

JW

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

To:

Schiweck Weinzierl Koch
Patentanwälte Partnerschaft mbB
Ganghoferstraße 68 B
80339 München
ALLEMAGNE

EINGEGANGEN

08. Dez. 2020

Schiweck Weinzierl Koch
VF: F:

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
REPORT ON PATENTABILITY

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

08.12.2020

Applicant's or agent's file reference
ERB16135PCT

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/EP2019/070434

International filing date (day/month/year)
30.07.2019

Priority date (day/month/year)
31.07.2018

Applicant
Erber Aktiengesellschaft

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary report on patentability and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. **REMINDER**

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the international application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary report on patentability. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Papiol Rovira, M

Tel. +49 89 2399-7199



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference ERB16135PCT	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/EP2019/070434	International filing date (day/month/year) 30.07.2019	Priority date (day/month/year) 31.07.2018	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C12N15/10			
Applicant Erber Aktiengesellschaft			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ (sent to the applicant and to the International Bureau) a total of <u>13</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4bis, 70.2(e), 70.16 and 91.2). ☐ superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)). b. ☐ (sent to the International Bureau only) a total of (indicate type and number of electronic carrier(s)) , containing a sequence listing, in the form of an Annex C/ST.25 text file, as indicated in the Supplemental Box Relating to Sequence Listing (see paragraph 3ter of Annex C of the Administrative Instructions).			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 17.04.2020		Date of completion of this report 08.12.2020	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel.: +49 89 2399 - 0 Fax: +49 89 2399 - 4465		Authorized officer Voigt-Ritzer, Heike Telephone No. +49 89 2399-7187 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2019/070434

Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a) and (b))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on (*replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report*):

Description, Pages

1-48 as originally filed

Sequence listings, SEQ ID NO

1-11 as originally filed

Claims, Numbers

1-15 filed with the letter of

27-07-2020

Drawings, Sheets

1/11-11/11 as originally filed

- ☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2019/070434

5. ☐ This report has been established:
- ☐ taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-bis) and 70.2(e)).
 - ☐ without taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91(Rules 66.4bis and 70.2(e)).
6. ☒ With regard to top-up searches (Rules 66.1 *ter* and 70.2(f)):
- ☒ A top-up search was carried out by this Authority on 30.10.2020 (all discovered documents are listed in the Supplemental Box Relating to Top-up Search).
 - ☐ Additional relevant documents have been discovered during the top-up search.
 - ☐ No top-up search was carried out by this Authority because it would serve no useful purpose.
7. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded".

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-15</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-7, 9, 11</u>
	No: Claims	<u>8, 10, 12-15</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-15</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT
ON PATENTABILITY**

International application No.
PCT/EP2019/070434

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search and/or examination:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
 - d. ☐ furnished to this Authority as an amendment* under PCT Article 34 on :
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file, and preferably identified as "Amended" at the first line of text.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

* *If item 4 in Box No. I applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."*

Reference is made to the following document:

D1 WO 2015/027258 A2 (ERBER AG [AT]) 5 March 2015 (2015-03-05)

The amended set of claims and the arguments submitted by the applicant in the letter dated 27.7.2020 were carefully considered.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1 Novelty

Claims 1-15 are considered new in the sense of Article 33(2) PCT.

2 Inventive step

D1 relates to the field of α/β hydrolases. Several α/β hydrolases are compared for zearalenone hydrolysing activity, temperature stability (Beispiel 9, page 39) and pH stability (Beispiel 11, page 40).

Example 6, Table 7, discloses the use of *Streptomyces coelicoflavus* hydrolase (encoded by Seq ID No:6 which corresponds to Seq ID No:1 of the present application) for hydrolysing zearalenone.

The problem to be solved in light of D1 is the provision of alternative means for the hydrolysis of zearalenone.

The solution provided by the present application is the provision of variants of *Streptomyces coelicoflavus* hydrolase (Seq ID No:1) with increased stability due to substitutions in the CAP domain.

Now, in order to acknowledge that the problem underlying the claimed subject matter has been solved it has to be credible that the effect for which inventive step is acknowledged is achieved by substantially all claimed embodiments.

The structure of the hydrolase variants of claims 8 and 10 is partially undefined and the functional limitation only concerns a more negative GRAVY value.

The application discloses some specific mutants with decreased GRVY value and increased stability - however, no causative correlation is shown or rendered plausible. It is not plausible that variants with decreased GRAVY and undefined mutation all solve the problem of providing α/β hydrolases with increased stability. The specific technical effect (increased stability) can only be taken into account when assessing inventive step, if it is evident that the claimed subject matter indeed achieves such technical effect and thereby solves the problem underlying the invention. As pointed out before, it is not plausible that all variants falling within the scope of claim 8 and 10 solve the problem of providing a variant with increased stability. Especially in the field of enzymology it is known that a single amino acid substitution can have a dramatic effect on the enzymes activity, stability or substrate specificity.

Those variants which lack an increased stability are considered arbitrarily selected variants for which inventive step cannot be acknowledged. The subject-matter of claims 8 and 10 therefore is not considered as involving inventive step in the sense of Article 33(3) PCT over the entire claim scope.

Subject-matter dependent claims 12-15 which relate to a composition or kit comprising the enzyme as well as to its use in degrading zearalenone or in treating a disease are rendered obvious by D1, contrary to Article 33(3) PCT. D1, page 13, lines 31-35 discloses the use of α/β hydrolases as food additive and the paragraph bridging page 16-17 suggest their medical use.

The subject-matter of claims 1-7, 9, 11 is considered to satisfy the requirements of inventive step according to Article 33(3) PCT.

Schiweck Weinzierl Koch

, life science

Schiweck Weinzierl Koch, *life science* Ganghoferstraße 68 B 80339 München

European Patent Office

80298 Munich

Munich, 27 July 2020

Schiweck Weinzierl Koch
Patentanwälte Partnerschaft
mbB
Ganghoferstraße 68 B
D-80339 München

Phone: +49 (89) 1894769- 0
Fax: +49 (89) 1894769- 22
E-Mail: info@ip-matters.de
www.ip-matters.de

Dr. Wolfram Schiweck^{1, 2, 3, 4}
Dr. Gerhard Weinzierl^{1, 2, 3, 4}
Dr. Andreas Koch^{1, 2, 3, 4}
Dr. Hilary Pioro^{2, 3, 4, 5}
Dr. Dirk Spiegl^{2, 3, 4}
Borys Hagemann^{2, 3, 4}
Dr. Susanne Manetto^{2, 3}
Dr. Gwendolyn Behrendt^{2, 3}
Dr. Lars Michaelis²
Dr. Boqiao Sun^{2, 3, 4}
Dr. Tanja Mogalle-Meierhofer^{2, 4}

International Patent Application No. PCT/EP2019/070434

Title: "MEANS AND METHODS FOR CLEAVAGE OF ZEARELENONE"

Applicant: Erber Aktiengesellschaft

Our Ref.: ERB16135PCT

In Response to the Written Opinion of the International Preliminary Examining Authority pursuant to Rule 66 PCT dated 25 May 2020:

1. Filed documents/Requests

- 1.1. A new set of claims 1-15 is submitted herewith in a clean and marked-up form and it is requested to continue the examination proceedings based on these newly filed claims.
- 1.2. If further concerns about the patentability remain, the Examiner is kindly asked to issue a further Written Opinion pursuant to Rule 66 PCT.

2. Claim amendments

New claims correspond to the original claims which have been amended as follows:

- **New claims 1-3, 9** corresponding to the previous claims 1-3, 9 and are unamended;
- **New claims 4, 5, 6, 11-15** corresponding to the previous claims 4, 5, 6, 11-15 have been amended to delete references to "any one of the preceding claims" and instead have been further clarified to recite the actual numbers of the preceding claims. Support: previous claims 1-15;
- **New claim 7** corresponding to the previous claim 7 has been amended by adding a limiting structural feature "wherein the α/β -hydrolase has 95 % or more sequence identity to a

¹ Gesellschafter

² Deutsche/r Patentanwält/in

³ European Patent Attorney

⁴ European Trademark Attorney

⁵ US Patent Agent

sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 to the claim language. Support: previous claims 1-7 and throughout the application as originally filed, e.g., paragraphs [0051, 0040, 0036, 0047-0050, 0054];

- **New claim 8** corresponding to the previous claim 8 has been amended by limiting the claimed subject matter to a hydrolase having at least **95%** sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1. Support: previous claims 1-8 and throughout the application as originally filed, e.g., paragraphs [0051, 0011, 0013];
- **New claim 10** corresponding to the previous claim 10 has been amended as follows: it has been limited to a hydrolase having at least **99%** sequence identity to a sequence corresponding to positions 161 to 235 of SEQ ID NO: 6. Support: previous claims 1-10 and throughout the application as originally filed, e.g., paragraphs [0050-0051].

3. Comments with respect to Patentability (Item V)

3.1. Novelty of the new claims

We respectfully submit that new claims 1-15 submitted herewith overcome the Examiner's objections raised in the IPEA of May 25, 2020 and requests that the arguments provided herewith be considered by the Examiner, e.g., in a **further Written Opinion pursuant to Rule 66 PCT**. In detail:

- In item 1.1 of the WO-IPEA the Examiner is of the opinion that since the structure of the hydrolase obtained by the method of claim 1 is undefined in claim 7 D2 and D3 sequences comprising G185R and V160A substitutions respectively are novelty-destroying for the claim 7. In item 1.2 of the WO-IPEA the Examiner is of the opinion that since D1 discloses the D3 sequence and its activity in hydrolysing zearalenone D1 is novelty-destroying for claims 7, 12-15.

In response we respectfully submit that the new claim 7 has been structurally limited to the α/β -hydrolase having 95 % or more sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1. Accordingly, the prior art sequences D2 (having 79.7% identity with the sequence 145 to 218 of SEQ ID NO: 1), D3 (having 61.3% identity with the sequence 145 to 218 of SEQ ID NO: 1) and D1 (disclosing D3) do not satisfy the new claim 7 requirement of the minimum sequence identity of 95% (corresponding fragments of D2, D3 sequences are aligned with the sequence 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 below for the Examiner's convenience). Accordingly, new claims 7 and 12-15 are novel over D1/D2/D3 sequences.

```

# Aligned_sequences: 2
# 1: SEQ1-145-218
# 2: D2-144-217
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 74
# Identity:      59/74 (79.7%)
# Similarity:    65/74 (87.8%)
# Gaps:          0/74 ( 0.0%)
# Score: 324.0
#
#
=====
SEQ1-145-218      1 LVPAGHGSVRQGAGPVFELFRTYLGQWSVGDWEGFCRAAGASASPMARS      50
                  !!...!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!
D2-144-217        1 LVTTGHSVRQGAGHLFELFRTYLGQWSVGDWEGYCAAARASSSQMARF      50
                  !!...!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!

SEQ1-145-218      51 FVADGIPQHLQEYDFEWARVFYEG      74
                  !!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!
D2-144-217        51 FVADEIPQHMKEYDFEWARAFWEG      74
                  !!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!

#
# Aligned_sequences: 2
# 1: SEQ1-145-218
# 2: D3-161-235
# Matrix: EBLOSUM62
# Gap_penalty: 10.0
# Extend_penalty: 0.5
#
# Length: 75
# Identity:      46/75 (61.3%)
# Similarity:    56/75 (74.7%)
# Gaps:          1/75 ( 1.3%)
# Score: 254.0
#
#
=====
SEQ1-145-218      1 LVPAGHGSVRQGAGPVFELFRTYLGQWSVGDWEGFCRAAGASASPMARS      50
                  !!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!
D3-161-235        1 LVPAYGHSVLQAAGPAFELYRDFLGQWSIGDWKGFVEAAKASPAKAMQL      50
                  !!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!

SEQ1-145-218      51 F-VADGIPQHLQEYDFEWARVFYEG      74
                  !...!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!
D3-161-235        51 FFTPDEAFQNLKEYDFEWGRAFFEG      75
                  !...!!!!!!::!!!!!!::!!!!!!

```

- In item 1.3 of the WO-IPEA the Examiner is of the opinion that the fragment of SEQ ID NO: 3 of D1 corresponding to the polypeptide sequence 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 of the pending invention has a 91% sequence identity and comprises the Q205K substitution and is therefore novelty-destroying for claims 8, 11-15.

In response we respectfully submit that the new claim 8 has been structurally limited to the α/β -hydrolase having 95 % or more sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1. Accordingly, the corresponding fragment of the SEQ ID NO: 3 of D1 does not satisfy the new claim 8 requirement of the minimum sequence identity of 95% (sequence alignment is copied below for the Examiner's convenience). Accordingly, new claims 8 and 11-15 are novel over polypeptide 145-218 of the SEQ ID NO: 3 of D1.

- In item 1.4 of the WO-IPEA the Examiner acknowledges the novelty of claim 9.
We agree with the Examiner.
- In item 1.5 of the WO-IPEA the Examiner seems to be of the opinion that the fragment of SEQ ID NO: 1 of D1 comprising I190V substitution and corresponding to the polypeptide sequence 161 to 235 of SEQ ID NO: 6 of the pending invention has a 98% sequence identity and is therefore novelty-destroying for claim 10.

3.2 Inventive step of the new claims

- In response we respectfully disagree with the Examiner and submit that the **burden of proof lies initially with the Examiner** and that such an inventive step objection based on credibility over the whole breadth of claims objection **must be reasoned, substantiated**, and based on

the **balance of probabilities** (cf. Guidelines for Search and Examination at the EPO as PCT Authority: 11. "Arguments and evidence submitted by the applicant" https://www.epo.org/law-practice/legal-texts/html/guidelinespct/e/g_vii_11.htm; cf. EPO Guidelines for Examination: G-IV, 7.5.3 "Burden of proof"; C-III, 4.1.1 "Reasoned objections"; F-III, 4. "Burden of proof as regards the possibility of performing and repeating the invention") which has not been done in the present case, where the credibility of the invention over the whole breadth of claims is simply questioned without substantiating serious doubts. This view is also supported by the EPO's established case law, e.g.,

T 0019/90 (Onco-Mouse), item 3.3 of the Reasons (with emphasis added):

*"However, the mere fact that a claim is broad is not in itself a ground for considering the application as not complying with the requirement for sufficient disclosure under Article 83 EPC. **Only if there are serious doubts, substantiated by verifiable facts, may an application be objected to for lack of sufficient disclosure.**"*

T 0247/11 (Roasted cocoa beans/NESTEC), item 23 of the Reasons (with emphasis added):

*"As shown by the examples in the patent, the use of roasted cocoa beans and chocolate as starting material solve this problem. The arguments put forward by the appellant to substantiate its objection that the technical problem is not solved over the whole breadth of the claims are essentially the same as those put forward under Article 83 EPC (cf. point XIII supra), and have been dealt with by the board under this article (cf. points 13 to 16 supra). **In the absence of cogent arguments to the contrary, the technical problem is thus considered to be solved over the whole scope of the claims.**"*

T 2101/09 (Human Delta3 - Notch/MILLENNIUM), item 13 et seq. of the Reasons (with emphasis added):

*"13. **It is common practice in the field of biotechnology that claims in patents/patent applications related to a novel and inventive (nucleic acid, amino acid) sequence are not required to be limited to a very specific sequence but may also embrace molecules having a certain degree of homology and/or identity to this specific sequence. The degree of homology/identity accepted depends on the relevant prior art and the particular circumstances of each individual case.** This practice allows patentees/applicants to protect their inventions against arbitrary modifications of the specific sequences. **The reference to at least 95% identity in claims 1 and 5 is in line with this practice.** Moreover, the wording of these claims ("... whose ... sequence is at least 95% identical to the ... sequence..."; underlined by the board) requires a degree of identity over the full-length of the sequence and not over short, arbitrary fragments thereof [...]*

*14. **In some cases, it might be necessary to further limit the scope of a claim referring to such group of molecules either by increasing the degree of identity and/or homology or by requiring the indication of further technical properties, such a specific activity, effect, etc.** None of these additional limitations is present in claims*

1 and 5. In particular, there is no limitation to polypeptides - or to nucleic acid molecules encoding them - that specifically bind to a Notch polypeptide.

16. In view of the close structural (at least 95%) identity of the group of molecules of claims 1 and 5 and their low degree of identity to the closest structurally related molecules, i.e. other human delta proteins (cf. page 8, Table 1 of the patent; Maximum 54% identity), there are no serious doubts (let alone substantiated by verifiable facts; cf. T 19/90, supra) that they can be used in at least one of the several biological activities contemplated in paragraph [0056] of the patent-in-suit.

Notwithstanding the above, the scope of the new claims has been narrowed down and therefore we respectfully submit that the new claims are credibly inventive over the whole area claimed. In detail:

- claims 7-12 are limited to closely related polypeptide sequences with a very high degree of structural identity, i.e., at least 95% (new claims 7-8), at least 99% (new claim 10) or at least 80% (claim 9);
- claims 7-12 all recite the functional limitation of being α/β -hydrolases; as disclosed in paragraphs [0028]-[0030] of the application as filed, it was surprisingly found, that an α/β -hydrolase comprising a mutation in a specific region, namely the cap-domain and more particularly the CAP-loop, makes these hydrolases specifically stable. The reason for this is presumably that this region is particularly flexible, which flexibility might be negative for the stability of the hydrolases. Therefore, there is not a random mutagenesis taking place in the present invention. Rather, only a specific region, which has been shown to be particularly important for the stability of the hydrolases is mutated. Therefore, what is done here is not random, but highly specific mutagenesis in a very specific region of the hydrolases particularly susceptible for the stability of the hydrolases.
- representative examples of the claimed variants/properties/activities (i.e., increased stability) within the claimed scope are provided in the application as originally filed, e.g., example 3 [00172 et seq., Figure 2] and example 5 [00190 et seq., Figure 3].

Based on the above, we respectfully submit that there are no serious doubts (let alone substantiated by verifiable facts) that the claimed invention is inventive and enabled over the whole breadth of new claims and that the claimed subject matter is inventive enabled over the whole breadth of new claims. Based on the above, new claims are inventive.

4. Comments with respect to Certain defects in the international application (Item VII)

- In item VII of the WO-IPEA the Examiner objects to plausibility of the claim 1 reciting both hydrophathy index and increased enzyme stability.

In response we respectfully disagree with the Examiner and submit that claim 1 is limited to closely related polypeptide sequences with a very high degree of structural identity of at

least 80%, wherein representative examples of the claimed methods/variants with claimed improved properties/activities (i.e., increased stability) within the claimed scope are provided in the application as originally filed, e.g., example 3 [00172 et seq., Figure 2] and example 5 [00190 et seq., Figure 3]. Accordingly, there are no serious doubts (let alone substantiated by verifiable facts) that the claimed invention plausibly enabled/claimed over the whole breadth of the new claims, e.g., as supported by **T 0578/06**, items 12 et seq. of the Reasons (with emphasis added):

*[...] “**The board notes that neither in its decision nor during the prosecution of the application has the examining division produced arguments which could discredit the plausibility of the claimed invention. Also the board sees no reasons to doubt the usefulness of somatostatin to attain the claimed effect.**”*

*13. The board notes that the **EPC requires no experimental proof for patentability and considers that the disclosure of experimental data or results in the application as filed and/or post-published evidence is not always required to establish that the claimed subject-matter solves the objective technical problem. This is in particular true in the absence of any formulated substantiated doubt as is the case here.**”*

Based on the above we respectfully submit that the new claims including their respective technical effects are plausible.

5. Comments with respect to Certain observations on the international application (Item VIII)

- In item VIII of the WO-IPEA the Examiner objects to clarity of claim 5, 11 based on the use of the “preceding” claim dependency language as well as to the recitation of F183Y/V197C substitution/s with reference to SEQ ID NO: 1 and P190H substitution with reference to SEQ ID NO 6.

In response we respectfully submit that new claims are clear and concise and the Examiner’s objections have been rendered moot. In detail: references to “any one of the preceding claims” have been deleted and the actual numbers of the preceding claims have been recited in the new claims. Furthermore, new claim 5 depending from the method of claims 1-4, wherein claim 1 referring to positions corresponding to positions in SEQ ID NO: 6 comprising F183 and V197, therefore F183Y/V197C substitutions are possible in said positions. New claim 11 depending from hydrolases of claims 7-10, wherein claim 9 referring to positions corresponding to positions SEQ ID NO: 5 comprising P190, therefore P190H substitution is possible in said position. Based on the above, references to F183Y/V197C/P190H are instantly clear to a person skilled in the art and the new claims are clear and concise.

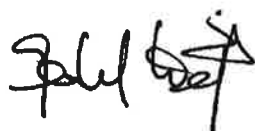
6. Conclusion

- We trust the above will address any concerns the International Preliminary Examining authority may have had over patentability of the claims of this application. We look forward

to receipt of an International Preliminary Examination Report (IPRP) (Chapter II) which is positive for all claims.

- The Examiner is also kindly invited to contact us by telephone or by email should clarification be required on any matter.

With kind regards



Dr. Gerhard Weinzierl
European Patent Attorney

Encl.:

- New claims 1-15 (clean and marked copy)

Patent application No. PCT/EP2019/070434

Applicant: Erber Aktiengesellschaft

our ref.: ERB16135PCT

Date: 27 July 2020

New Claims (clean)

1. A method for increasing the stability of an α/β -hydrolase, which α/β -hydrolase comprises a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 or a sequence having 80 % or more sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1, comprising

substituting at least one amino acid
 - at a position corresponding to position 160 to 205 of SEQ ID NO: 1, or
 - at a position corresponding to position 159 to 204 of SEQ ID NO: 2, or
 - at a position corresponding to position 160 to 205 of SEQ ID NO: 3, 4, or 5, or
 - at a position corresponding to position 176 to 222 of SEQ ID NO: 6,
wherein the amino acid(s) are substituted with an amino acid, which has a more negative hydropathy index than the substituted amino acid,
wherein the hydropathy index is determined by the Kyte and Doolittle hydropathy index,

thereby obtaining an α/β -hydrolase with increased stability compared to the α/β -hydrolase before substituting said amino acid(s).
2. The method of claim 1, wherein the method comprises substituting at least one amino acid
 - at a position corresponding to position 185 to 191 of SEQ ID NO: 1, and/or
 - at a position corresponding to position 184 to 190 of SEQ ID NO: 2 and/or
 - at a position corresponding to position 185 to 191 of SEQ ID NO: 3, 4 or 5 and/or
 - at a position corresponding to position 201 to 208 of SEQ ID NO: 6.

3. The method of claim 1 or 2, wherein the amino acid(s) are substituted with an amino acid selected from R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T, G, A, M, C, F, L or V, preferably the amino acid is selected from R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T or G, more preferably R, K, N, Q, D, E, H or P.
4. The method of claims 1-3, wherein the amino acid(s) are substituted with an amino acid selected from R, D, H, G, N or P, preferably R, D, H, G or N, more preferably the amino acid is selected from R or N.
5. The method of claims 1-4, wherein the amino acid substitution is selected from one or more of V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N, Q→K, F→Y and/or V→C, preferably the amino acid substitution is selected from one or more of V160A, G185R, G185S, A186P, A186R, A188D, A188H, A188N, A188G, A188R, S189D, P190H, M191D, G199E, I200A, I200V, H203N, Q205K, F183Y and/or V197C, more preferably the amino acid substitution is selected from G185R, A186R, A188R, A188D, A188H, A188N and/or M191D.
6. The method of claims 1-5, wherein the increased stability is a decrease in GRAVY value, an increase in pH stability and/or an increase in temperature stability.
7. An α/β -hydrolase obtainable by the method of any one of claims 4, 5 or 6, wherein the α/β -hydrolase has 95 % or more sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1.
8. An α/β -hydrolase having a polypeptide sequence comprising a sequence

corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 or a sequence having more than 95 % sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1,

wherein the polypeptide sequence comprises at least one amino acid substitution

- at a position corresponding to position 160 to 205 of SEQ ID NO: 1, or
 - at a position corresponding to position 159 to 204 of SEQ ID NO: 2, or
 - at a position corresponding to position 160 to 205 of SEQ ID NO: 3, 4 or 5,
- or
- at a position corresponding to position 176 to 222 of SEQ ID NO: 6,

wherein the α/β -hydrolase has a more negative GRAVY value of at least 0.6 % compared to the GRAVY value of an α/β -hydrolase having a polypeptide sequence of SEQ ID NO: 1.

9. An α/β -hydrolase having a polypeptide sequence comprising a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1 or a sequence having more than 80 % sequence identity to a sequence corresponding to positions 145 to 218 of SEQ ID NO: 1,

wherein the polypeptide sequence comprises at least one amino acid substitution

- at a position corresponding to position 185 to 191 of SEQ ID NO: 1, or
 - at a position corresponding to position 184 to 190 of SEQ ID NO: 2 or
 - at a position corresponding to a position 185 to 191 of SEQ ID NO: 3, 4 or 5,
- or
- at a position corresponding to a position of 201 to 208 of SEQ ID NO: 6,

wherein the amino acid substitution is selected from V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N and Q→K and/or

wherein the amino acid(s) are substituted with an amino acid selected from P, R, D, H, G or N, preferably the amino acid is selected from R, D, H, G or N, more preferably the amino acid is selected from R or N, wherein the α/β -hydrolase has an increased stability compared to a α/β -hydrolase before substituting said amino acid(s).

10. An α/β -hydrolase having a polypeptide sequence comprising a sequence corresponding to positions 161 to 235 of SEQ ID NO: 6 or a sequence having more than 99 % sequence identity to a sequence corresponding to positions 161 to 235 of SEQ ID NO: 6,

wherein the polypeptide sequence comprises at least one amino acid substitution

- at a position corresponding to position 176 to 222 of SEQ ID NO: 6,

wherein the α/β -hydrolase has a more negative GRAVY value of at least 0.6 % compared to the GRAVY value of an α/β -hydrolase having a polypeptide sequence of SEQ ID NO: 6.

11. The α/β -hydrolase of claims 7-10, wherein the α/β -hydrolase comprises the amino acid(s) substitutions
- G→R and A→N, preferably G185R and A188N;
 - G→S and A→R, preferably G185S and A188R;
 - G→R, A→R, A→H, S→D, P→H and M→D, preferably G185R, A186R, A188H, S189D, P190H and M191D;
 - V→A, G→R, A→N, G→E, I→A, H→N and Q→K, preferably V160A, G185R, A188N, G199E, I200A, H203N and Q205K;
 - V→A, G→S, A→R, G→E, I→A, H→N and Q→K, preferably V160A, G185S, A188R, G199E, I200A, H203N and Q205K;
 - V→A, G→E, I→A, H→N and Q→K, preferably V160A, G199E, I200A,

H203N and Q205K

- V→A, G→R, A→R, A→H, G→E, I→V, H→N and Q→K, preferably V160A, G185R, A186R, A188H, G199E, I200V, H203N and Q205K;

- V→A, G→R, A→R, A→H, S→D, P→H, M→D, G→E, I→V, H→N and Q→K, preferably V160A, G185R, A186R, A188H, S189D, P190H, M191D, G199E, I200V, H203N and Q205K and/or

F→Y and V→C, preferably F183Y and V197C.

12. A use of an α/β -hydrolase of claims 7-11 for degrading zearalenone (ZEN).
13. A composition comprising an α/β -hydrolase of claims 7-11, preferably the composition is a food or feed additive or a food or feed product.
14. The α/β -hydrolase of claims 7-11 or the composition of claim 13 for use in the treatment or prophylaxis of a disease.
15. Kit comprising the α/β -hydrolase of claims 7-11 or 14 or the composition of claims 13-14.

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

De la
AUTORIDAD INTERNACIONAL ENCARGADA DEL EXAMEN PRELIMINAR

Para:

Schiweck Weinzierl Koch
Patentanwälte Partnerschaft mbB
Ganghoferstraße 68 B
80339 München
ALEMANIA

[Stamp: RECIBIDO
DIC 08 2020
Schiweck Weinzierl Koch
VF: F.]

PCT

NOTIFICACIÓN DE TRANSMISIÓN DEL INFORME INTERNACIONAL PRELIMINAR SOBRE PATENTABILIDAD

(Regla 71.1 del PCT)

Fecha de envío
(día/mes/año) 08.12.2020

Referencia del expediente del solicitante o del agente
ERB16135PCT

NOTIFICACIÓN IMPORTANTE

La solicitud internacional No.
PCT/EP2019/07434

Fecha de presentación internacional (día/mes/año)
30.07.2019

Fecha de prioridad (día/mes/año)
31.07.2018

Solicitante
Erber Aktiengesellschaft

1. El solicitante por la presente es notificado que esta Autoridad Internacional Encargada del Examen Preliminar transmite a continuación el informe internacional preliminar sobre la patentabilidad y sus anexos, si los hay, sobre la solicitud internacional.
2. Una copia del informe y sus anexos, si los hay, se transmite a la Oficina Internacional para su comunicación a todas las Oficinas elegidas.
3. Cuando sea requerido por cualquiera de las Oficinas elegidas, la Oficina Internacional preparará una traducción al inglés del informe (pero no de los anexos) y transmitirá dicha traducción a dichas Oficinas.

4. RECORDATORIO

El solicitante debe entrar en la fase nacional ante cada Oficina elegida mediante la realización de ciertos actos (presentación de traducciones y pago de las tasas nacionales) dentro de los 30 meses siguientes a la fecha de prioridad (o más tarde en algunas Oficinas) (Artículo 39(1)) (véase también el recordatorio enviado por la Oficina Internacional con el Formulario PCT/IB/301).

Cuando una traducción de la solicitud internacional deba presentarse a la Oficina elegida, esa traducción debe contener una traducción de los anexos del informe internacional preliminar sobre la patentabilidad. Es responsabilidad del solicitante preparar y presentar dicha traducción directamente a cada Oficina elegida correspondiente.

Para más detalles sobre los límites y requisitos de las Oficinas elegidas que sean de aplicación, consulte el Volumen II de la Guía del Solicitante PCT.

Se llama la atención del solicitante hacia el artículo 33(5), que establece que los criterios de novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial que se describen en el artículo 33(2) a (4) sólo servirán a los efectos del examen internacional preliminar y que "todo Estado Contratante pueden aplicar criterios adicionales o diferentes a los efectos de decidir si, en ese Estado, las invenciones reivindicadas son patentables o no" (véase también el Artículo 27(5)). Dichos criterios adicionales pueden referirse, por ejemplo, a las excepciones a la patentabilidad, los requisitos para la divulgación habilitante, la claridad y el soporte para las reivindicaciones.

Nombre y dirección postal de la autoridad
internacional encargada del examen preliminar:



Oficina Europea de Patentes
D-80298 München
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: 49 89 2399 - 4465

Oficial autorizado

Papiol Rovira, M

Tel. +49 89 2399-7199



TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES
PCT
INFORME INTERNACIONAL PRELIMINAR SOBRE PATENTABILIDAD
(Capítulo II del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes)

(PCT Artículo 36 y el Regla 70)

Referencia del expediente del solicitante o del agente ERB16135PCT	PARA MÁS ACCIONES Véase formulario PCT/IPEA/416	
La solicitud internacional No. PCT/EP2019/07434	fecha de presentación internacional (<i>día/mes/año</i>) 30.07.2019	Fecha de prioridad (<i>día/mes/año</i>) 31.07.2018
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC INV. C12N15/10		
Solicitante Erber Aktiengesellschaft		
1. Este informe es el informe del examen internacional preliminar, establecido por esta Autoridad Internacional Encargada del Examen Internacional Preliminar en virtud del Artículo 35 y se transmite al solicitante de acuerdo con el Artículo 36. 2. Este INFORME consta de un total de <u>6</u> hojas, incluida ésta portada. Este informe también está acompañado por ANEXOS, que incluyen: a. ☒ (<i>enviado al solicitante y a la Oficina Internacional</i>) un total de <u>13</u> hojas, de la siguiente manera: ☒ hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o gráficas que han sido modificadas y/o hojas que contienen las rectificaciones autorizadas por esta Autoridad, a menos que dichas hojas fuesen sustituidas o canceladas, y las cartas adjuntas (véase las Reglas 46.5, 66.8, 70.16, 91.2 y la Sección 607 de las Instrucciones Administrativas). ☐ hojas que contienen rectificaciones, en las cuales esta Autoridad tomó la decisión de no tenerlas en cuenta porque no fueron autorizadas por a esta Autoridad ni notificadas a la misma en el momento en que esta Autoridad comenzó a elaborar este informe, y cualquier carta adjunta (Reglas 66.4bis, 70.2(e), 70.16 y 91.2). ☐ hojas reemplazadas y cartas adjuntas, en las cuales esta Autoridad considere que las hojas reemplazadas contienen una enmienda que va más allá de la divulgación contenida en la solicitud internacional tal como fue presentada, o las hojas reemplazadas no fueron acompañadas por una carta que indique las razones de las enmiendas en la solicitud presentada, tal como se indica en el punto 4 del Recuadro I y el Recuadro Suplementario (véase la Regla 70.16(b)). b. ☐ (<i>enviada únicamente a la Oficina Internacional</i>) un total de (indicar el tipo y número de envío(s) electrónico(s) , que contiene una lista de secuencias, en forma de un archivo de texto Anexo C/ST.25, tal como se indica en el Recuadro Suplementario Relativo a la Lista de Secuencias (véase el apartado 3ter del Anexo C de las Instrucciones Administrativas).		
3. Este informe contiene indicaciones relativas a los siguientes puntos: ☒ Recuadro No. I Base del informe ☐ Recuadro No. II Prioridad ☐ Recuadro No. III No establece una opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y aplicación industrial ☐ Recuadro No. IV Falta de unidad de invención ☒ Recuadro No. V Declaración de motivos según el Artículo 35(2) sobre novedad, actividad inventiva y aplicación industrial; citas y explicaciones que soportan dicha declaración ☐ Recuadro No. VI Ciertos documentos citados ☐ Recuadro No. VII Ciertos defectos de la solicitud internacional ☐ Recuadro No. VIII Observaciones relativas a la solicitud internacional		
Fecha de presentación de la demanda 17.04.2020	Fecha de finalización de este informe 08.12.2020	
Nombre y dirección postal de la autoridad internacional encargada del examen preliminar:  Oficina Europea de Patentes D-80298 Múnich Tel. +49 89 2399 - 0 Fax: 49 89 2399 - 4465	Oficial autorizado Voigt-Ritzer, Heike Teléfono no. +49 89 2399-7187 	

Recuadro No. I Base del Informe

1. Con respecto al **idioma**, el presente informe se basa en
- ☒ la solicitud internacional en el idioma en el que se presentó
 - ☐ una traducción de la solicitud internacional en , que es el idioma de una traducción proporcionada a los fines de:
 - ☐ búsqueda internacional (según las Reglas 12.3(a) y 23.1(b))
 - ☐ publicación de la solicitud internacional (según la Regla 12.4(a))
 - ☐ examen internacional preliminar (según las Reglas 55.2(a) y/o 55.3(a) y (b))
2. Con respecto a los **elementos*** de la solicitud internacional, este informe se basa en (*hojas reemplazadas que han sido proporcionadas a la Oficina receptora, en respuesta a una invitación de acuerdo con el Artículo 14 que se refieren en el presente informe como "presentadas originalmente" y que no se adjuntan de este informe*):

Descripción, Páginas

1-48 tal como se presentó originalmente

Reivindicaciones, Números

1-11 presentadas con el oficio de 27-07-2020

Gráficas, Hojas

1/11-11/11 tal como se presentó originalmente

- ☒ una lista de secuencias - véase el Recuadro Suplementario Relativo a la Lista de Secuencias.
3. ☐ Las enmiendas han dado lugar a la cancelación de:
- ☐ la descripción, páginas
 - ☐ las reivindicaciones, Nos.
 - ☐ las gráficas, hojas/figs.
 - ☐ la lista de secuencias (*especifique*):
4. ☐ Este informe se ha establecido como si (algunas de) las enmiendas adjuntas a este informe y enumeradas a continuación no hubiesen sido realizadas, ya que cualquiera de las mismas se considera como que va más allá de la divulgación tal como fue presentada, o que no estuvo acompañada por una carta que indique la base para las modificaciones en la solicitud presentada, tal como se indica en el Recuadro Suplementario (Reglas 70.2(c) y (c-bis)):
- ☐ la descripción, páginas
 - ☐ las reivindicaciones, Nos.
 - ☐ las gráficas, hojas/figs.
 - ☐ la lista de secuencias (*especifique*):

5. ☐ Este informe se ha establecido:
☐ teniendo en cuenta la **rectificación de un error evidente** autorizado por esta Autoridad o notificado a la misma según la Regla 91 (Reglas 66.1 (d-bis) y 70.2(e)).
☐ sin tener en cuenta la **rectificación de un error evidente** autorizado por esta Autoridad o notificado a la misma según la Regla 91 (Reglas 66.1 (d-bis) y 70.2(e)).
6. ☒ En cuanto al allanamiento de recarga (Reglas 66.1 y 70.2 ter (f)):
☒ Se llevó a cabo una búsqueda completa por parte de esta Autoridad el 30.10.2020 (todos los documentos descubiertos se enumeran en el Recuadro Suplementario Relativo a Búsqueda Completa).
☐ Se han descubierto documentos relevantes adicionales durante la búsqueda completa.
☐ No se llevó a cabo una búsqueda completa por parte de esta Autoridad.
7. ☐ El/los Informe(s) de búsqueda internacional suplementaria(s) de las Autoridad(es) ha/han sido recibidos y tenidos en cuenta para establecer este informe (Regla 45bis.8(b) y (c)).

* Si el punto 4 aplica, alguna o todas las hojas pueden marcarse como "reemplazada."

Recuadro No. V Declaración de motivos según el Artículo 35(2) relacionado con la novedad, la actividad inventiva y aplicabilidad industrial; citas y explicaciones de soporte para dichas declaraciones

1. Declaración

Novedad (N)	Sí:	Reivindicaciones	<u>1-15</u>
	No:	Reivindicaciones	
Actividad inventiva (IS)	Sí:	Reivindicaciones	<u>1-7, 9, 11</u>
	No:	Reivindicaciones	<u>8, 10, 12-15</u>
Aplicabilidad industrial (IA)	Sí:	Reivindicaciones	<u>1-15</u>
	No:	Reivindicaciones	

2. Citas y explicaciones (Regla 70.7):

véase hoja separada

Recuadro Suplementario Relacionada con la Lista de Secuencias

Continuación del Recuadro I, punto 2:

1. Con respecto a toda secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos dada a conocer en la solicitud internacional y necesaria para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido basándose en una lista de secuencias:
 - a. ☒ hace parte de una solicitud internacional tal como se presentó:
 - ☒ en forma de un archivo de texto anexo C/ST.25
 - ☐ en papel o en forma de un archivo de imagen
 - b. ☐ proporcionado junto a la solicitud internacional bajo la Regla PCT 13ter.1(a) para los propósitos de la búsqueda internacional únicamente en forma de un archivo de texto anexo C/ST.25
 - c. ☐ proporcionado después de la fecha de presentación internacional con el propósito de ser usado para la búsqueda y/o examen internacional:
 - ☐ en forma de un archivo de texto anexo C/ST.25 (Regla PCT 13ter.1(a))
 - ☐ en papel o en forma de un archivo de imagen (Regla PCT 13ter.2(b) y las Instrucciones administrativas, Sección 713).
 - d. ☐ proporcionado a esta Autoridad como una cesión* bajo el PCT Artículo 34 en:
 - ☐ en forma de un archivo de texto anexo C/ST.25, y preferiblemente identificado como "Enmendado" en la primera línea del texto.
 - ☐ en papel o en forma de un archivo de imagen.
2. ☐ Además, en caso de que más de una versión o copia de una lista de secuencias se haya presentado o proporcionado, las declaraciones requeridas de que la información en las copias posteriores o adicionales proporcionadas es idéntica a la que forma parte de la solicitud tal como se presentó o no se extiende más allá de la solicitud tal como se presentó, según corresponda.
3. Comentarios adicionales:

* Si el punto 4 en el Recuadro No. I aplica, la lista de secuencias, que hace parte de la base del reporte, puede marcarse como "reemplazado"

Se hace referencia al siguiente documento:

D1 WO 2015/027258 A2 (ERBER AG [AT]) 5 de marzo de 2015 (2015-03-05)

Se consideraron detenidamente el conjunto modificado de reivindicaciones y los argumentos presentados por el solicitante en la carta de fecha 27.7.2020.

Respuesta al recuadro V

Declaración de motivos relacionada con la novedad, la actividad inventiva y aplicabilidad industrial; citas y explicaciones de soporte para dichas declaraciones

1 Novedad

Las reivindicaciones 1-15 se consideran nuevas en el sentido del Artículo 33(2) del PCT.

2 Actividad inventiva

D1 se relaciona con el campo de las hidrolasas α/β . Se comparan varias α/β hidrolasas para determinar la actividad hidrolizante de la zearalenona, la estabilidad de la temperatura (Beispiel 9, página 39) y la estabilidad del pH (Beispiel 11, página 40).

El ejemplo 6, Tabla 7, describe el uso de hidrolasa de *Streptomyces coelicoflavus* (codificada por ID de SEC. NO: 6 que corresponde a ID de SEC. NO: 1 de la presente solicitud) para hidrolizar zearalenona.

El problema que debe resolverse a la luz de D1 es la provisión de medios alternativos para la hidrólisis de zearalenona.

La solución proporcionada por la presente solicitud es la provisión de variantes de hidrolasa de *Streptomyces coelicoflavus* (ID de SEC. No:1) con mayor estabilidad debido a sustituciones en el dominio CAP.

Ahora, para reconocer que se ha resuelto el problema subyacente al objeto reivindicado, tiene que ser creíble que el efecto por el que se reconoce la actividad inventiva se logre sustancialmente en todas las realizaciones reivindicadas.

La estructura de las variantes de hidrolasa de las reivindicaciones 8 y 10 está parcialmente indefinida y la limitación funcional solo se refiere a un valor GRAVY más negativo.

La solicitud describe algunos mutantes específicos con un valor GRVY reducido y una mayor estabilidad; sin embargo, no se muestra ni se hace plausible ninguna correlación causal. No es plausible que las variantes con GRAVY disminuido y mutación indefinida resuelvan el problema de proporcionar hidrolasas α/β con mayor estabilidad. El efecto técnico específico (mayor estabilidad) sólo puede tenerse en cuenta al evaluar la actividad inventiva, si es evidente que el objeto reivindicado logra efectivamente dicho efecto técnico y resuelve así el problema subyacente a la invención. Como se señaló anteriormente, no es plausible que todas las variantes que se encuentran dentro del alcance de las reivindicaciones 8 y 10 resuelvan el problema de proporcionar una variante con mayor estabilidad. Especialmente en el campo de la enzimología, se sabe que la sustitución de un solo aminoácido puede tener un efecto espectacular sobre la actividad, estabilidad o especificidad del sustrato de las enzimas.

Aquellas variantes que carecen de una estabilidad aumentada se consideran variantes seleccionadas arbitrariamente para las que no se puede reconocer la actividad inventiva. Por lo tanto, no se considera que el objeto de las reivindicaciones 8 y 10 implique actividad inventiva en el sentido del Artículo 33(3) del PCT en todo el alcance de la reivindicación.

El objeto de las reivindicaciones dependientes 12-15 se refiere a una composición o kit que comprende la enzima, así como su uso para degradar zearalenona o para tratar una enfermedad, son obvias a la luz de D1, contrariamente al artículo 33(3) del PCT. D1, página 13, líneas 31-35 describe el uso de α/β hidrolasas como aditivo alimentario y el párrafo que une las páginas 16-17 sugiere su uso médico.

Se considera que el objeto de las reivindicaciones 1 a 7, 9 y 11 cumple los requisitos de actividad inventiva de conformidad con el artículo 33(3) del PCT.

Solicitud internacional de patente No. PCT/EP2019/070434

Título: "MEANS AND METHODS FOR CLEAVAGE OF ZEARALENONE"
Solicitante: Erber Aktiengesellschaft
Nuestra referencia: ERB16135PCT

En respuesta a la opinión escrita de la Autoridad encargada del examen preliminar internacional de conformidad con la Regla 66 del PCT de fecha 25 de mayo de 2020:

1. Documentos/solicitudes presentados

- 1.1. Un nuevo conjunto de reivindicaciones 1-15 se presenta con el presente en un formulario limpio y marcado y se solicita continuar el procedimiento de examen basado en estas reivindicaciones recién presentadas.
- 1.2. Si persisten otras preocupaciones sobre la patentabilidad, se ruega al examinador que emita una **opinión escrita adicional** de conformidad con la Regla 66 del PCT.

2. Enmiendas a las reivindicaciones

Las nuevas reivindicaciones corresponden a las reivindicaciones originales que se han enmendado de la siguiente manera:

- **Nuevas reivindicaciones 1-3, 9** correspondientes a las reivindicaciones previas 1-3, 9 y que no han sido enmendadas;
- **Nuevas reivindicaciones 4, 5, 6, 11-15** correspondientes a las reivindicaciones previas 4, 5, 6, 11-15 que han sido enmendadas para eliminar las referencias a "cualquiera de las reivindicaciones previas" y en su lugar se han aclarado más para mencionar los números reales de las reivindicaciones previas. Soporte: reivindicaciones previas 1-15;
- **Nueva reivindicación 7** correspondiente a la reivindicación previa 7 añadiendo una característica estructural limitante "en la que la α/β - hidrolasa tiene 95 % o más de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de ID de SEC. No.: 1" para el lenguaje de la reivindicación.

¹ Gesellschafter

² Deutsche/r Patentanwält/in

³ Abogado de patentes europeas

⁴ Abogado de marcas comerciales europeas

⁵ Agente de patentes de EE.UU

EU-VAT-No.: DE815229108
Amtsgericht München PR 1662

Banco de datos internacional:

Stadtparkasse München

IBAN: DE16701500001002840104

SWIFT-BIC: SSKMDEMM

Soporte: reivindicaciones previas 1-7 y a lo largo de toda la solicitud tal como se presentó originalmente, por ejemplo, párrafos **[0051, 0040, 0036, 0047-0050, 0054]**;

- **Nueva reivindicación 8** correspondiente a la reivindicación previa 8 ha sido modificada limitando el objeto reivindicado a una hidrolasa que tiene al menos un **95%** de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de la ID de SEC. No.: 1. Soporte: reivindicaciones previas 1-8 y a lo largo de toda la solicitud tal como se presentó originalmente, por ejemplo, párrafos **[0051, 0011, 0013]**;
- **Nueva reivindicación 10** correspondiente a la reivindicación previa 10 se ha modificado como sigue: se ha limitado a una hidrolasa que tiene al menos un **99%** de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 161 a 235 de ID de SEC. No.: 6. Soporte: reivindicaciones previas 1-10 y a lo largo de toda la solicitud tal como se presentó originalmente, por ejemplo, párrafos **[0050-0051]**.

3. Comentarios con respecto a la patentabilidad (punto V)

3.1. Novedad de las nuevas reivindicaciones

Declaramos de manera respetuosa que las nuevas reivindicaciones 1-15 presentadas aquí superan las objeciones del examinador planteadas en la IPEA del 25 de mayo de 2020 y solicitamos que los argumentos proporcionados aquí sean considerados por el examinador, por ejemplo, en una **opinión escrita adicional de conformidad con la Regla 66 del PCT**. En detalle:

- En el punto 1.1 del documento WO-IPEA, el examinador opina que, dado que la estructura de la hidrolasa obtenida por el método de la reivindicación 1 no está definida en la reivindicación 7, las secuencias D2 y D3 que comprenden sustituciones G185R y V160A respectivamente destruyen la novedad de la reivindicación 7. En el punto 1.2 del documento WO-IPEA, el examinador opina que, dado que D1 describe la secuencia de D3 y su actividad en la hidrolización de zearalenona, D1 destruye la novedad para las reivindicaciones 7, 12-15.

En respuesta a esto, respetuosamente declaramos que la nueva reivindicación 7 ha sido limitada estructuralmente a la α/β -hidrolasa que tiene **95% o más de identidad de secuencia** con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de la ID de SEC. No.: 1. Por consiguiente, las secuencias del arte previo de D2 (que tienen un 79,7% de identidad con la secuencia 145 a 218 de ID de SEC. No.: 1), D3 (que tienen un 61,3% de identidad con la secuencia 145 a 218 de ID de SEC. No.: 1) y D1 (que describe D3) no satisfacen el nuevo requisito de la reivindicación 7 de la identidad de secuencia mínima del 95% (los fragmentos correspondientes de las secuencias de D2 y D3 están alineados con la secuencia 145 a 218 de la ID de SEC. No.: 1 a continuación para conveniencia del examinador). Por consiguiente, las nuevas reivindicaciones 7 y 12-15 son nuevas frente a las secuencias de D1/D2/D3.

```

# Secuencias alineadas: 2
# 1: SEQ1-145-218
# 2: D2-144-217
# Matriz: EBLOSUM62
# Penalización por brecha: 10,0
# Penalización adicional: 0,5
#
# Longitud: 74
# Identidad:      59/74 (79,7%)
# Similitud:      65/74 (87,8%)
# Brechas:        0/74 (0,0%)
# Puntuación: 324,0
#
#
#=====

SEQ1-145-218      1 LVPAHGHSVRQGAGPVFELFRTYLGQWSVGDWEGFCRAAGASAFMARS      50
11...1111111111.:11111111111111111111:1111.11:1.111.
D2-144-217        1 LVTTGHSVRQGAGHLFELFRTYLGQWSVGDWEGYCRAARASSQMARF      50

SEQ1-145-218      51 FVADGIPQHLQEQYDPEWARVFYEG      74
1111.1111.:11111111.1:11
D2-144-217        51 FVADEIPQHMKEYDPEWARAFWEG      74

#
# Secuencias alineadas: 2
# 1: SEQ1-145-218
# 2: D3-161-235
# Matriz: EBLOSUM62
# Penalización por brecha: 10,0
# Penalización adicional: 0,5
#
# Longitud: 75
# Identidad:      46/75 (61.3%)
# Similitud:      56/75 (74.7%)
# Brechas:        1/75 (1.3%)
# Puntuación: 254.0
#
#
#=====

SEQ1-145-218      1 LVPAHGHSVRQGAGPVFELFRTYLGQWSVGDWEGFCRAAGASAFMARS      50
1111:1111.1.111.111:1.:111111:111:11..11.11.:...:
D3-161-235        1 LVPAYGHSVLQAAGPAFELYRDFLGQWSIGDWKGFVEAAKASPAKAMQL      50

SEQ1-145-218      51 F-VADGIPQHLQEQYDPEWARVFYEG      74
1..1..11:1:111111.1.1:11
D3-161-235        51 FPTPDEAPQNLKEYDPEWGRAFFEG      75

```

- En el punto 1.3 del documento WO-IPEA, el examinador opina que el fragmento de ID de SEC. No.: 3 de D1 correspondiente a la secuencia polipeptídica 145 a 218 de ID de SEC. No.: 1 de la invención en proceso tiene una identidad de secuencia del 91%. y comprende la sustitución Q205K y, por tanto, destruye la novedad de las reivindicaciones 8, 11-15.

En respuesta, declaramos respetuosamente que la nueva reivindicación 8 se ha limitado estructuralmente a la α/β -hidrolasa que tiene 95 % o más de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de la SEC ID No.: 1. Por consiguiente, el fragmento correspondiente de la ID de SEC. No.: 3 de D1 no satisface el nuevo requisito de la reivindicación 8 de la identidad de secuencia mínima del 95% (la alineación de secuencia se copia a continuación para conveniencia del examinador). Por consiguiente, las nuevas reivindicaciones 8 y 11-15 son el novedoso polipéptido 145-218 de la ID de SEC. No.: 3 de D1.

[illegible]

- En el punto 1.4 de WO-IPEA, el Examinador reconoce la novedad de la reivindicación 9. Estamos de acuerdo con el examinador.
- En el ítem 1.5 de WO-IPEA, el examinador parece tener la opinión de que el fragmento de ID de SEC. No.: 1 de D1 que comprende la sustitución de I190V y correspondiente a la secuencia polipeptídica 161 a 235 de ID de SEC. No.: 6 de la invención tiene una identidad de secuencia del 98% y, por lo tanto, destruye la novedad para la reivindicación 10.

En respuesta, declaramos respetuosamente que la nueva reivindicación 10 se ha limitado estructuralmente a α/β -hidrolasa having **99 % que tiene un 99% o más de identidad de secuencia** con una secuencia correspondiente a las posiciones 161 a 235 de la SEC ID No.: 6. Por consiguiente, el fragmento correspondiente de la ID de SEC. No.: 1 (I190V) de D1 no satisface el nuevo requisito de la reivindicación 10 de la identidad de secuencia mínima del 99%. Por consiguiente, la nueva reivindicación 10 es novedosa sobre el polipéptido correspondiente de ID de SEC. No.: 1 de D1 con I190V.

- En los puntos 2-2.3 del documento WO-IPEA, el examinador se opone a la actividad inventiva de las reivindicaciones 7-15. El examinador considera D1 como el arte previo más cercano y parece reconocer que la solución sugerida en las reivindicaciones 7-11, es decir, variantes con mayor estabilidad de temperatura (respaldada por las Figuras 3A y 3B de la invención en proceso), lo que permite la granulación del alimento a temperatura elevada. Sin embargo, el examinador parece objetar que, dado que las variantes reivindicadas no se limitan a las variantes con estabilidad de temperatura aumentada, no es creíble que la invención reivindicada se pueda lograr en toda el área reivindicada.

En respuesta a lo anterior estamos respetuosamente en desacuerdo con el examinador y sostenemos que **la responsabilidad de justificar su causa a base de pruebas es del examinador** y que una objeción al nivel inventivo basada en la credibilidad sobre todo el contenido de las reivindicaciones **deberá ser motivada, fundamentada,** y basada en

el **cálculo de probabilidades** (véase Directrices para la búsqueda y el examen en la EPO como Autoridad del PCT: 11. “Los argumentos y las pruebas presentadas por el solicitante” https://www.epo.org/law-practice/legal-texts/html/guidelinespct/e/g_vii_11.htm; Directrices de examen de la EPO: G-IV, 7.5.3 “Responsabilidad de justificar la causa a base de pruebas”; C-III, 4.1.1 “Objeciones motivadas”; F-III, 4. “Responsabilidad de justificar la causa a base de pruebas en cuanto a la posibilidad de realizar y repetir la invención”) lo que no se ha hecho en el presente caso, donde la credibilidad de la invención en toda la amplitud de reivindicaciones simplemente se cuestiona sin sustentar serias dudas. Este punto de vista también está respaldado por la jurisprudencia establecida de la EPO, por ejemplo,

T 0019/90 (Onco-Mouse), punto 3.3 de las Razones (con énfasis añadido):

*“Sin embargo, el mero hecho de que una reivindicación sea amplia no es en sí misma un motivo para considerar que la solicitud no cumple con el requisito de divulgación suficiente según el artículo 83 del EPC. **Sólo si existen serias dudas, fundamentadas en hechos verificables, se podrá objetar una solicitud por falta de divulgación suficiente**”.*

T 0247/11 (Granos de cacao tostados/NESTEC), punto 23 de las Razones (con énfasis añadido):

*“Tal como muestran los ejemplos de la patente, el uso de granos de cacao tostados y chocolate como material inicial soluciona este problema. Los argumentos esgrimidos por la recurrente para fundamentar su objeción de que el problema técnico no se resuelve con las reivindicaciones son esencialmente los mismos que los expuestos en virtud del artículo 83 EPC (véase el punto XIII supra), y han sido tratados por la junta en virtud de este artículo (véanse los puntos 13 a 16 supra). **En ausencia de argumentos convincentes en sentido contrario, se considera que el problema técnico está resuelto en todo el alcance de las reivindicaciones.**”*

T 2101/09 (Human Delta3 - Notch/MILLENNIUM), ítem 13 et seq. de las Razones (con énfasis agregado):

*“13. **Es una práctica común en el campo de la biotecnología que las reivindicaciones en patentes/solicitudes de patente relacionadas con una secuencia nueva e inventiva (ácido nucleico, aminoácido) no deben limitarse a una secuencia muy específica, sino que también pueden abarcar moléculas que tienen un cierto grado de homología y/o identidad con esta secuencia específica. El grado de homología/identidad aceptado depende del estado de la técnica relevante y de las circunstancias particulares de cada caso individual.** Esta práctica permite a los titulares/solicitantes de patentes proteger sus invenciones contra modificaciones arbitrarias de secuencias específicas. **La referencia a al menos el 95% de identidad en las reivindicaciones 1 y 5 está de acuerdo con esta práctica.** Además, la redacción de estas afirmaciones (“...cuya... secuencia es al menos 95% idéntica a la... secuencia...”; subrayada por la junta) requiere un grado de identidad a lo largo de toda la secuencia y no sobre fragmentos cortos y arbitrarios de la misma [...]*

*14. **En algunos casos, podría ser necesario limitar aún más el alcance de una reivindicación que se refiera a ese grupo de moléculas, ya sea aumentando el grado de identidad y/u homología o requiriendo la indicación de propiedades técnicas adicionales, como una actividad específica, efecto, etc.** Ninguna de estas limitaciones adicionales está presente en las reivindicaciones 1 y 5.*

En particular, no hay limitación para los polipéptidos - o para las moléculas de ácido nucleico que los codifican - que se unen específicamente a una muesca de polipéptido.

16. En vista de la estrecha identidad estructural (al menos el 95%) del grupo de moléculas de las reivindicaciones 1 y 5 y su bajo grado de identidad con las moléculas relacionadas estructuralmente más cercanas, es decir, otras proteínas delta humanas (véase la página 8, Tabla 1 de la patente; Identidad máxima del 54%), *no existen serias dudas (y mucho menos fundamentadas con hechos verificables; véase T 19/90, supra) de que puedan ser utilizadas en al menos una de las diversas actividades biológicas contempladas en el párrafo [0056] de la patente en proceso.*

A pesar de lo anterior, el alcance de las nuevas reivindicaciones se ha reducido y, por lo tanto, declaramos respetuosamente que las nuevas reivindicaciones son creíblemente inventivas en todo el alcance reclamado. En detalle:

- las reivindicaciones 7-12 se limitan a secuencias polipeptídicas estrechamente relacionadas con un grado muy alto de identidad estructural, es decir, al menos el **95%** (nuevas reivindicaciones 7-8), al menos **99%** (nueva reivindicación 10) o al menos **80%** (reivindicación 9);
- todas las reivindicaciones 7-12 mencionan la limitación funcional de ser α/β -hidrolasas; como se describe en los párrafos [0028] - [0030] de la solicitud presentada, se encontró sorprendentemente que una α/β - hidrolasa que comprende una mutación en una región específica, a saber, la región cap y más particularmente el bucle CAP, hace que estas hidrolasas sean específicamente estables. La razón de esto es presumiblemente que esta región es particularmente flexible, flexibilidad que podría ser negativa para la estabilidad de las hidrolasas. Por lo tanto, no tiene lugar una mutagénesis aleatoria en la presente invención. Por el contrario, sólo se muta una región específica, que se ha demostrado que es particularmente importante para la estabilidad de las hidrolasas. Por lo tanto, lo que se hace aquí no es una mutagénesis aleatoria, sino altamente específica en una región muy específica de las hidrolasas particularmente susceptible a la estabilidad de las hidrolasas.
- en la solicitud, tal como se presentó originalmente, se proporcionan ejemplos representativos de las variantes/propiedades/actividades reivindicadas (es decir, mayor estabilidad) dentro del alcance reivindicado, por ejemplo, ejemplo 3 [00172 y siguientes, figura 2] y ejemplo 5 [00190 y siguientes, Figura 3].

Con base en lo anterior, declaramos respetuosamente que no existen serias dudas (y mucho menos fundamentadas por hechos verificables) de que la invención reivindicada es inventiva y está habilitada completamente por las nuevas reivindicaciones y que el objeto reivindicado es inventivo debido al contenido de las nuevas reivindicaciones. Basándose en lo anterior, las nuevas reivindicaciones son inventivas.

4. Comentarios con respecto a determinados defectos de la solicitud internacional (punto VII)

- En el punto VII del documento WO-IPEA, el examinador se opone a la plausibilidad de la reivindicación 1 que menciona tanto el índice de hidropatía como una mayor estabilidad enzimática.

En respuesta, respetuosamente no estamos de acuerdo con el examinador y afirmamos que la reivindicación 1 se limita a secuencias polipeptídicas estrechamente relacionadas con un grado muy alto de identidad estructural de al menos 80%, en el que ejemplos

representativos de los métodos/variantes reivindicadas con propiedades/actividades mejoradas reivindicadas (es decir, mayor estabilidad) dentro de la materia reivindicada se proporcionan en la solicitud tal como se presentó originalmente, por ejemplo, ejemplo 3 [00172 y siguientes, Figura 2] y ejemplo 5 [00190 y siguientes, Figura 3]. En consecuencia, no existen dudas serias (y mucho menos fundamentadas por hechos verificables) de que la invención reivindicada habilitó/reivindicó de manera plausible en toda la materia de las nuevas reivindicaciones, por ejemplo, según lo soportado en **T 0578/06**, ítems 12 y siguientes de las razones (con énfasis añadido):

[...] “La junta observa que ni en su decisión ni durante la tramitación de la solicitud la división examinadora ha presentado argumentos que puedan desacreditar la plausibilidad de la invención reivindicada. Además, la junta no ve ninguna razón para dudar de la utilidad de la somatostatina para lograr el efecto pretendido.

13. La junta señala que el EPC no requiere prueba experimental de patentabilidad y considera que la divulgación de datos experimentales o resultados en la solicitud como evidencia presentada y/o publicada posteriormente no siempre es necesaria para establecer que la materia reivindicada resuelve el problema técnico objetivo. Esto es particularmente cierto en ausencia de cualquier duda fundamentada formulada como en este caso”.

Con base en lo anterior, respetuosamente declaramos que las nuevas reivindicaciones incluyendo sus respectivos efectos técnicos, son plausibles.

5. Comentarios con respecto a determinadas observaciones sobre la solicitud internacional (punto VIII)

- En el punto VIII del documento WO-IPEA, el Examinador se opone a la claridad de la reivindicación 5, 11 basándose en el uso del lenguaje de dependencia a la reivindicación "anterior", así como a mencionar las sustituciones F183Y/V197C con referencia a la ID de SEC. No.: 1 y sustitución de P190H con referencia a ID de SEC. No. 6.

En respuesta, declaramos respetuosamente que las nuevas reivindicaciones son claras y concisas y que las objeciones del Examinador han quedado sin efecto. En detalle: se han eliminado las referencias a "cualquiera de las reivindicaciones previas" y se han citado los números reales de las reivindicaciones previas en las nuevas reivindicaciones. Además, la nueva reivindicación 5 depende del método de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la reivindicación 1 se refiere a posiciones correspondientes a posiciones en ID de SEC. No.: 6 que comprende F183 y V197, por lo que son posibles las sustituciones de F183Y/V197C en dichas posiciones. La nueva reivindicación 11 dependiendo de las hidrolasas de las reivindicaciones 7 a 10, en la que la reivindicación 9 se refiere a posiciones correspondientes a las posiciones ID de SEC. No.: 5 que comprende P190, por lo que es posible la sustitución de P190H en dicha posición. En base a lo anterior, las referencias a F183Y/V197C/P190H son instantáneamente claras para un experto en la técnica y las nuevas reivindicaciones son claras y concisas.

6. Conclusión

- Confiamos en que lo anterior abordará cualquier inquietud que pueda haber tenido la autoridad encargada del examen preliminar internacional sobre la patentabilidad de las reivindicaciones de esta solicitud.

Esperamos recibir un Informe de examen preliminar internacional (IPRP) (Capítulo II) que sea positivo para todas las reivindicaciones.

- También se invita al examinador a ponerse en contacto con nosotros por teléfono o por correo electrónico en caso de que se requiera una aclaración sobre cualquier asunto.

Atentamente,

[Signature]

Dr. Gerhard Weinzierl
Abogado de patentes europeas

Adjunto:

- Nuevas reivindicaciones 1-15 (copia limpia y marcada)

REIVINDICACIONES

1. Un método para incrementar la estabilidad de una α/β -hidrolasa, comprendiendo la α/β -hidrolasa una secuencia que corresponde a las posiciones 145 a 218 de la SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene 80 % o más de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1, que comprende

sustituir al menos un aminoácido

- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 1, o
- en una posición correspondiente a una posición 159 a 204 de SEQ ID NO: 2, o
- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 3, 4, o 5, o
- en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,

en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido, el cual tiene un índice de hidropatía más negativo que el aminoácido sustituido,

en donde el índice de hidropatía está determinado mediante el índice de hidropatía de Kyte y Doolittle,

obteniendo de ese modo una α/β -hidrolasa con estabilidad incrementada comparada con la α/β -hidrolasa antes de sustituir dicho(s) aminoácido(s).

2. El método de la reivindicación 1, en donde el método comprende sustituir al menos un aminoácido

- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 1, y/o
- en una posición correspondiente a una posición 184 a 190 de SEQ ID NO: 2 y/o
- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5 y/o
- en una posición correspondiente a una posición 201 a 208 de SEQ ID NO: 6.

3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T, G, A, M, C, F, L o V, preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R, K, N, Q, D, E, H, P, Y, W, S, T o G, más preferiblemente R, K, N, Q, D, E, H o P.

4. El método de las reivindicaciones 1-3, en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de R, D, H, G, N o P, preferiblemente R, D, H, G o N, más preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R o N.

5. El método de las reivindicaciones 1-4, en donde la sustitución de aminoácidos está seleccionada de una o más de V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N, Q→K, F→Y y/o V→C, preferiblemente la sustitución de aminoácidos está seleccionada de una o más de V160A, G185R, G185S, A186P, A186R, A188D, A188H, A188N, A188G, A188R, S189D, P190H, M191D, G199E, I200A, I200V, H203N, Q205K, F183Y y/o V197C, más preferiblemente la sustitución de aminoácidos está seleccionada de G185R, A186R, A188R, A188D, A188H, A188N y/o M191D.

6. El método de las reivindicaciones 1-5, en donde la estabilidad incrementada es un valor GRAVY disminuido, un incremento en la estabilidad frente a pH y/o un incremento en la estabilidad térmica.

7. Una α/β -hidrolasa obtenible por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 4, 5 o 6, en donde la α/β -hidrolasa tiene 95 % o más de identidad de secuencia para una secuencia que corresponde a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1.

8. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene más de 95% de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1,

en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos

- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 1, o
- en una posición correspondiente a una posición 159 a 204 de SEQ ID NO: 2, o
- en una posición correspondiente a una posición 160 a 205 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5, o
- en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,

en donde la α/β -hidrolasa tiene un valor GRAVY más negativo de al menos 0,6% comparado con un valor GRAVY de una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 1.

9. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1 o una secuencia que tiene más de 80 % de identidad de secuencia con una secuencia correspondiente a las posiciones 145 a 218 de SEQ ID NO: 1,

en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos

- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 1, o

- en una posición correspondiente a una posición 184 a 190 de SEQ ID NO: 2 o
- en una posición correspondiente a una posición 185 a 191 de SEQ ID NO: 3, 4 o 5, o
- en una posición correspondiente a una posición de 201 a 208 de SEQ ID NO: 6,

en donde la sustitución de aminoácidos está seleccionada de V→A, G→R, G→S, A→P, A→R, A→D, A→H, A→N, A→G, S→D, P→H, M→D, G→E, I→A, I→V, H→N y Q→K y/o

en donde el(los) aminoácido(s) está(n) sustituido(s) con un aminoácido seleccionado de P, R, D, H, G o N, preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R, D, H, G o N, más preferiblemente el aminoácido está seleccionado de R o N, en donde la α/β -hidrolasa tiene una estabilidad incrementada comparada con una α/β -hidrolasa antes de sustituir dicho(s) aminoácido(s).

10. Una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica que comprende una secuencia que corresponde a las posiciones 161 a 235 de la SEQ ID NO: 6 o una secuencia que tiene más de 99% de identidad de secuencia correspondiente a las posiciones 161 a 235 de la SEQ ID NO: 6,

en donde la secuencia polipeptídica comprende al menos una sustitución de aminoácidos

- en una posición correspondiente a una posición 176 a 222 de SEQ ID NO: 6,

en donde la α/β -hidrolasa tiene un valor GRAVY más negativo de al menos 0,6% comparado con un valor GRAVY de una α/β -hidrolasa que tiene una secuencia polipeptídica de la SEQ ID NO: 6.

11. La α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-10, en donde la α/β -hidrolasa comprende las sustituciones de aminoácidos

- G→R y A→N, preferiblemente G185R y A188N;
- G→S y A→R, preferiblemente G185S y A188R;
- G→R, A→R, A→H, S→D, P→H y M→D, preferiblemente G185R, A186R, A188H, S189D, P190H y M191D;
- V→A, G→R, A→N, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A188N, G199E, I200A, H203N y Q205K;
- V→A, G→S, A→R, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185S, A188R, G199E, I200A, H203N y Q205K;
- V→A, G→E, I→A, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G199E, I200A, H203N y Q205K
- V→A, G→R, A→R, A→H, G→E, I→V, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A186R, A188H, G199E, I200V, H203N y Q205K;
- V→A, G→R, A→R, A→H, S→D, P→H, M→D, G→E, I→V, H→N y Q→K, preferiblemente V160A, G185R, A186R, A188H, S189D, P190H, M191D, G199E, I200V, H203N y Q205K y/o

F→Y y V→C, preferiblemente F183Y y V197C.

12. Un uso de una α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11 para degradar zearalenona (ZEN).

13. Una composición que comprende una α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11, preferiblemente la composición es un o aditivo alimenticio o de alimentación animal o un producto alimenticio o de alimentación animal.

14. La α/β -hidrolasa o la composición de las reivindicaciones 7-11 o la composición de reivindicación 13 para uso en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad.

15. Kit que comprende la α/β -hidrolasa de las reivindicaciones 7-11 o 14 o la composición de las reivindicaciones 13-14.