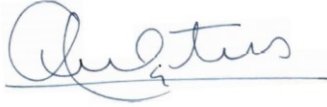
4.4. Adicionalmente, se reitera a la Examinadora que la metodología de presente solicitud divulga tecnologías innovadoras a través de la descripción, entre las cuales se resaltan la tecnología RTDS, un proceso no-transgénico que usa el sistema de reparación de genes de la propia célula para modificar genéticamente la secuencia *in situ*, sin la necesidad de insertar ADN externo, y los métodos TALEN y CRISPR para incrementar la eficiencia de la modificación genética dirigida.

4.5. En conclusión, con los cambios realizados a la reivindicación 1, la variación D364A en la secuencia de Cassava (SEQ ID NO: 1) no se obtiene de manera evidente a partir de las enseñanzas de los documentos D1 y D2 citados por la Examinadora, dado que en ninguno de los documentos se hace referencia hacia dicha secuencia específica y tampoco de dicha sustitución. La presente invención comprende ventajas sobre los documentos D1 y D2 al proveer una solución mejorada de proporcionar una forma activa de una secuencia del gen AHAS de *Manihot esculenta*, lo cual se logra a través de un extenso proyecto de investigación, y no mediante una obviedad. Por ende, la solicitud se puede afirmar que la solicitud cumple con el requisito de nivel inventivo.

5. Como respuesta a este requerimiento, las solicitantes presentan el pago de un segundo examen de patentabilidad por medio de complemento de información.

6. Solicito de manera respetuosa se otorgue el privilegio de patente de invención a este nuevo invento, dado que cumple con los requisitos de patentabilidad establecidos en la Decisión 486.

Atentamente,



ANDREA TOBOS MATEUS
C.C. 52.223.325 de Bogotá
T.P. 148648

15100110co_memorialexamenfondo_070520