

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. **NC2020/0007671**

Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para: **“CÁPSIDES VARIANTES DE VIRUS ADENOASOCIADOS Y SU USO PARA INHIBIR LA ANGIOGÉNESIS”**

Solicitante: **4D MOLECULAR THERAPEUTICS INC.**

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. **17624** notificado el 28 de octubre de 2022, me permito dar respuesta al mismo de la siguiente manera:

1. Modificación al Título

El examinador ha indicado que el título de la solicitud no refleja de manera clara y específica el objeto divulgado en la descripción y las reivindicaciones. Siguiendo la recomendación del examinador, se informa que el título se ha modificado para recitar: **“UNA VARIANTE DE ÁCIDO NUCLEICO QUE COMPRENDE UNA SECUENCIA INHIBIDORA DEL GEN VEGF”**.

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 diecinueve (19) reivindicaciones, en donde se han realizado las siguientes modificaciones:

- Se incluye la nueva reivindicación 4 que define una particularidad de la reivindicación 1.

- Se modificó la anterior reivindicación 1 a fin de:
 - o Eliminar la frase “uno o más”;
 - o Eliminar las partes (ii)-(vii) y (ix-vi);
 - o Agregar que la secuencia de nucleótidos es 90% idéntica a la secuencia que se establece en (i) o (ii) y codifica para la secuencia de aminoácidos que se establece como la SEQ ID NO:66 o codifica para la secuencia de aminoácidos representada por los aminoácidos 27-458 de la SEQ ID NO:66, sustento para lo cual se encuentra en, por ejemplo, la memoria descriptiva de la aplicación de referencia, página 98 párrafo [00192];
- Se ajustó la numeración y dependencia de las reivindicaciones en vista las modificaciones anteriores.

En este sentido el pliego reivindicatorio ha sido modificado con el fin de aclarar la materia reivindicada y para responder a los requerimientos elevados por su Despacho.

3. Claridad y Concisión de las Reivindicaciones

De acuerdo con las modificaciones realizadas en el capítulo reivindicatorio, la presente invención es clara y concisa.

- El examinador alega que las reivindicaciones 1, 2, 3, 7 y 13 carecen de claridad y sustento en la descripción ya que especifican porcentajes de identidad de “por lo menos 90%”, “por lo menos 95%” y “por lo menos 99%” cuando hacen referencia a las secuencias de ácido nucleico que caracterizan al inhibidor de VEGF-A de la proteína de la cápside del vector.

Con respecto a las reivindicaciones 1, 2, 3 y 7, se ha modificado la reivindicación 1 indicando que la secuencia de nucleótidos de (i) y (ii) codifica para la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66 o codifica para la secuencia de aminoácidos representada por los aminoácidos 27-458 de la SEQ ID NO:66, respectivamente. Como tal, las secuencias de nucleótidos de (i) y (ii) codifican, cada una, para un polipéptido completamente definido (y funcional). El experto en la materia puede determinar fácilmente las secuencias de nucleótidos que son por lo menos 90%, por lo menos 95% y por lo menos 99% idénticas a las secuencias de nucleótidos de (i) y (ii) y que codifican para la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:66 o los aminoácidos 27-458 de la SEQ ID NO:66. Además, la secuencia de nucleótidos que se establece como la SEQ ID NO:65 contiene 1377 nucleótidos. Como tal, la reivindicación 1 permite sólo 138, 69 o 14 diferencias

con respecto a la secuencia de nucleótidos de la parte (i) y solo 130, 65 o 13 diferencias con respecto a la secuencia de nucleótidos de la parte (ii). Más aún, el requerimiento de que la secuencia de nucleótidos de la parte (iii) codifique para la secuencia de aminoácidos que se establece en la SEQ ID NO:66 (o los aminoácidos 27-458 de la misma) además restringe las diferencias permitidas en relación con las secuencias de referencia, debido a que las secuencias de nucleótidos de la parte (iii) deben codificar para exactamente los mismos polipéptidos que los codificados por las secuencias de nucleótidos de las partes (i) y (ii). Dicha diferencia mínima de secuencia sigue focalizando las reivindicaciones en las secuencias 'con codones optimizados' para el aflibercept, las que no son divulgadas ni sugeridas por el arte previo. Finalmente, respetuosamente se indica que el experto en la materia reconocería que es esperable que una secuencia de nucleótidos como se define en la parte (iii) de la reivindicación 1 retenga el efecto técnico demostrado por la SEQ ID NO:65 *per se* y podría confirmar que dichas secuencias retienen el efecto técnico sin demasiada experimentación usando el ensayo *in vitro* que se describe en la presente solicitud. Como tal, las reivindicaciones 1, 2, 3 y 7 cumplen con las nuevas pautas de examinación para las solicitudes relacionadas con anticuerpos que indican que la expresión de porcentaje de identidad puede estar permitida bajo ciertas circunstancias. En particular, las Pautas afirman que el porcentaje reivindicado debe estar justificado por los ejemplos y no debe afectar las partes esenciales de la molécula.

Con respecto a la reivindicación 13, ha de notarse en primer lugar que la variante de la cápside debe comprender (i) una inserción ISDQTKH (SEQ ID NO:14) en el bucle GH de la cápside y (ii) una sustitución de aminoácido P34A en relación con la cápside VP1 del AAV2. En los ejemplos de la presente solicitud se demuestra que estas características estructurales median el efecto técnico de mejor transducción de las células retinianas. Más aún, las características estructurales de la cápside nativa de AAV2 estaban bien caracterizadas al momento de la presente solicitud y el experto en la materia comprendió que se podían modificar los aminoácidos reteniendo la función de la cápside (es decir, ya se había establecido bien una correlación la estructura y la función para la cápside de AAV2). La presente solicitud demuestra no menos de 35 mutaciones que pueden ser toleradas en la secuencia de la cápside de AAV2 junto con una inserción ISDQTKH al tiempo que se mantiene el efecto técnico (Tabla 1). Entre las variantes de la cápside que se indican en la Tabla 1, están aquellas con una inserción de un péptido (LAISDQTKHA), sola o en combinación con una cualquiera de 35 distintas mutaciones:

- Una cápside con una inserción de un péptido LGISDQTKHA y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y sustituciones M1L+L15P+P535S y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución P34A y por lo demás idéntica a AAV2 (SEQ ID NO:42)
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y sustituciones P34A+S731L y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución N57D y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución R81Q y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución Q101R y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución S109T y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución R144K y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución R144M y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución Q164K y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y sustituciones Q164K+V708I y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución T176P y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución L188I y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución S196Y y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución G226E y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución G236V y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución I240T y por lo demás idéntica a AAV2

- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución N312K y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución P363L y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución T456K y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución I698V y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y una sustitución V708I y por lo demás idéntica a AAV2
- Una cápside con una inserción de un péptido LAISDQTKHA y sustituciones V708I+R484C y por lo demás idéntica a AAV2

Por lo tanto, la memoria descriptiva como se presentó divulga no menos de 25 variantes distintas de la cápside que están abarcadas por el alcance de la reivindicación 13 y que comprenden sustituciones de aminoácidos (con relación a la SEQ ID NO:2) a lo largo de toda la cápside. Esto debe considerarse como una divulgación de suficientes especies que son representativas de la variedad del género definido por la reivindicación 13. Como tal, la reivindicación 13 cumple también con las nuevas pautas de examinación para las solicitudes relacionadas con anticuerpos.

- El examinador indica que la reivindicación 1 carece de claridad debido a la expresión “*uno o más*”. Sin reconocer estar de acuerdo sobre este punto y solamente para acelerar la tramitación de esta solicitud, se ha modificado la reivindicación 1 para eliminar la expresión “*uno o más*”.
- El examinador señala que las reivindicaciones 15 y 16 no tienen sustento en la descripción porque no se evidencia que se haya explorado un vector de rAAV que comprenda un ARN de interferencia que inhiba la angiogénesis. En el Anexo 1 adjunto a este memorial se demuestra la eficacia tanto *in vitro* como *in vivo* de un rAAV que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos de acuerdo con la reivindicación 1 y que además comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para un ARN de interferencia contra VEGF-C.

De este modo, la presente invención cumple con los requerimientos del artículo 30 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

4. Unidad de Invención

Se alega que las reivindicaciones carecen de unidad de invención y se establecen dos grupos de invenciones supuestamente distintas. Al respecto se hace notar que las reivindicaciones modificadas fueron limitadas a una invención única, unificada por una característica técnica en común recitada en la reivindicación 1. Por lo tanto, se solicita al examinador reconsidere y retire la objeción realizada.

5. Novedad y Nivel Inventivo

El examinador ha determinado el arte previo con base en la fecha de la presentación de la solicitud de la cual se invoca prioridad, siendo ésta 27 de noviembre de 2017.

En esta oportunidad se han citado los documentos WO2017186928 (D1) y WO2017197355 (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, tal como se muestra a continuación:

En resumen, el objeto de la reivindicación 1 se dirige a una secuencia con codones optimizados que codifica para el aflibercept con base en el uso de un algoritmo patentado que tiene en cuenta una variedad de parámetros, y presenta mejor expresión y actividad anti-VEGF en células humanas relevantes para la enfermedad como se indica más adelante.

D1 divulga la secuencia del aflibercept, la cual es 91% idéntica a la secuencia que se reivindica en la presente. D1 no divulga ni sugiere ninguna secuencia de aflibercept con codones optimizados, y mucho menos la secuencia que se reivindica en la presente.

D2, mientras que describe proteínas variantes de la cápside de AAV que confieren una mejor infectividad de células retinianas de primate, no describe ni sugiere el objeto de reivindicación 1.

El experto en la materia, simplemente con base en D1 y/o D2, no podría haber arribado al objeto que se reivindica en la presente sin un trabajo inventivo.

En conjunto, los ejemplos de la presente solicitud demuestran que las secuencias de nucleótidos de la reivindicación 1 proveen una mejor expresión y logran el efecto técnico (bloquear la actividad del VEGF) en un tipo de célula retiniana humana

relevante (RPE) (por ejemplo véanse las figuras 18-23). Como tal, estas secuencias se muestran como sorprendentemente útiles para tratar una variedad de trastornos retinianos mediados por VEGF en pacientes humanos.

El Ejemplo 4 describe la construcción de vectores de expresión rAAV anti-VEGF que incluyen las secuencias de nucleótidos que se especifican en la reivindicación 1 bajo el control de un promotor ubicuo. Notablemente, a estas secuencias se les han optimizado sus codones para una mejor expresión en células humanas. Se demuestra la expresión de las proteínas anti-VEGF en células HEK293.

El Ejemplo 5 confirma la expresión e identidad del agente anti-VEGF codificado (Figura 12A).

El Ejemplo 7 confirma que cada uno de los agentes anti-VEGF codificados (expresados a partir de células transfectadas) bloquea la unión del VEGF a su receptor (y por lo tanto, bloquea la función del VEGF), con curvas de inhibición de los agentes anti-VEGF codificados a la par con comparadores clínicos.

Los Ejemplos 8-12 describen la transducción de células del epitelio pigmentario retiniano (RPE), una célula retiniana relevante para la enfermedad en los trastornos retinianos asociados con el VEGF tales como la degeneración macular húmeda relacionada con la edad y la neovascularización coroidea, con un rAAV que comprende una proteína de la cápside de la SEQ ID NO:42 y que codifica para cada uno de los agentes anti-VEGF (es decir, que corresponde al rAAV que se define en la reivindicación 1). La transducción con cada uno de los vectores rAAV resultó en la no detección de VEGF en el medio debido a que el VEGF se unió completamente al agente anti-VEGF codificado (en comparación con el control, Figura 19), con la neutralización del VEGF observada para todas las proteínas anti-VEGF codificadas. Como evidencia confirmatoria del logro del efecto técnico mediado por las secuencias de nucleótidos de acuerdo con la reivindicación 1, se adjunta a la presente el Anexo 1, el cual describe experimentos *in vitro* en células RPE humanas relevantes para la enfermedad y en un modelo animal de primate no humano (NHP) clínicamente relevante, que demuestran una sólida expresión de los polipéptidos antiangiogénicos codificados por las secuencias de nucleótidos que se definen en la reivindicación 1 después de la transducción del rAAV como se define en la reivindicación 1, así como también una inhibición sustancialmente completa de la actividad del VEGFa en las células RPE humanas para cada uno de los polipéptidos. Los datos de NHP demuestran una expresión robusta y sostenida de los polipéptidos antiangiogénicos codificados por las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID Nos: 65 (aflibercept) que se definen en la reivindicación 1 después de la inyección intraocular del rAAV como se define en la reivindicación 1. Además, se demuestra que la inyección del rAAV en cada caso provee un tratamiento eficaz y seguro para los trastornos relacionados con

el VEGFa tales como la degeneración macular húmeda relacionada con la edad y el edema macular diabético a todas las dosis probadas (1×10^{11} , 3×10^{11} , o 1×10^{12} vg), ya que no se detectaron lesiones de grado IV en los animales tratados después de las lesiones de neovascularización coroidea inducidas por láser (Anexo 2, Figura 6; comparar con el control de vehículo). Notablemente, la inducción con láser de las lesiones de neovascularización coroidea en los NHP es un modelo de neovascularización coroidea en humanos aceptado en el arte y un agente causal en cada uno de los trastornos que se especifican en las reivindicaciones de la presente.

En resumen, las reivindicaciones de la presente deben considerarse como inventivas por sobre D1 y D2 debido a que el objeto no es descrito ni sugerido por ninguna combinación de estas referencias y un experto en la materia no hubiese esperado en forma razonable conseguir el o los efectos técnicos superiores demostrados por la evidencia del expediente.

Para finalizar, si bien el solicitante reconoce la independencia de las distintas oficinas intervinientes, se desea señalar que el objeto de las reivindicaciones de la presente ya ha sido buscado y examinado por los Estados Unidos como Autoridad Internacional a Cargo de la Búsqueda (ISA) con respecto a la PCT/US2018/062478 (en donde la presente solicitud es la etapa nacional japonesa) y este resultó novedoso e inventivo por sobre WO2017/197355 (D2):

4DMT no divulga expresamente ningún contenido en donde la secuencia de nucleótidos se seleccione del grupo que consiste en: (i) la secuencia de nucleótidos como se establece en la SEQ ID NO:69 (sc-ranibizumab-Lhl), (ii) la secuencia de nucleótidos como se establece en la SEQ ID NO:65 (aflibercept), y (viii) una secuencia de nucleótidos por lo menos 90%, por lo menos 95%, por lo menos 98%, o por lo menos 98% idéntica a cualquiera de (i-ii)

Ningún documento del arte previo divulga ni hace obvias de ninguna otra manera las secuencias de nucleótidos de las SEQ ID NO:69 o SEQ ID NO:65 reivindicadas ni una secuencia de nucleótidos por lo menos 90% idéntica a las SEQ ID NO:69 o SEQ ID NO:65 reivindicadas, para su combinación con el rAAV de 4DMT. Por lo tanto, la reivindicación 1 limitada a los elementos (i), (ii) y (viii) cumple con los criterios establecidos en el Artículo PCT 33(2)-(3) debido a que el arte previo no divulga ni sugiere completamente el objeto reivindicado.

Además, el objeto que se reivindica en la presente también fue hallado como novedoso e inventivo por sobre D2 por la Oficina Examinadora de la OEP en conexión con la solicitud homóloga europea nro. EP 18881166.5 (la fase nacional europea de PCT/US2018/062478). En particular, de acuerdo con la OEP (ítem 4 de la comunicación del Artículo 94(3)):

D3 [WO2017/197355], que se considera como el arte previo más relevante, divulga la variante de la cápside de AVV "R100" de la presente solicitud, que permite la transferencia génica eficaz a la retina (D3, por ejemplo, reivindicaciones, ejemplos). D3 además divulga el uso de dicha variante de la cápside de AAV para la administración de un polipéptido inhibidor de VEGF como Eylea (aflibercept) para tratar la enfermedad de la retina (D3, por ejemplo, párrafo [00174]).

El problema a solucionar se formula como: proveer un virión de AAV adicional que comprenda la variante de la cápside de AVV R100 y que codifique para un inhibidor de VEGF.

La Solicitud resuelve este problema mediante la divulgación de viriones de AAV que comprenden la cápside R100 y una secuencia de nucleótidos con codones optimizados con la SEQ ID NO:65 que codifica para el aflibercept.

El uso de dicho transgén específico con codones optimizados no es divulgado ni sugerido por el arte previo disponible. Los ejemplos muestran que dichas construcciones son capaces de inhibir la actividad de VEGF en las células RPE (por ejemplo, figuras 18-23).

Se puede seguir la argumentación presentada en forma electrónica el 10.7.2021 con respecto a las variantes abarcadas por las reivindicaciones de la presente. Por lo tanto, se puede reconocer actividad inventiva para las reivindicaciones 1-11. (énfasis añadido)

En resumen, dos autoridades examinadoras distintas ya han hallado al objeto que se reivindica en la presente como novedoso e inventivo por sobre la misma referencia primaria del arte previo que cita el examinador en el oficio que se contesta. Se hace notar que el examinador es responsable de proveer una base fáctica y legal para concluir que el objeto reivindicado carece de actividad inventiva. Al hacerlo, el examinador debe exponer los hallazgos y los fundamentos de los mismos, tal como se fundamenta en la evidencia del expediente, y articular la aplicación de la ley. El solicitante respetuosamente señala que en el presente caso no se ha articulado ninguna justificación clara y basada en hechos para hallar al objeto que se reivindica en la presente como carente de actividad inventiva, un hallazgo que es notablemente contrario a los hallazgos de dos autoridades distintas en vista de la misma evidencia del expediente.

Considerando todo lo anterior, es claro entonces que la persona normalmente versada en la materia, de acuerdo con las enseñanzas de D1 y D2, no llegaría a la presente invención, tal como se reclama en las nuevas reivindicaciones 1 a

19presentadas junto con este memorial. Por lo tanto, la invención cumple con los requerimientos de los artículos 16 y 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

Solicito al Despacho que en este caso acepte el nuevo pliego reivindicatorio y los argumentos aquí presentados.

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.

6. 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.

7. Anexos

- Nuevo pliego reivindicatorio conformado por diecinueve (19) reivindicaciones reivindicaciones.
- Anexo 1 – Efecto técnico mediado por las secuencias de nucleótidos de acuerdo con la reivindicación 1.
- Comprobante de pago en línea por concepto de modificación a las reivindicaciones.
- Comprobante de pago en línea por concepto de 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
P5450

REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico que codifica un inhibidor de VEGF-A, donde dicho ácido nucleico comprende:

- (i) la secuencia de nucleótidos definida como SEQ ID NO: 65 (aflibercept)
- (ii) la secuencia de nucleótidos como se establece en los nucleótidos 79-1377 de SEQ ID NO: 65 (aflibercept) o
- (iii) una secuencia de nucleótidos al menos 90% idéntica a la secuencia de nucleótidos definida en (i) o (ii) y que codifica la secuencia de aminoácidos definida como SEQ ID NO:66 o codifica la secuencia de aminoácidos de los aminoácidos 27-458 de la SEQ ID NO: 66.

2. El ácido nucleico según la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos es al menos 95% idéntica a la secuencia de nucleótidos definida en cualquiera de (i) o (ii).

3. El ácido nucleico según la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos es al menos 99% idéntica a la secuencia de nucleótidos definida en cualquiera de (i) o (ii).

4. El ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1, donde la secuencia de nucleótidos comprende la secuencia de nucleótidos definida en (i) o (ii).

5. Un vector de virus adenoasociado (AAV) que comprende un ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la secuencia de nucleótidos definida en (i) o (ii) está unida operativamente a una secuencia de control de expresión.

6. El vector de rAAV según la reivindicación 5, en donde la secuencia de control de la expresión comprende un promotor ubicuo.

7. El vector de rAAV según la reivindicación 6, en donde el promotor ubicuo se selecciona de un promotor CMV, CAG y CBA.
8. El vector de AAV según cualquiera de las reivindicaciones 5-7, que comprende (a) un ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos definida en cualquiera de (i) a (iii) o una secuencia de nucleótidos al menos 90% idéntica a cualquiera de (i) a (iii), dicha secuencia de nucleótidos está operativamente unida a una secuencia de control de la expresión y (b) una variante de la proteína de la cápside del virus adenoasociado (AAV) que comprende una inserción peptídica en el bucle GH de la proteína de la cápside en relación con una proteína de la cápside de AAV parental correspondiente, en donde la inserción del péptido comprende la secuencia de aminoácidos ISDQTKH (SEQ ID NO: 14).
9. El vector de rAAV según la reivindicación 8, en donde la inserción del péptido tiene una longitud de 7 a 10 aminoácidos y comprende la secuencia de aminoácidos Y1Y2ISDQTKHY3, en donde cada Y₁-Y₃ se selecciona independientemente entre Ala, Leu, Gly, Ser, Thr, y Pro.
10. El vector de rAAV según la reivindicación 9, en donde la inserción del péptido comprende la secuencia de aminoácidos LAISDQTKHA (SEQ ID NO: 28).
11. El vector de rAAV según cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en donde el sitio de inserción está entre los aminoácidos correspondientes a los aminoácidos 587 y 588 de VP1 de AAV2 (SEQ ID NO:2) o en la posición correspondiente en la proteína de la cápside de otro serotipo AAV.
12. El vector de rAAV según cualquiera de las reivindicaciones 8-11, en donde la proteína de la cápside comprende una o más sustituciones de aminoácidos en relación con la cápside VP1 de AAV2 (SEQ ID NO: 2) o una o más sustituciones correspondientes en otro serotipo de AAV.

13. El vector de rAAV según la reivindicación 12, en donde la proteína de la cápside comprende una sustitución de aminoácido P34A en relación con la cápside VP1 de AAV2 (SEQ ID NO: 2) o la correspondiente sustitución en otro serotipo de AAV.

14. El vector de rAAV de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la proteína de la cápside comprende (i) la secuencia de aminoácidos ISDQTKH (SEQ ID NO: 14) y (ii) una sustitución de aminoácidos P34A, y es al menos 90% idéntica a la secuencia definida como SEQ ID NO:42.

15. El vector de rAAV según la reivindicación 14, en donde la proteína de la cápside comprende la secuencia de aminoácidos definida como SEQ ID NO:42.

16. El vector de rAAV según cualquiera de las reivindicaciones 5-15, en donde el ácido nucleico comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un ARN de interferencia que inhibe la angiogénesis.

17. El vector de rAAV de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el ARN de interferencia disminuye la expresión de un producto génico pro-angiogénico seleccionado entre VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd, VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, PGF, PDGF y una angiopoyetina.

18. Una composición farmacéutica que comprende el ácido nucleico según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o el rAAV según cualquiera de las reivindicaciones 5-17 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

19. Un método *in vitro* para administrar un inhibidor de VEGF a una célula de la retina, una célula coroidea, una célula lenticular, una célula ciliar, una célula del iris, una célula del nervio óptico y/o una célula de la córnea, que comprende poner en contacto la célula con la composición farmacéutica según la reivindicación 18.

EXHIBIT 1

In Vitro Expression of Anti-Angiogenic Polypeptides and Inhibition of VEGF in Human Retinal Pigment Epithelia Cells

The inventors of Colombian Patent Application No. 2020/0007671 generated a human *in vitro* model system to evaluate transgene expression and function in human iPSC-derived RPE cells (a disease-relevant cell type). Briefly, human fibroblasts were reprogrammed into iPSCs followed by differentiation into RPE cells (confirmed by the presence of RPE-specific markers). This RPE cell model system was used to confirm transcript and protein expression of anti-angiogenic polypeptides and the corresponding inhibition of VEGF following delivery of the transgene sequences of the 2020/0007671 application by rAAV particles comprising a capsid protein as defined in claim 14 of the 2020/0007671 application (SEQ ID NO:42; “R100”) and a heterologous nucleic acid comprising nucleotide sequences as defined in claim 1 of the 2020/0007671 application, operably linked to a CAG promoter. The nucleotide sequences included the sequence of SEQ ID NO:69 (sc-ranibizumab-LH1 aka “anti-VEGF scFab”), SEQ ID NO:65 (aflibercept aka anti-VEGF trap) and SEQ ID NO:74 (brolucizumab aka “anti-VEGF scFv”). An additional construct containing a heterologous nucleic acid comprising the nucleotide sequence of SEQ ID NO:65 (encoding an anti-VEGF trap/aflibercept) and a nucleotide sequence encoding an interfering RNA that reduces expression of a pro-angiogenic gene (miRNA targeting VEGF-C) was also tested.

Briefly, the RPE cells were transduced with the aforementioned rAAV at multiple MOIs ranging from 0.14 to 1,000 vg/cell. Supernatants from transduced RPE cells were collected 7 days post-transduction, and two separate ELISA analyses were carried out to (i) measure expression of anti-VEGF and (ii) measure expression of VEGF-A produced by the RPE cells. In both cases, rAAV with a capsid protein of SEQ ID NO:42 and heterologous nucleic acid encoding CAG-GFP was used as a negative control. VEGF-C expression levels were also assessed. Collected supernatants showed dose-dependent increase in anti-VEGF expression, as well as a dose-dependent inhibition of VEGF-A (Figure 1, representing the results of two separate assays performed from a single transduction). Furthermore, a correlation between the complete neutralization of VEGF-A and the appearance of free aflibercept (AFLB) within the dose response is observed (Figure 1). Thus, rAAV as defined in the claims of the 2020/0007671 Application successfully delivered nucleotide sequences defined in claim 1 and encoding the specified anti-

angiogenic polypeptides to RPE cells resulting in expression of the respective anti-VEGF protein and inhibition of VEGF-A in the disease-relevant human cells in each case. In addition, the construct containing an anti-VEGF-C miRNA also showed a dose-dependent inhibition of VEGF-C (Figure 2).

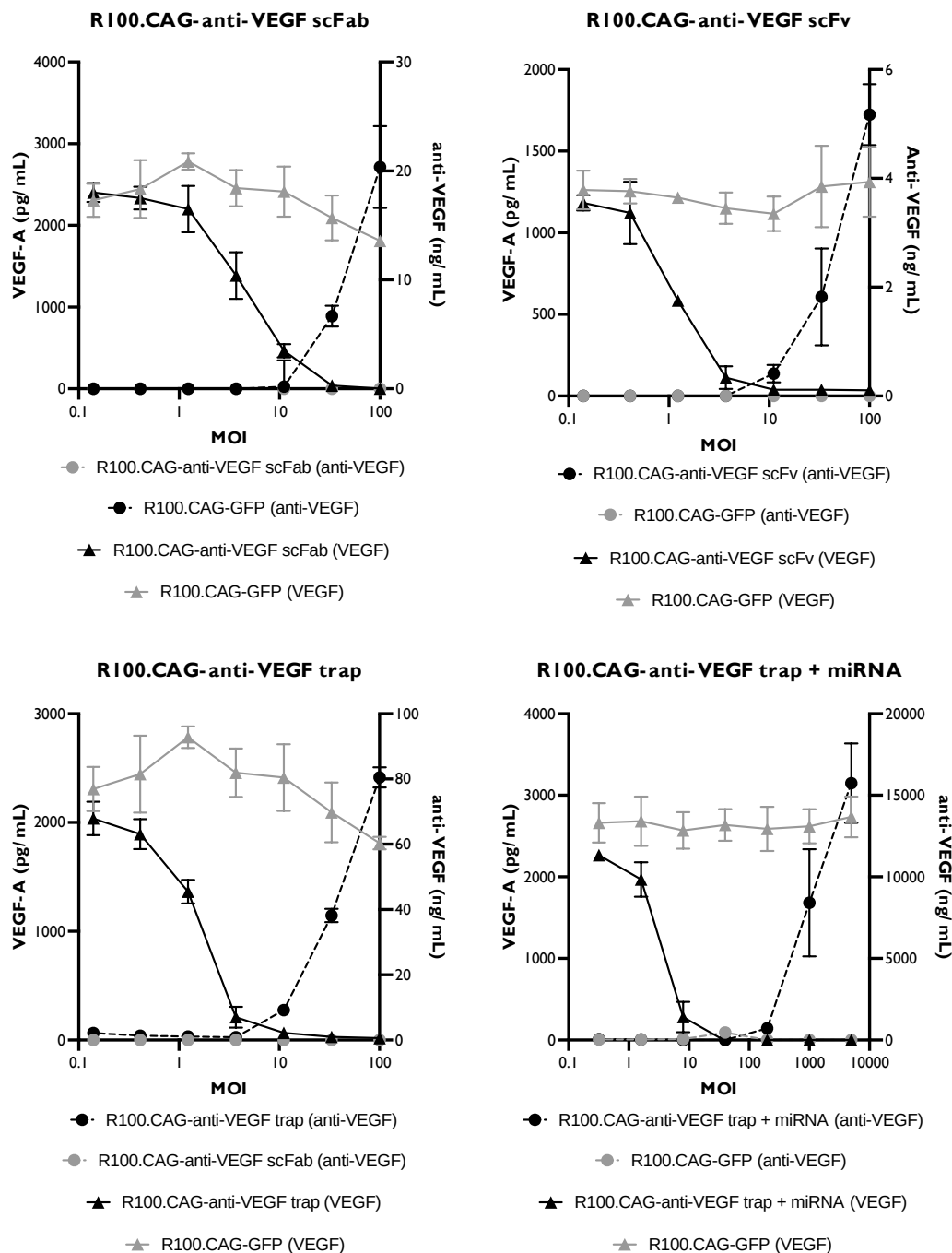


Figure 1. Expression of Anti-Angiogenic Polypeptides and Inhibition of VEGF-A in Human RPE Cells. Analysis of VEGF-A inhibition and anti-VEGF expression in the media of human RPE transduced by rAAV particles comprising a capsid protein having the amino acid sequence set forth

as SEQ ID NO:42 of the 2020/0007671 Application (R100) and a heterologous nucleic acid comprising nucleotide sequences defined in claim 1 encoding the respective antiangiogenic polypeptides operably linked to a CAG promoter or control virus, at 7 days post-transduction. BLQ values are represented as “0” for the purposes of graphical visualization.

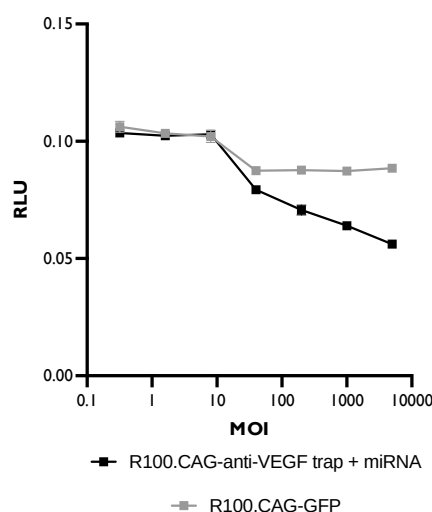


Figure 2. Expression of Interfering RNA and Inhibition of VEGF-C in Human RPE Cells.

Analysis of VEGF-C inhibition in the media of human RPE transduced by an rAAV comprising a capsid protein having the amino acid sequence set forth as SEQ ID NO:42 of the 2020/0007671 Application (R100) and a heterologous nucleic acid comprising a nucleotide sequence encoding an anti-VEGF trap (aflibercept) antiangiogenic polypeptide and a nucleotide sequence encoding an interfering RNA that reduces expression of a pro-angiogenic gene (miRNA targeting VEGF-C) or control virus (R100.CAG-GFP), at 7 days post-transduction.

In Vivo Delivery of rAAV to the retina of relevant non-human primates and expression of transgene in the retina

The present inventors have completed two studies in non-human primates (African green monkeys and cynomolgus macaques) with bilateral intravitreally administered rAAV comprising a capsid of SEQ ID NO:42 and heterologous nucleic acid comprising nucleotide sequence as defined in claim 1 of the 2020/0007671 application (encoding the specified antiangiogenic polypeptide(s)) operably linked to a CAG promoter.

First, to assess expression of an anti-VEGF scFv (brolocizumab, encoded by SEQ ID NO:74) *in vivo*, NHPs (African green monkeys) were administered an rAAV vector comprising (i) a capsid of SEQ ID NO:42 (LAISDQTKHA insertion + P34A amino acid substitution) and (ii) a nucleic acid comprising nucleotide sequence of SEQ ID NO:74, encoding an anti-VEGF secreted

single-chain antibody variable fragment (scFv; brolocizumab) operably linked to a CAG promoter at doses of either 1×10^{11} or 1×10^{12} vg/eye via intravitreal injection. Brolocizumab was assessed over time in aqueous humor by ELISA. Brolocizumab protein was detected in aqueous humor of all treated animals in a dose-dependent manner (Figure 3). Expression was detected as early as 7 days post-dosing with levels maintained through 12 months post-dosing (Figure 3). R100-mediated expression was observed in all NHP eyes at all time points for both doses evaluated (Figure 3).

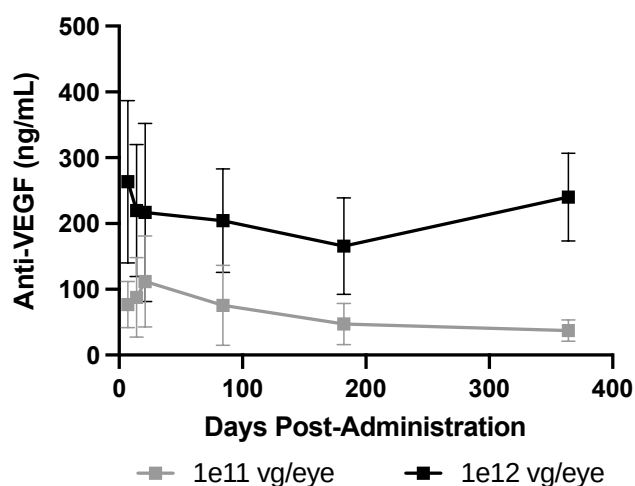


Figure 3. In vivo expression of R100 expressing anti-VEGF scFv transgene. NHP (n=6) were dosed bilaterally IVT with vehicle or anti-VEGF scFv and choroidal neovascularization induced 42 days post-dose. Levels of anti-VEGF scFv were assessed in aqueous humor at various time points.

Six weeks post-administration, NHPs underwent laser photocoagulation to the perimacular region of the retina to induce choroidal neovascular lesions. Two and four weeks after administration of the laser, lesions were assessed by fluorescein angiography, and the number of total assessable lesions per eye and the number of grade IV CNV lesions (defined by hyperfluorescence early or mid-transit with late leakage extending beyond borders of the treated area) per eye was determined. Representative images of the incidence of grade IV lesions in vehicle control-treated animals was 26% (19/72) at both timepoints, which is within the previously published range of performance for this model (25% - 40%). In contrast, no grade IV lesions were detected in any animals treated with R100.CAG-anti-VEGF scFv at either 1×10^{11} or 1×10^{12} vg/eye (0/72 and 0/54 at two weeks; 0/72 and 0/60 at four weeks, respectively; Figure 4), demonstrating a significant improvement compared to vehicle controls. No significant product-related toxicities

were observed with R100.CAG-anti-VEGF scFv at either dose level, as determined by clinical observations.

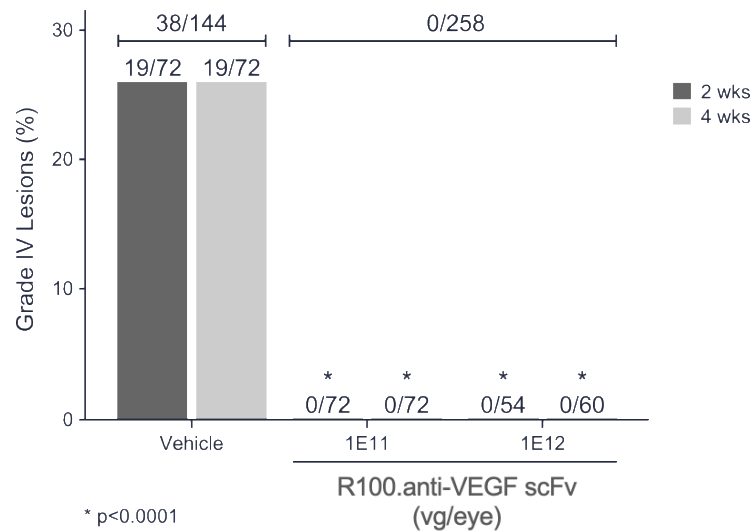


Figure 4. In vivo function of R100 expressing anti-VEGF scFv transgene. Incidence of grade IV lesions at two (black) and four (gray) weeks post-laser treatment. Numbers indicate total grade IV lesions above total assessable lesions per group. * p < 0.0001 compared to vehicle using Fisher's exact test.

Next, to assess expression of an anti-VEGF trap and an interfering RNA *in vivo*, NHPs (cynomolgus macaques) were administered an rAAV vector comprising (i) a capsid of SEQ ID NO:42 (LAISDQTKHA insertion + P34A amino acid substitution) and (ii) a nucleic acid encoding an anti-VEGF trap (aflibercept) and miRNA targeting VEGF-C operably linked to a CAG promoter at a dose of 1×10^{12} vg/eye via intravitreal injection. Aqueous humor, vitreous humor, and retinal tissue were collected 29 days post-dosing. Anti-VEGF trap **protein** expression was assessed by ELISA. Anti-VEGF trap was detected in all samples (Figure 5). Levels of anti-VEGF-C miRNA were assessed (by RT-qPCR). Of the samples available for ID#3508, two samples (one each from the left and right eyes) were not analyzed. Three of the analyzed samples were below the limit of detection (BLOD). The remaining samples demonstrated expression of miRNA targeting VEGF-C (Figure 5).

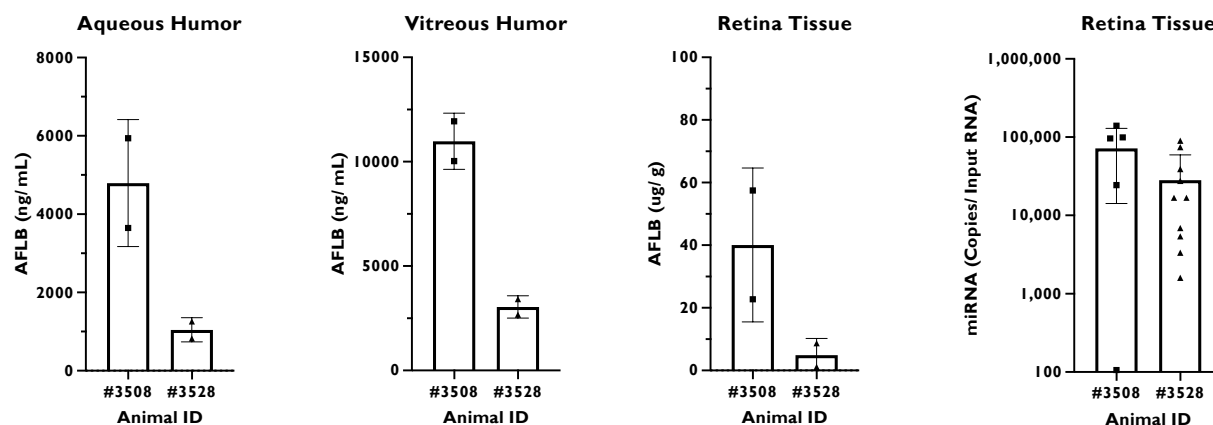


Figure 5. In vivo expression of R100 expressing anti-VEGF trap transgene and miRNA targeting VEGF-C. NHP (n=2) were dosed bilaterally IVT with anti-VEGF trap and miRNA targeting VEGF-C and retinal tissue was harvested 29 days post-dose. Levels of anti-VEGF trap were assessed in aqueous humor, vitreous humor, and retinal tissue. Levels of anti-VEGF-C miRNA were assessed (by RT-qPCR) in retinal tissue.

Finally, NHPs (African green monkeys) were administered an rAAV vector comprising (i) a capsid of SEQ ID NO:42 (LAISDQTKHA insertion + P34A amino acid substitution) and (ii) a nucleic acid encoding an anti-VEGF trap (aflibercept) and miRNA targeting VEGF-C operably linked to a CAG promoter at doses of either 1×10^{11} , 3×10^{11} , or 1×10^{12} vg/eye via intravitreal injection. Six weeks post-administration, NHPs underwent laser photocoagulation to the perimacular region of the retina to induce choroidal neovascular lesions. Two and four weeks after administration of the laser, lesions were assessed by fluorescein angiography, and the number of total assessable lesions per eye and the number of grade IV CNV lesions (defined by hyperfluorescence early or mid-transit with late leakage extending beyond borders of the treated area) per eye was determined. No grade IV lesions were detected in any animals treated with R100.CAG-anti-VEGF trap + miRNA at any dose and any timepoint (Figure 6), demonstrating a significant improvement compared to vehicle controls. No significant product-related toxicities were observed with R100.CAG-anti-VEGF trap + miRNA at any dose level, as determined by clinical observations.

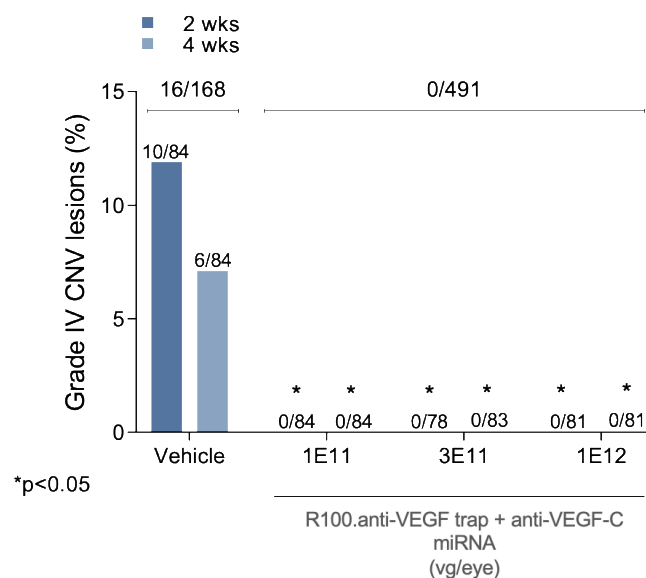


Figure 6. In vivo function of R100 expressing anti-VEGF trap transgene. Incidence of grade IV lesions at two (dark blue) and four (light blue) weeks post-laser treatment. Numbers indicate total grade IV lesions above total assessable lesions per group. * $p < 0.0001$ compared to vehicle using Fisher's exact test.

ANEXO 1

Expresión In Vitro de Polipéptidos Anti-Angiogénicos e Inhibición de VEGF en Células del Epitelio Pigmentario Retiniano Humano

Los inventores de la Solicitud de Patente Colombiana No. 2020/0007671 generaron un sistema modelo humano *in vitro* para evaluar la expresión y la función de los transgenes en células RPE derivadas de iPSC humanas (un tipo celular de relevancia para la enfermedad). En resumen, se reprogramaron fibroblastos humanos a iPSC seguido por la diferenciación a células RPE (confirmado por la presencia de marcadores específicos de RPE). Este sistema modelo de células RPE se usó para confirmar la expresión a nivel de transcripto y de proteína de los polipéptidos antiangiogénicos y la correspondiente inhibición del VEGF después de la administración de las secuencias de los transgenes de la solicitud 2020/0007671 mediante partículas de rAAV que comprenden una proteína de la cápside como se define en la reivindicación 14 de la solicitud 2020/0007671 (SEQ ID NO:42; “R100”) y un ácido nucleico heterólogo que comprende las secuencias de nucleótidos como se definen en la reivindicación 1 de la solicitud 2020/0007671, ligados de manera operativa a un promotor CAG. Las secuencias de nucleótidos incluyeron la secuencia de la SEQ ID NO:69 (sc-ranibizumab-LH1 alias “scFab anti-VEGF”), la SEQ ID NO:65 (aflibercept alias trap anti-VEGF) y la SEQ ID NO:74 (brolucizumab alias “scFv anti-VEGF”). También se ensayó una construcción adicional que contiene un ácido nucleico heterólogo que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO:65 (que codifica para un trap anti-VEGF/aflibercept) y una secuencia de nucleótidos que codifica para un ARN de interferencia que reduce la expresión de un gen proangiogénico (miARN contra VEGF-C).

En resumen, se transdujeron las células RPE con el rAAV antes mencionado a múltiples MOI en el rango entre 0,14 y 1,000 vg/célula. Se recolectaron los sobrenadantes de las células RPE transducidas 7 días después de la transducción, y se realizaron dos análisis de ELISA separados para (i) medir la expresión del anti-VEGF y (ii) medir la expresión del VEGF-A producido por las células RPE. En ambos casos, se usó el rAAV con una proteína de la cápside de la SEQ ID NO:42 y un ácido nucleico heterólogo que codifica para CAG-GFP como control negativo. También se evaluaron los niveles de expresión de VEGF-C. Los sobrenadantes recolectados mostraron un incremento de la expresión del anti-VEGF dependiente de la dosis, así como también una inhibición de VEGF-A dependiente de la dosis (Figura 1, que representa los resultados de dos ensayos

separados llevados a cabo a partir de una única transducción). Más aún, se observa una correlación entre la neutralización completa del VEGF-A y la aparición del aflibercept libre (AFLB) dentro de la respuesta a las dosis (Figura 1). Por lo tanto, el rAAV como se define en las reivindicaciones de la Solicitud 2020/0007671 administró en forma exitosa a las células RPE las secuencias de nucleótidos que se definen en la reivindicación 1 y que codifican para los polipéptidos antiangiogénicos especificados, resultando en cada caso en la expresión de la respectiva proteína anti-VEGF y la inhibición del VEGF-A en las células humanas relevantes para la enfermedad. Además, la construcción que contenía un miARN anti-VEGF-C también presentó una inhibición del VEGF-C dependiente de la dosis (Figura 2).

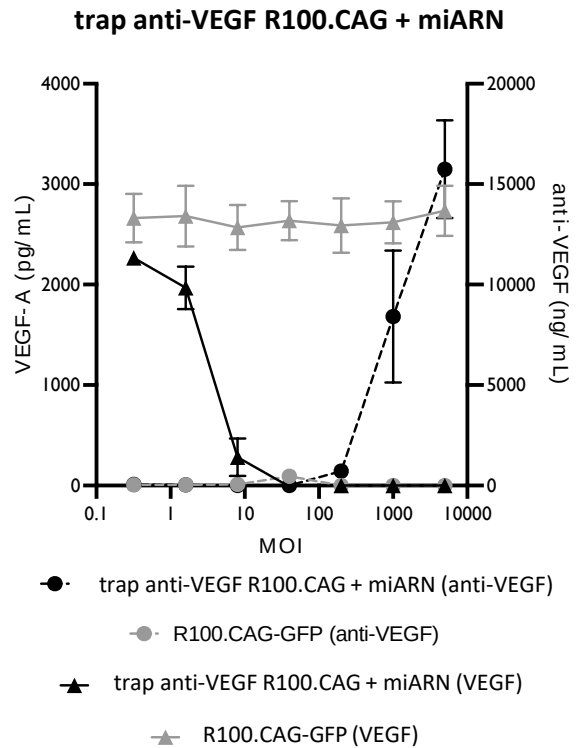
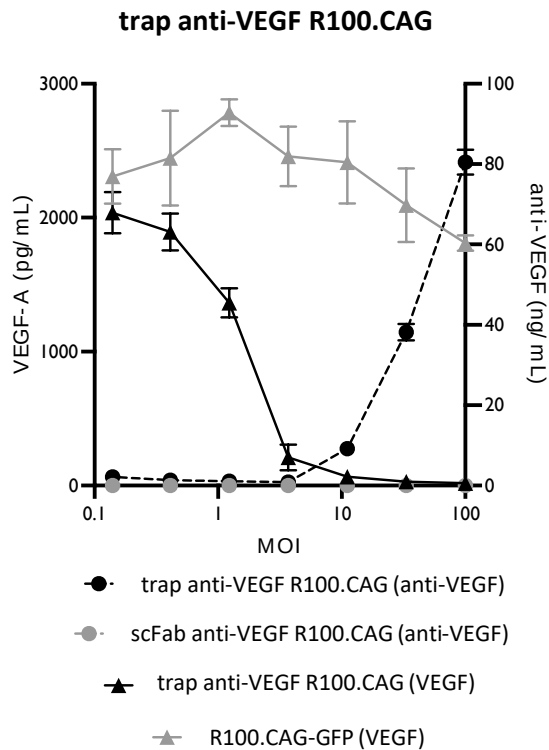
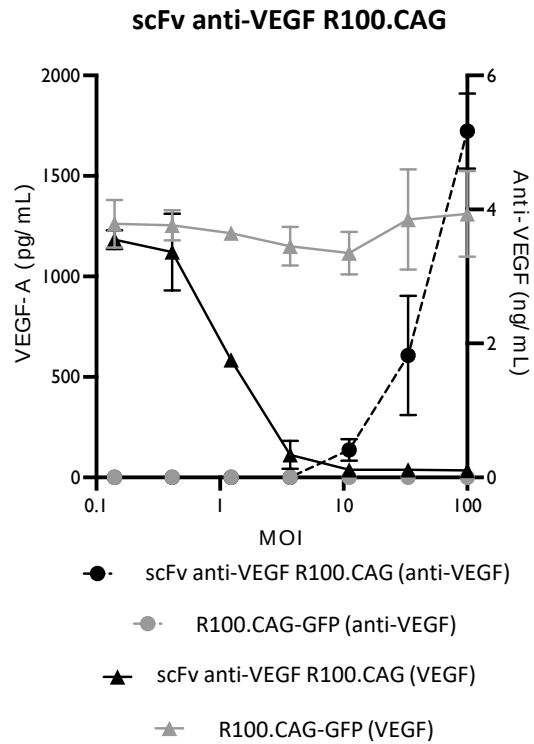
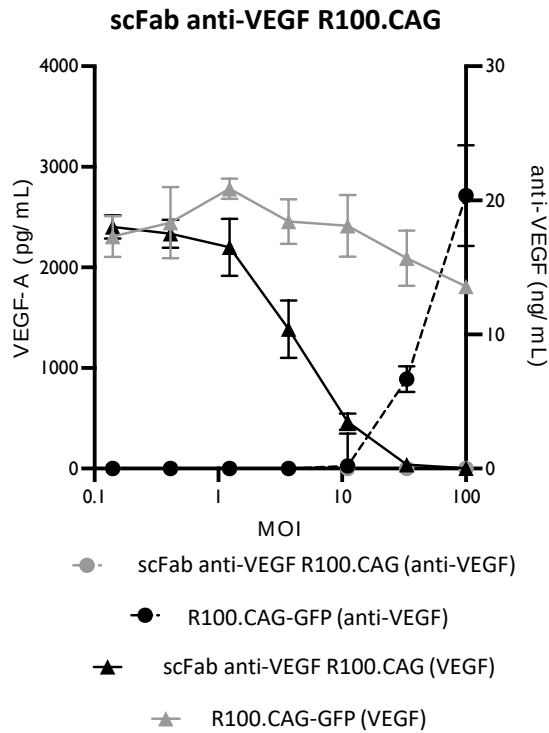


Figura 1. Expresión de polipéptidos antiangiogénicos e inhibición de VEGF-A en células RPE humanas. Análisis de la inhibición de VEGF-A y de la expresión de anti-VEGF en el medio de RPE humanas transducidas con partículas de rAAV que comprenden una proteína de la cápside que tiene la secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO:42 de la Solicitud 2020/0007671 (R100) y un ácido nucleico heterólogo que comprende las secuencias de nucleótidos que se definen en la reivindicación 1 que codifican para los respectivos polipéptidos antiangiogénicos ligados de manera operativa a un promotor CAG o virus control, a los 7 días después de la transducción. Los valores de BLQ se representan como “0” para los fines de la visualización gráfica.

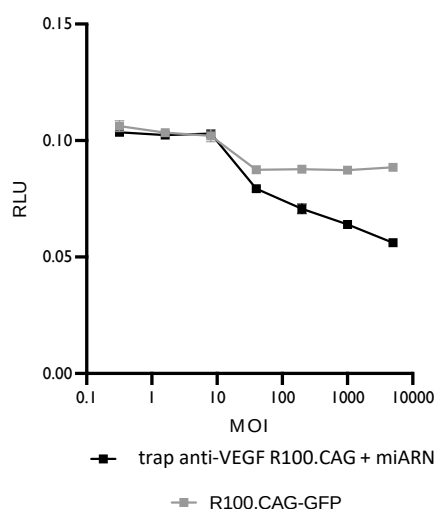


Figura 2. Expresión de ARN de interferencia e inhibición de VEGF-C en células RPE humanas. Análisis de la inhibición de VEGF-C en el medio de RPE humanas transducidas con un rAAV que comprende una proteína de la cápside que tiene la secuencia de aminoácidos como se establece en la SEQ ID NO:42 de la Solicitud 2020/0007671 (R100) y un ácido nucleico heterólogo que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido antiangiogénico trap anti-VEGF (aflibercept) y una secuencia de nucleótidos que codifica para un ARN de interferencia que reduce la expresión de un gen proangiogénico (miARN contra VEGF-C) o virus control (R100.CAG-GFP), a los 7 días después de la transducción.

Administración in vivo de rAAV a la retina de primates no humanos relevantes y expresión del transgén en la retina

Los presentes inventores han completado dos estudios en primates no humanos (monos verdes africanos y macacos cinomolgos) con un rAAV administrado en forma intravítrea bilateral que comprende una cápside de la SEQ ID NO:42 y un ácido nucleico heterólogo que comprende la secuencia de nucleótidos como se define en la reivindicación 1 de la solicitud 2020/0007671 (que codifica para el o los polipéptidos antiangiogénicos especificados ligados de manera operativa a un promotor CAG.

En primer lugar, para evaluar la expresión de un scFv anti-VEGF (brolucizumab, codificado por la SEQ ID NO:74) *in vivo*, se administró a NHP (monos verdes africanos) un vector rAAV que comprende (i) una cápside de la SEQ ID NO:42 (inserción LAISDQTKHA + sustitución de aminoácido P34A) y (ii) un ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO:74, que codifica para un fragmento variable de anticuerpo de cadena individual anti-VEGF secretado (scFv; brolucizumab) ligado de manera operativa a un promotor CAG a dosis de 1×10^{11} o 1×10^{12} vg/ojo por inyección intravítrea. El brolucizumab se evaluó a lo largo del tiempo en el humor acuoso por ELISA. La proteína Brolucizumab se detectó en el humor acuoso de todos los animales tratados de una manera dependiente de la dosis (Figura 3). La expresión se detectó tan pronto como a los 7 días después de la dosificación con niveles mantenidos durante 12 meses después de la dosificación (Figura 3). Se observó la expresión mediada por R100 en los ojos de todos los NHP en todos los puntos de tiempo para ambas dosis evaluadas (Figura 3).

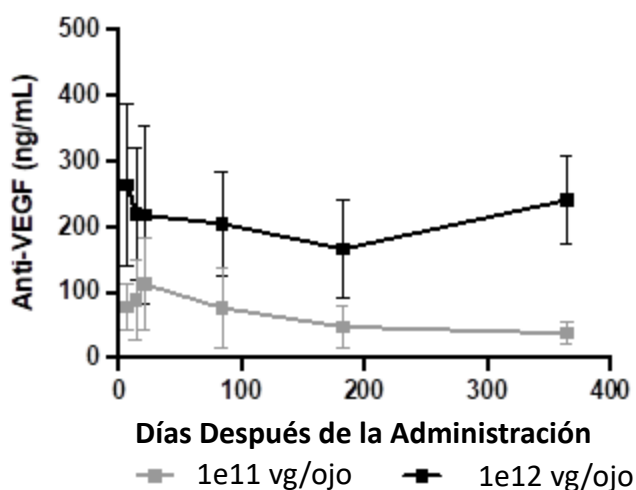


Figura 3. Expresión in vivo de R100 que expresa el transgén de scFv anti-VEGF. Se dosificaron los NHP (n=6) IVT en forma bilateral con vehículo o scFv anti-VEGF y se

indujo la neovascularización coroidea 42 días después de la dosis. Se evaluaron los niveles de scFv anti-VEGF en el humor acuoso a varios puntos de tiempo.

Seis semanas después de la administración, se sometió a los NHP a fotocoagulación con láser en la región perimacular de la retina para inducir lesiones de neovascularización coroidea. A las dos y a las cuatro semanas después de la administración del láser, se evaluaron las lesiones por angiografía con fluoresceína, y se determinó el número de lesiones totales evaluables por ojo y el número de lesiones de CNV de grado IV (definidas por hiperfluorescencia de tránsito temprano o medio con fuga tardía que se extiende más allá de los bordes del área tratada) por ojo. Las imágenes representativas de la incidencia de las lesiones de grado IV en los animales tratados con control de vehículo fue de 26% (19/72) en ambos puntos de tiempo, lo cual está dentro del rango previamente publicado de desempeño para este modelo (25% a 40%). Por el contrario, no se detectaron lesiones de grado IV en ninguno de los animales tratados con scFv anti-VEGF R100.CAG a 1×10^{11} o a 1×10^{12} vg/ojo (0/72 y 0/54 a las dos semanas; 0/72 y 0/60 a las cuatro semanas, respectivamente; Figura 4), lo que demuestra una mejora significativa en comparación con los controles de vehículo. No se observaron toxicidades significativas relacionadas con el producto para el scFv anti-VEGF R100.CAG a ningún nivel de dosis, según lo determinado a través de las observaciones clínicas.

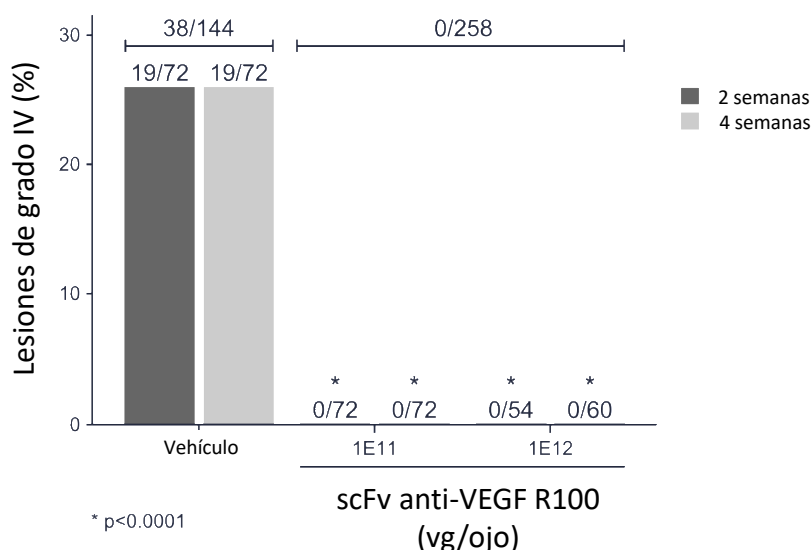


Figura 4. Función in vivo de R100 que expresa el transgén scFv anti-VEGF. Incidencia de las lesiones de grado IV a las dos (negro) y cuatro (gris) semanas después del tratamiento con láser. Los números indican las lesiones de grado IV totales

por arriba de las lesiones totales evaluables por grupo. * $p < 0,0001$ en comparación con el vehículo usando la prueba exacta de Fisher.

Luego, para evaluar la expresión de un trap anti-VEGF y un ARN de interferencia *in vivo*, se administró a los NHP (macacos cinomolgos) un vector rAAV que comprende (i) una cápside de la SEQ ID NO:42 (inserción LAISDQTKHA + sustitución de aminoácido P34A) y (ii) un ácido nucleico que codifica para un trap anti-VEGF (aflibercept) y miARN contra VEGF-C ligado de manera operativa a un promotor CAG a una dosis de 1×10^{12} vg/ojo mediante inyección intravítrea. Se recolectó humor acuoso, humor vítreo y tejido retiniano 29 días después de la dosificación. Se evaluó la expresión de la **proteína** trap anti-VEGF por ELISA. Se detectó el trap anti-VEGF en todas las muestras (Figura 5). Se evaluaron los niveles de miARN anti-VEGF-C (por RT-qPCR). De las muestras disponibles para ID#3508, dos muestras (una del ojo izquierdo y una del derecho) no se analizaron. Tres de las muestras analizadas estuvieron por debajo del límite de detección (BLOD). El resto de las muestras mostraron expresión del miARN contra VEGF-C (Figura 5).

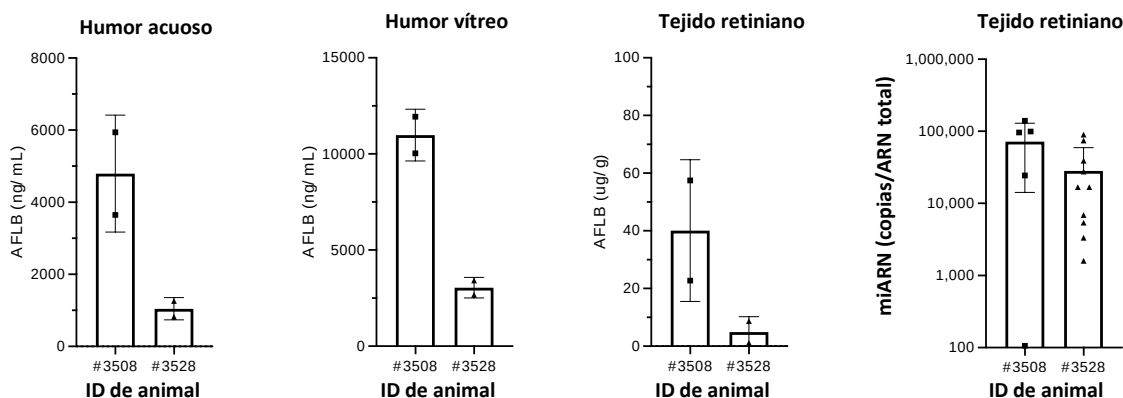


Figura 5. Expresión *in vivo* de R100 que expresa el transgén de trap anti-VEGF y miARN contra VEGF-C. Se dosificaron los NHP (n=2) IVT en forma bilateral con trap anti-VEGF y miARN contra VEGF-C y se recolectó tejido de retina 29 días después de la dosis. Se evaluaron los niveles de trap anti-VEGF en el humor acuoso, humor vítreo y tejido retiniano. Se evaluaron los niveles de miARN anti-VEGF-C (por RT-qPCR) en el tejido retiniano.

Finalmente, se administró a los NHP (monos verdes africanos) un vector rAAV que comprende (i) una cápside de la SEQ ID NO:42 (inserción LAISDQTKHA + sustitución de aminoácido P34A) y (ii) un ácido nucleico que codifica para un trap anti-VEGF (aflibercept)

y miARN contra VEGF-C ligado de manera operativa a un promotor CAG a dosis de 1×10^{11} , 3×10^{11} , o 1×10^{12} vg/ojo mediante inyección intravítrea. Seis semanas después de la administración, se sometió a los NHP a fotocoagulación con láser en la región perimacular de la retina para inducir lesiones de neovascularización coroidea. Dos y cuatro semanas después de la administración del láser, se evaluaron las lesiones por angiografía con fluoresceína y se determinó el número de lesiones totales evaluables por ojo y el número de lesiones de CNV de grado IV (definidas por hiperfluorescencia de tránsito temprano o medio con fuga tardía que se extiende más allá de los bordes del área tratada) por ojo. No se detectaron lesiones de grado IV en ninguno de los animales tratados con trap anti-VEGF R100.CAG + miARN a ninguna de las dosis y en ningún punto de tiempo (Figura 6), lo que demuestra una mejora significativa en comparación con los controles de vehículo. No se observaron toxicidades significativas relacionadas con el producto con el trap anti-VEGF R100.CAG + miARN a ningún nivel de dosis, según lo determinado a través de las observaciones clínicas.

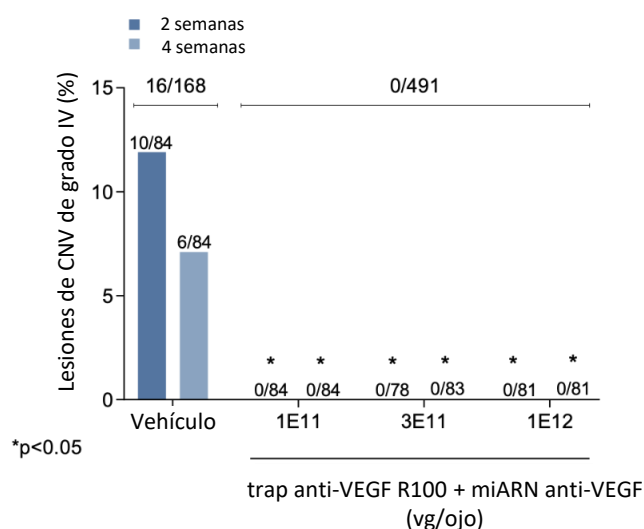


Figura 6. Función in vivo de R100 que expresa el transgén trap anti-VEGF. Incidencia de las lesiones de grado IV a las dos (azul oscuro) y cuarto (celeste) semanas después del tratamiento con láser. Los números indican las lesiones de grado IV totales por arriba de las lesiones totales evaluables por grupo. * $p < 0,0001$ en comparación con el vehículo usando la prueba exacta de Fisher.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0007671
Recibo: 23-142714
Fecha: 17/01/2023

CASTELLANOS & CO
NI: 8.001.746.411
Pago PSE No: 784227
CUS: 1869092655

Patente PCT
CÁPSIDES VARIANTES DE VIRUS ADENOASOCIADOS Y SU USO PARA INHIBIR LA ANGIOGÉNESIS

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	\$ 1,325,500	\$ 1,325,500
2	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 196,000	\$ 196,000
TOTAL					\$ 1,521,500