

Señora

Directora de la Dirección de Nuevas Creaciones

Superintendencia de Industria y Comercio

Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

E. S. D.

Re.:Expediente No. **NC2020/0008433**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para: **“MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIPÉPTIDOS”**

Solicitante: **GENZYME CORPORATION**

RESPUESTA A EXAMEN DE FONDO

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **13025** notificado el 22 de agosto de 2022 y para el cual solicité prórroga de manera oportuna, me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Reivindicaciones relativas a un uso

El examinador señala que la reivindicación 40 no es patentable ya que se refiere al uso del método reclamado. En dicho respecto, se informa que la reivindicación en cuestión no es incluida en el nuevo capítulo reivindicatorio. Por lo tanto, la objeción a este respecto se debe tener por superada.

Es claro que la presente invención cumple con los requerimientos del artículo 14 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

2. Modificación a las Reivindicaciones

De acuerdo con lo establecido en el Artículo 34 de la Decisión 486 y en vista de las observaciones realizadas por el examinador, se presenta en esta oportunidad un nuevo pliego reivindicatorio conformado por treinta y nueve (39) reivindicaciones. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- No se incluye la anterior reivindicación 40.

- Se modificó la anterior reivindicación 1 a fin de recitar “(...) *una mutación diseñada por ingeniería genética que es única en los fondos del proteoma humano y no humano (...)*”. Dicha modificación se encuentra soportada en el párrafo [0047] de la solicitud PCT.
- Se ajustó la numeración y dependencia de las reivindicaciones restante en vista de las modificaciones anteriores.

De esta manera, se pone de presente que la materia recitada se encuentra debidamente soportada en la descripción tal como fue originalmente presentada, así como en las reivindicaciones originales.

3. Claridad y Concisión de las Reivindicaciones

En relación con el capítulo reivindicatorio, el examinador ha indicado que éste carece de claridad y sustento en la descripción por las siguientes razones:

- El examinador indicó que la reivindicación 1 no recita características técnicas esenciales, como, por ejemplo, la secuencia del fragmento peptídico, la mutación de ingeniería incluida en el fragmento peptídico, las condiciones técnicas específicas en las que se digiere la muestra para producir el fragmento peptídico o el método de espectrometría utilizado para cuantificar la cantidad del fragmento peptídico en una muestra. El examinador concluyó que, en ausencia de tales características, no es posible realizar los métodos reivindicados ni distinguirlos de los conocidos en la técnica.

En dicho respecto, el solicitante manifiesta su completo desacuerdo y únicamente en un esfuerzo por acelerar el trámite, la reivindicación 1 ha sido modificada para recitar “(...) *una mutación diseñada por ingeniería genética que es única en los fondos del proteoma humano y no humano (...)*”.

Adicionalmente, el solicitante manifiesta que:

Breve resumen de la materia reivindicada

La espectrometría de masas (MS) es una alternativa viable a los ensayos de unión a ligandos (LBA) para el análisis cuantitativo de proteínas terapéuticas en muestras obtenidas, por ejemplo, en estudios preclínicos con animales. El procedimiento típico para la cuantificación basada en la MS consiste en digerir dicha muestra para generar fragmentos peptídicos y cuantificar la cantidad de un péptido específico derivado de la proteína terapéutica como sustituto de la propia proteína terapéutica. Actualmente, los péptidos sustitutos “*universales*”

derivados de la región constante de un anticuerpo humano se utilizan en métodos genéricos para la cuantificación de anticuerpos humanos, humanizados o quiméricos en modelos animales no humanos. Estos métodos genéricos se basan en el principio de que la secuencia del péptido sustituto “*universal*” se conserva en todos los dominios Fc humanos, pero está ausente en las especies en las que se realizan estudios preclínicos de eficacia y seguridad (por ejemplo, ratones, ratas, perros, monos, etc.). Sin embargo, no es posible utilizar estos péptidos sustitutos “*universales*” para cuantificar con precisión, por ejemplo, una proteína terapéutica que comprende una región constante de un anticuerpo humano, en muestras de pacientes humanos, ya que la secuencia del péptido sustituto “*universal*” también está presente en los anticuerpos humanos endógenos.

Muchas proteínas terapéuticas que comprenden una región constante de anticuerpo humano (por ejemplo, anticuerpos y polipéptidos de fusión) también comprenden mutaciones de ingeniería que se han introducido en la región constante para, por ejemplo, modular la función efectora, modular la vida media del suero, promover la heterodimerización, etc. Las reivindicaciones de la presente solicitud están basadas en parte en la constatación del solicitante en que los péptidos derivados de la porción de la región constante que contiene una mutación diseñada por ingeniería genética son únicos tanto en el fondo de proteoma humano como en el humano. Por consiguiente, los métodos descritos en la descripción inicialmente presentada pueden usarse para cuantificar proteínas terapéuticas tanto en muestras preclínicas (es decir, obtenidas de especies animales) como en muestras clínicas (es decir, obtenidas de pacientes humanos).

Brevemente, en los Ejemplos 1-4 de la descripción, el solicitante demostró que los métodos reivindicados pueden utilizarse para cuantificar con precisión la cantidad de TRI-1 (es decir, un anticuerpo triespecífico ejemplar) en una muestra mediante la cuantificación de la cantidad de un péptido (es decir, TTPPVLDSDGSFFLYSK (SEQ ID NO: 7) en la muestra a través de la espectrometría de masas (MS). El TRI-1 comprende una porción de la región constante de un anticuerpo (es decir, SEQ ID NO: 3), y SEQ ID NO: 3 comprende una mutación de ingeniería (es decir, una sustitución Y407V). El péptido TTPPVLDSDGSFFLYSK (SEQ ID NO: 7) tiene 17 aminoácidos de longitud, se produce a través de la digestión trípica de SEQ ID NO: 3, y comprende la sustitución Y470V (véase el aminoácido subrayado en SEQ ID NO: 7). Los Ejemplos 1-3 de la descripción confirman que el péptido de la SEQ ID NO: 7 puede utilizarse como sustituto para cuantificar la cantidad de TRI-1 en una muestra *in vitro*, y el Ejemplo 4 confirma que el péptido de la SEQ ID NO: 7 puede utilizarse como sustituto para cuantificar la cantidad de TRI-1 en

una muestra “ex vivo”, por ejemplo, una muestra de suero obtenida de un mamífero al que se le ha administrado TRI-1.

Por lo tanto, los Ejemplos 1-4 confirman la viabilidad de los métodos reivindicados utilizando un péptido ejemplar que comprende la sustitución ejemplar Y470V. Además, es de señalar que (a) las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de la cadena pesada de los anticuerpos están disponibles públicamente, (b) los sitios de corte de numerosas peptidasas son ampliamente conocidos, y (c) una variedad de técnicas de espectrometría de masas son utilizadas rutinariamente por los expertos en la técnica. Por lo tanto, estaría dentro de la capacidad de un experto (a) diseñar una región constante de la cadena pesada del anticuerpo que comprenda una mutación de ingeniería que no se encuentre naturalmente en los fondos del proteoma humano y no humano, (b) determinar qué enzima(s) podría(n) utilizarse para digerir la región constante de la cadena pesada para obtener un fragmento de péptido que tenga los criterios recitados en la reivindicación 1, y (c) cuantificar la cantidad del fragmento de péptido en una muestra utilizando la espectrometría de masas. En otras palabras, sería fácilmente evidente para un experto que los métodos reivindicados pueden generalizarse y utilizarse para cuantificar la cantidad de cualquier polipéptido en una muestra, siempre que el polipéptido comprenda una porción de la región constante del anticuerpo, que la porción de la región constante del anticuerpo comprenda una mutación de ingeniería que sea única en los fondos proteómicos no humanos y humanos, y que un péptido obtenido al digerir el polipéptido tenga las características que se recitan en la reivindicación 1. De esta manera, las reivindicaciones modificadas son suficientemente claras y encuentran suficiente soporte en la descripción.

- Las reivindicaciones 10 y 11 fueron objetadas por la supuesta falta de claridad y apoyo al recitar “*al menos una enzima*”. El examinador declaró que las reivindicaciones objetadas no recitan las enzimas utilizadas para digerir la muestra y que no es evidente que se pueda utilizar más de una enzima para realizar los métodos reivindicados. La reivindicación 11 también fue objetada por la supuesta falta de claridad y apoyo al recitar “*y combinaciones de las mismas*”. El examinador alegó que dicho término es impreciso y no define qué enzimas se utilizan. En respuesta a ello, el solicitante manifiesta su desacuerdo.

Como se ha comentado anteriormente, las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de la cadena pesada de los anticuerpos están disponibles públicamente y los sitios de corte de numerosas peptidasas son ampliamente conocidos. Por lo tanto, un experto en la técnica podría diseñar una región constante de la cadena pesada del anticuerpo que comprenda una mutación de ingeniería que no se encuentre naturalmente en los fondos del proteoma

humano y no humano y determinar qué enzima(s) podría(n) utilizarse para digerir la región constante de la cadena pesada para obtener un fragmento de péptido que tenga los criterios recitados en la reivindicación 1. Por lo tanto, las reivindicaciones 10 y 11 son suficientemente claras y encuentran suficiente soporte en la descripción.

- Las reivindicaciones 13-15 fueron objetadas por su supuesta falta de claridad al no recitar las mutaciones en los dominios CH1, CH2 o CH3. Ante ello, el solicitante expresa que como se ha señalado anteriormente, las secuencias de aminoácidos de los dominios CH1, CH2 y CH3 están disponibles públicamente. El diseño y la construcción de un polipéptido que comprenda los dominios CH1, CH2 y/o CH3, en el que el dominio CH1, CH2 o CH3 comprenda una mutación de ingeniería es una cuestión de práctica rutinaria en la técnica. Estaría dentro de las capacidades de un experto construir un polipéptido que comprenda un dominio CH1, CH2, o CH3 que comprenda una mutación de ingeniería que no se encuentre naturalmente en los fondos proteómicos humanos y no humanos. También estaría dentro de las capacidades de un experto determinar qué enzima(s) podría(n) usarse para digerir el dominio CH1, CH2, o CH3 para obtener un fragmento de péptido que tenga los criterios recitados en la reivindicación 1. En consecuencia, las reivindicaciones 13-15 son suficientemente claras y encuentran suficiente soporte en la descripción.
- La reivindicación 34 fue objetada por la supuesta falta de claridad y soporte al recitar los términos genéricos “fármaco” y “etiqueta”. En dicho respecto, el solicitante manifiesta que en los párrafos [0095]-[0096] de la descripción se describen fármacos y etiquetas ejemplares que pueden conjugarse con un anticuerpo o un polipéptido para ser cuantificados según los métodos reivindicados. Otros fármacos y etiquetas, así como métodos de conjugación de fármacos o etiquetas a un polipéptido, son bien conocidos en la técnica. En vista de las enseñanzas de la descripción y del conocimiento general común de un experto en la técnica, la reivindicación 34 es suficientemente clara y encuentra suficiente soporte en la descripción.

De acuerdo con las modificaciones realizadas y con base en los argumentos anteriores, es claro que la presente invención cumple con los requerimientos del artículo 30 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

4. Novedad y Nivel Inventivo

La materia de invención recitada en las reivindicaciones 1 a 5, 8, 10, 11, 15 a 18, 22, 26 a 30, 37 a 39 de la presente solicitud de patente, fue objetada por falta de novedad en relación con el documento Yin Y., *et al.*, 2016 (D1), asimismo, la materia de las

reivindicaciones 6, 7, 9, 12, 13, 14, 19 a 21, 23 a 25, 31 a 36 fue objetada por falta de nivel inventivo frente a los documentos D1 y Anderson N. L., *et al.*, 2004 (D2).

Teniendo en cuenta el nuevo pliego reivindicatorio y los argumentos que se ponen de presente a continuación, es claro que la materia objeto de protección es tanto novedosa como inventiva frente a los documentos citados. Veamos:

Novedad

D1

Las reivindicaciones 1-5, 8, 10-11, 15-18, 22, 26-30 y 37-39 fueron rechazadas por carecer supuestamente de novedad respecto a D1. Se alega que D1 divulga el uso de la espectrometría de masas (MS) para cuantificar la cantidad de un anticuerpo HER2/CD3 biespecífico en una muestra. El anticuerpo biespecífico HER2/CD3 comprende una primera región constante del anticuerpo que comprende las mutaciones N297G y T366W y una segunda región constante del anticuerpo que comprende las mutaciones N297G, T366S, L368A e Y407V. También se alega que la reivindicación D1 divulga un paso en el que el anticuerpo biespecífico HER2/CD3 se somete a una digestión de lisil-C antes del análisis de MS. En respuesta a ello, el solicitante manifiesta su completo desacuerdo.

Brevemente, D1 divulga métodos basados en la MS para cuantificar la cantidad de anticuerpo biespecífico HER2/CD3 correctamente ensamblado en una mezcla de especies de anticuerpos (por ejemplo, una mezcla de especies de anticuerpos mostrada en la Figura 1 de D2). En una serie de experimentos discutidos en D1, una mezcla de especies de anticuerpos que contenía anticuerpos biespecíficos HER2/CD3 correctamente ensamblados se trató con lisil endopeptidasa, que *“escindió las cadenas pesadas en el lado C-terminal del residuo K222, situado en la región de bisagra superior. (...) Se anticiparon 4 especies de Fab en la mezcla digerida”*. Véanse las frases segunda y tercera del primer párrafo completo de la columna derecha de la página 1471 de D1. Las cuatro especies de Fab producidas por la digestión de la lisil endopeptidasa se muestran en la Figura 3A de D1. Las cantidades relativas de cada Fab en la mezcla digerida se muestran en la Figura 3B de D1. Los polipéptidos digeridos analizados en la Figura 3 **no contienen una región constante de la cadena pesada del anticuerpo**.

Por lo tanto, D1 no enseña ni sugiere digerir una muestra que comprende un polipéptido que comprende una porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, en la que la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una mutación de ingeniería, en la que la digestión produce un fragmento peptídico derivado de la región constante de la cadena pesada del

anticuerpo, en la que el fragmento peptídico tiene una longitud de entre 5 y 26 aminoácidos y comprende la mutación de ingeniería, como se recita en la reivindicación 1. D1 tampoco enseña ni sugiere analizar la muestra digerida mediante MS para determinar la cantidad de dicho fragmento peptídico en la muestra (es decir, un fragmento peptídico que tiene una longitud de entre 5 y 26 aminoácidos y comprende la mutación de ingeniería) con el fin de determinar la cantidad de polipéptido en la muestra. En consecuencia, las reivindicaciones objetadas son novedosas respecto a D1.

Nivel Inventivo

Reivindicaciones 1-40 en relación con D1 y/o D2

Las reivindicaciones 6-7, 9, 12-14, 19-21, 23-25 y 31-36 fueron objetadas por carecer supuestamente de actividad inventiva respecto a D1 y D2.

Las enseñanzas de D1 se analizan más arriba. Se citó D2 por revelar supuestamente el uso de SISCAPA (es decir, estándares de isótopos estables y captura por anticuerpos antipeptidos) para cuantificar los péptidos de interés que están presentes en una muestra de proteína digerida. El examinador razonó que no habría sido necesaria la actividad inventiva para que un experto en la técnica que leyera D1 y D2 utilizara SISCAPA para purificar y concentrar una muestra digerida antes de cuantificar la cantidad de un péptido en la muestra según el método divulgado en D1 para llegar al objeto de la reivindicación 6 objetada. No obstante, el solicitante está en total desacuerdo.

Como se ha comentado anteriormente, D1 no enseña ni sugiere los métodos actualmente reivindicados. D2 no subsana las deficiencias en las enseñanzas de D1, ya que D2 no enseña ni sugiere la digestión de una muestra que comprende un polipéptido que comprende una porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, en la que la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una mutación de ingeniería que es única en los fondos proteómicos no humanos y humanos, y en la que la digestión produce un fragmento de péptido derivado de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo que tiene entre 5 y 26 aminoácidos de longitud y comprende la mutación de ingeniería. En consecuencia, ninguna de las referencias citadas proporciona a un experto en la técnica una motivación para llegar a los métodos reivindicados.

Además, ni D1 ni D2, por sí solos o en combinación, enseñan o sugieren el problema a resolver por los métodos actualmente reivindicados (véase el ítem “*Breve resumen de la materia reivindicada*” incluido arriba en este memorial), y mucho menos una solución al problema. Un experto en la técnica que leyera D1 y D2 no tendría una

expectativa razonable de que la cantidad de un polipéptido en una muestra (es decir, un polipéptido que comprende una porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, en la que la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo una mutación de ingeniería) puede determinarse mediante la digestión de la muestra y el análisis de la muestra digerida a través de MS para determinar la cantidad de un péptido (es decir, un péptido derivado de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo que tiene una longitud de entre 5 y 26 aminoácidos y comprende la mutación de ingeniería) en la muestra digerida, es decir, como el solicitante ha mostrado en los Ejemplos 1-4 (véase la discusión de los Ejemplos 1-4 anterior).

En vista de las deficiencias en las enseñanzas de D1 y D2 y los resultados del solicitante discutidos anteriormente, las reivindicaciones de la presente solicitud son inventivas sobre las referencias citadas.

Teniendo en cuenta las anteriores aclaraciones, es claro que la **presente invención** es tanto novedosa como inventiva, cumpliendo con los requerimientos de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

Dado que el capítulo reivindicatorio ha sido modificado, se anexa el comprobante de pago de tasa oficial correspondiente a dicha modificación. Adicionalmente, se anexa el comprobante de pago de tasa oficial correspondiente a nuevo examen de patentabilidad.

5. Conclusión

Teniendo en cuenta las modificaciones introducidas en esta oportunidad y los argumentos que se presentan, es posible establecer que las reivindicaciones cumplen con los requerimientos de la Decisión 486.

6. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por treinta y nueve (39) reivindicaciones reivindicaciones.
- Comprobante de pago en línea por concepto de modificación a las reivindicaciones.
- Comprobante de pago de tasa oficial correspondiente a nuevo examen de patentabilidad.

Señora Directora,



Margarita Castellanos Abondano

C.C. No. **39.779.654** de Bogotá

T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.

Calle 117 No. 5A-35 - Bogotá, D.C.

Teléfono: 7560770

Bogotá, D.C.
MCA/magm
P5445

REIVINDICACIONES

1. Un método para cuantificar una cantidad de un polipéptido que comprende una porción de una región constante de cadena pesada de anticuerpo en una muestra que comprende:

(a) digerir la muestra que comprende el polipéptido que comprende la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo, en donde la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una mutación diseñada por ingeniería genética que es única en los fondos del proteoma humano y no humano, y en donde la digestión produce un fragmento de péptido derivado de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo que tiene entre 5 y 26 aminoácidos de largo y comprende la mutación diseñada por ingeniería genética,

(b) analizar la muestra digerida por espectrometría de masas para determinar la cantidad del fragmento peptídico, determinando así la cantidad del polipéptido que comprende la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo en la muestra.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fragmento peptídico no comprende una metionina (M) o cisteína (C).

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde el fragmento peptídico no comprende una asparagina (N) seguida de una glicina (G) o serina (S).

4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además purificar y concentrar la muestra digerida antes del análisis de espectrometría de masas.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la muestra digerida se purifica y se concentra mediante extracción en fase sólida (SPE).

6. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la muestra digerida se purifica y se concentra a través de SISCAPA (patrones de isótopos estables y captura por anticuerpos antipeptidos).

7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la muestra es una muestra de sangre completa, una muestra de suero, una muestra de plasma o una muestra de tejido.

8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la muestra es de un ratón, un primate no humano o un humano.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el primate no humano es un mono cynomolgus o un mono rhesus.

10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la muestra se digiere con al menos una enzima.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la al menos una enzima es tripsina, quimotripsina, glutamil endopeptidasa, lisil endopeptidasa, Asp-N, Arg-C, Glu-C, bromuro de cianógeno (CnBr), o combinaciones de las mismas.

12. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la espectrometría de masas es un análisis de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).

13. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el polipéptido comprende un dominio CH1, y en donde el dominio CH1 comprende la mutación diseñada por ingeniería genética.

14. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el polipéptido comprende un dominio CH2, y en donde el dominio CH2

comprende la mutación diseñada por ingeniería genética.

15. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el polipéptido comprende un dominio CH3, y en donde el dominio CH3 comprende la mutación diseñada por ingeniería genética.

16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la mutación diseñada en el dominio CH3 de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es T366Y, T366W, T366S, L368A, T394W, T394S, F405A, F405W, Y407T, Y407V o Y407A.

17. El método de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la mutación diseñada por ingeniería genética en el dominio CH3 de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es Y407V, y en donde el dominio CH3 comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 6 (DGSFFFLVS).

18. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde la digestión produce un fragmento de péptido que comprende la secuencia de aminoácidos TTPPVLDSDGSFFFLVSK (SEQ ID NO: 7), DGSFFFLVSKLTV (SEQ ID NO: 8), o GSFFFLVSKLTV (SEQ ID NO: 9).

19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la muestra se digiere con tripsina, y en donde la digestión produce un fragmento de péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos TTPPVLDSDGSFFFLVSK (SEC ID NO: 7).

20. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la muestra se digiere con Asp-N, y en donde la digestión produce un fragmento de péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos DGSFFFLVSKLTV (SEQ ID NO: 8).

21. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde la muestra se digiere con Glu-C, y en donde la digestión produce un fragmento peptídico que

consiste en la secuencia de aminoácidos GSFFLVSKLTVD (SEQ ID NO: 9).

22. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 16 a 21, en donde el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 3 o SEQ ID NO: 4.

23. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la mutación diseñada por ingeniería genética en el dominio CH3 de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es N434S.

24. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la muestra se digiere con Glu-C y tripsina, y en donde la digestión produce un fragmento de péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos ALHSHYTQK (SEQ ID NO: 11).

25. El método de acuerdo con la reivindicación 23 o 24, en donde el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.

26. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 25, en donde el polipéptido que comprende la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es un anticuerpo, una proteína de fusión Fc o una inmunoadhesina.

27. El método de acuerdo la reivindicación 26, en donde el polipéptido que comprende la porción de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es un anticuerpo.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde el anticuerpo es un anticuerpo terapéutico.

29. El método de acuerdo con la reivindicación 27 o 28, en donde el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo humano.

30. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 29, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoespecífico, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo triespecífico o un anticuerpo multiespecífico.

31. El método de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el anticuerpo es un anticuerpo triespecífico.

32. El método de acuerdo con la reivindicación 31, en donde el anticuerpo triespecífico comprende cuatro cadenas de polipéptidos que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a uno o más blancos de antígeno o proteínas blanco, en donde un primer polipéptido comprende una estructura representada por la fórmula: V_{L2} - L_1 - V_{L1} - L_2 - CL ; la segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula: V_{H1} - L_3 - V_{H2} - L_4 - C_{H1} -bisagra- C_{H2} - C_{H3} ; la tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula: V_{H3} - C_{H1} -bisagra- C_{H2} - C_{H3} ; la cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula: V_{L3} - CL , en donde V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina; V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina; V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina; V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina; V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina; V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina; CL es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina; C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1} ; y L_1 , L_2 , L_3 y L_4 son enlazadores de aminoácidos; en donde el primer y segundo polipéptidos forman un par cruzado de cadena ligera-cadena pesada; y en donde la segunda cadena polipeptídica o la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos TTPVLDSDGSFFLVSK (SEQ ID NO: 7), DGSFFLVSKLTV (SEQ ID

NO: 8), o GSFFLVSKLTVD (SEQ ID NO: 9).

33. El método de acuerdo con la reivindicación 32, en donde el primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 12; el segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 13; el tercer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 14, y el cuarto polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 15.

34. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 33, en donde el anticuerpo se conjuga con un fármaco o una etiqueta.

35. El método de acuerdo con la reivindicación 34, en donde el fármaco se selecciona de un agente quimioterapéutico, un agente citotóxico o un agente inhibidor del crecimiento.

36. El método de acuerdo con la reivindicación 35, en donde el marcador es un radioisótopo, un colorante fluorescente o una enzima.

37. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 36, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG humano.

38. El método de acuerdo con la reivindicación 37, en donde el anticuerpo IgG es un anticuerpo IgG1 humano o un anticuerpo IgG4 humano.

39. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 27 a 32 y 34 a 38, en donde el anticuerpo se une a A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4/VTN1, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7-4, C3, C5, CCL2/MCP-1, CCL3/MIP-1a, CCL4/MIP-1b, CCL5/RANTES, CCL7/MCP-3, CCL8/mcp-2, CCL11/eotaxina, CCL15/MIP-1d, CCL17/TARC, CCL19/MIP-3b, CCL20/MIP-3a, CCL21/MIP-2, CCL24/MPIF-2/eotaxina-2,

CCL25/TECK, CCL26/eotaxina-3, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23/FCER2, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80/ B7-1, CD86/B7-2, CD122, CD137/41BB, CD137L, CD152/CTLA4, CD154/CD40L, CD160, CD272, CD273/ PDL2, CD274/PDL1, CD275/B7H2, CD276/B7H3, CD278/ ICOS, CD279/PD-1, CDH1/E-cadherina, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF-1/M-CSF, CSF-2/GM-CSF, CSF-3/GCSF, CX3CL1/SCYD1, CXCL12/SDF1, CXCL13, CXCR3, DNGR-1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM-CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFN α , IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb/IL25, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4/b4 integrina, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa-1, OX40, OX40L, PD-1H, receptor de plaquetas, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2/receptor para IL33, STEAP2, Syk cinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP/ IL7Ra, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM o XCR/GPR5/CCXCR1.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0008433

Recibo: 22-108877

Fecha: 16/11/2022

CASTELLANOS & CO

NI: 8.001.746.411

Pago PSE No: 753198

CUS: 1759211659

Patente PCT

MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIPÉPTIDOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-01	Solicitud examen de patentabilidad Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 1,191,500	\$ 1,191,500
2	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 176,000	\$ 176,000
TOTAL					\$ 1,367,500