

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Expediente No. NC2020/0007046

Solicitud de Patente de Invención titulada: “PLATAFORMAS DE ENTREGA DE ARN DE GUÍA ÚNICA CRISPR TRUNCADO”

Solicitante: UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS

Nuestra Ref.: P2020/000091

RESPUESTA AL OFICIO No. 16313, NOTIFICADO EL 07 DE OCTUBRE DE 2022
(PRIMER EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado el 24 de febrero de 2021 como modificaciones voluntarias. Así entonces, en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto se realizan las siguientes modificaciones:

- las antiguas Reivindicaciones 2, 13, 14, 17 y 18 fueron eliminadas;
- la Reivindicación 1 se modificó para hacer referencia a una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región truncada de vástago 2, lo cual encuentra sustento en la antigua Reivindicación 2 eliminada;
- a lo largo del Capítulo Reivindicatorio, se aclaró que el sgARN, correspondía a un sgARN de *Neisseria meningitidis*;

- la nueva Reivindicación 3 (antigua Reivindicación 4) fue modificada para eliminar la referencia a la longitud de 121 nucleótidos del grupo de longitudes que pueden caracterizar la sgARN reclamada;
- la nueva Reivindicación 4 (antigua Reivindicación 5) fue modificada para mencionar cuál es la secuencia de sgARN reclamada y para eliminar las denominaciones “*Nme1Cas9*” y “*Nme2Cas9*”;
- las nuevas Reivindicaciones 6 a 13 (antiguas Reivindicaciones 7 a 16) fueron modificadas eliminando la referencia a un plásmido y haciendo referencia únicamente a un vector vírico adeno-asociado (AAV);
- la nueva Reivindicación 6 (antigua Reivindicación 7) fue modificada para hacer referencia a “Un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada”, lo cual encuentra soporte en la página 3 del Capítulo Descriptivo;
- la nueva Reivindicación 7 (antigua Reivindicación 8) fue modificada para eliminar la expresión “*comprende al menos un promotor*”, y hacer referencia al promotor exacto que se menciona, de tal forma que ahora reclama solamente “El vector AAV de la Reivindicación 6, que además codifica un promotor U6”, lo cual se mencionaba antes en parte de la antigua Reivindicación 9 (nueva reivindicación 8);
- la nueva Reivindicación 8 (antigua Reivindicación 9) fue modificada para eliminar la referencia al promotor U6, como se mencionó en el ítem anterior, de forma que ahora la reivindicación reclama “El vector AAV de la Reivindicación 7, que además codifica un promotor U1a”;
- la nueva Reivindicación 10 (antigua Reivindicación 11) fue modificada para eliminar los errores de redacción que contenía y para mencionar que el sgARN de *Neisseria meningitidis* codificado es al menos parcialmente complementario a un gen de interés, retirando la mención a una “secuencia”, lo cual encuentra soporte en la página 3 del Capítulo Descriptivo;
- se ajustaron la numeración y las dependencias a lo largo del Capítulo Reivindicatorio.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud original.

2. a- El Despacho señala que el título de la invención no se relaciona con el objeto de la misma, por lo cual sugiere modificarlo.

b. Al respecto, me permito señalar que se ha modificado el título de la siguiente manera:

“PLATAFORMAS DE ENTREGA DE ARN DE GUÍA ÚNICA CRISPR TRUNCADO”.

3. a- El Despacho eleva las siguientes objeciones frente al Capítulo Reivindicatorio:

- la Reivindicación 1 no es clara ya que no menciona cuál es la secuencia sgARN reclamada ni la región de repetición truncada, adicionalmente las denominaciones “*Nme1Cas9*” y “*Nme2Cas9*” son arbitrarias, por lo cual no permiten definir la materia reclamada por las características esenciales de la invención e impiden distinguir la invención del estado de la técnica;
- la Reivindicación 2 no es clara porque “*una región del vástago 2 truncada*” pero no menciona cuál es dicha región ni la secuencia de la misma;
- la Reivindicación 5 no es clara porque no menciona cuál es la secuencia de sgARN, ni la región del vástago 2 reclamada, así mismo las denominaciones “*Nme1Cas9*” y “*Nme2Cas9*” son arbitrarias;
- las Reivindicaciones 1 y 5 no son concisas porque reclaman la misma materia, el Despacho se sugiere agrupar las características en una sola reivindicación independiente;
- la Reivindicación 7 no es clara porque no menciona cuál es el plásmido vírico adenoasociado ni cuál es el vector de ácido nucleico de Cas9 de guía única, Además, menciona “*un vector de ácido nucleico de ácido ribonucleico (...)*” cuando debería ser “*un vector de ácido nucleico que comprende un ácido ribonucleico de guía única de Neisseria meningitidis Cas9*”;;
- la Reivindicación 8 no es clara porque se refiere a “*un vector de ácido nucleico de ácido ribonucleico*” cuando debería ser “*un vector de ácido nucleico que comprende un ácido ribonucleico de guía única de Neisseria meningitidis Cas9*”, también menciona “*comprende al menos un promotor*” pero no menciona cuál es dicho promotor;

- la Reivindicación 11 no es clara ya que contiene errores de redacción al incluir el numero “14” en el preámbulo y la expresión “*en donde que dicho*”. Además, no menciona cuál es la secuencia de interés. Adicionalmente, esta secuencia de interés a la cual está dirigida el sgARN, es una característica técnica esencial que debería incluirse en la reivindicación independiente;
- la Reivindicación 13 no es clara porque no menciona cuál es la secuencia de la repetición truncada - secuencia anti-repetición;
- las Reivindicaciones 14 y 17, y 16 y 18, no son concisas porque reclaman la misma materia.

Adicionalmente, el Despacho señala que el capítulo Reivindicatorio no es claro, ya que los elementos esenciales de la invención se encuentran distribuidos en diferentes reivindicaciones. El Despacho sugiere replantear el capítulo reivindicatorio, de manera que la reivindicación independiente incluya todas las características esenciales de la invención.

b- i) En respuesta a estas objeciones, en primer lugar, me permito llamar respetuosamente la atención del Despacho sobre las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, tal como señalé en primer punto de este memorial. Particularmente, se eliminaron las Reivindicaciones 2, 13, 14, 17 y 18, por lo cual considero completamente superadas la objeciones relacionadas con claridad y concisión de estas Reivindicaciones.

ii) Ahora bien, en relación con la objeción de claridad de la Reivindicación 1, me permito presentar respetuosamente mi desacuerdo respecto a la opinión del Despacho, sin embargo, solo para facilitar el trámite de la solicitud, esta reivindicación fue modificada para indicar que se reclama una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región truncada de vástago 2.

Sin perjuicio de la anterior, es importante señalar que los términos Nme1Cas9 y Nme2Cas9 objetados por el Despacho no son arbitrarios ya que son abreviaturas bien conocidas para diferentes ortólogos de *Neisseria meningitidis* Cas9. En este sentido, me permito resaltar que en el Capítulo Descriptivo se han presentado estos ortólogos en repetidas ocasiones, por ejemplo, en la Figura 34 se ilustran tres ortólogos de *Neisseria meningitidis* Cas9 estrechamente relacionados que tienen motivos adyacentes del protoespaciador (PAM)

distintos, la Figura 34A muestra residuos mutados (esferas naranjas) entre Nme2Cas9 (izquierda) y Nme3Cas9 (derecha) mapeados en la estructura predicha de Nme1Cas9, revelando el grupo de mutaciones en el Dominio de interacción-PAM (PID) en negro. Así mismo, en el Capítulo Descriptivo, en la página 23, líneas 18 a 23 se muestra la explicación de la Figura 12A, la cual presenta datos de ejemplo que muestran la eficiencia de la edición de genes en el hígado en el gen *Pcsk9* y el gen *Rosa26* mediante el vector Nme1-Cas9 y de la Figura 12B que presenta datos de ejemplo que muestran la eficiencia de la edición de genes en el hígado en un gen *Pcsk9* y un gen *Rosa26* por un vector Nme1-Cas9.

Adicionalmente, respecto al señalamiento del Despacho que indicaba que en la Reivindicación 1 no se mencionaba cuál es la secuencia sgARN reclamada ni la región de repetición truncada, me permito resaltar que la Figura 1 del Capítulo Descriptivo identifica muy claramente la repetición: antirepetición, así como la región truncada de vástago 2, tal como se menciona ahora en la Reivindicación 1, la cual fue modificada incluyendo el objeto de la antigua Reivindicación 2 para especificar que el sgARN comprende además "*una región truncada de vástago 2*", lo cual además es evidente en la Figura 2 del Capítulo Descriptivo. En particular, la Figura 2 identifica las secuencias de modalidades representativas de regiones de repetición truncada: antirepetición y regiones truncadas de vástago 2.

Por lo anterior, considero que la Reivindicación 1 es clara y concisa y en consecuencia solicito respetuosamente que el Despacho retire las objeciones relacionadas.

iii) Con respecto a la objeción relacionada con la claridad de la antigua Reivindicación 5 (nueva Reivindicación 4), me permito nuevamente llamar la atención del Despacho a las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio adjunto, en donde dicha reivindicación se modificó para reclamar "una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) Cas9 que comprende una región de vástago 2 truncada", por lo que la materia reclamada corresponde a un alcance diferente del de la Reivindicación 1 y la objeción se ha superado.

iv) En relación con las objeción relacionada con la supuesta falta de claridad de la antigua Reivindicación 7 (nueva Reivindicación 6), me permito respetuosamente diferir de la opinión del Despacho, puesto que cualquier persona medianamente versada en la materia entendería la materia reclamada en esta reivindicación en vista de la orientación proporcionada por el Capítulo Descriptivo, ya que allí se

proporciona suficiente información de que los vectores AAV son bien conocidos por integrar y expresar con éxito los vectores relacionados con Cas9, al respecto el Capítulo Descriptivo menciona:

- Se ha demostrado que el virus adenoasociado (AAV) es una lanzadera de entrega con patogenicidad mínima en entornos preclínicos y clínicos, pero tiene una capacidad de empaquetamiento limitada. Nme1Cas9, codificado por un marco de lectura abierto de —3,3 kb, y sus ARN guía están dentro del límite de empaquetamiento de AAV, Nme2Cas9 tiene ventajas similares. A diferencia de SpyCas9, que requiere la entrega mediante vectores separados para sgARN y Cas9, Nme1Cas9, Nme2Cas9 y su sgARN son lo suficientemente pequeños como para administrarse con un solo vector AAV.
- Otros ortólogos Cas9 han sido entregados *in vivo* con éxito por AAV, como Cas9 de *Campylobacter jejuni* (CjeCas9) y *Staphylococcus aureus* (SauCas9). Kim, “*In vivo genome editing with a small Cas9 orthologue derived from Campylobacter jejuni*” *Nat Commun* 8: 14500 (2017); y Ran, “*In vivo genome editing using Staphylococcus aureus Cas9*” *Nature* 520: 186-191 (2015). Nme1Cas9 generalmente se asocia con un PAM GATT N₄, que es diferente al PAM CjeCas9 (ej., N₄RYAC), o el PAM SauCas9 (ej., NNGRRT) (R = purina (A o G), Y = pirimidina (C o T))

A pesar de contar con el respaldo anterior, y solamente con el ánimo de facilitar el trámite de la solicitud, la antigua Reivindicación 7 (nueva Reivindicación 6) se ha modificado de tal forma que ahora reclama un “*vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada*”, de esta manera, el término “*que codifica un ácido ribonucleico*” se refiere a la secuencia de ADN que codifica así una secuencia de aminoácidos, es decir, al orden o secuencia de desoxirribonucleótidos a lo largo de una hebra de ácido desoxirribonucleico que determina el orden de los aminoácidos a lo largo de la cadena polipeptídica (proteína).

Adicionalmente, la antigua Reivindicación 7 (nueva Reivindicación 6) fue modificada también, citando “un sgARN de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: una región anti-repetición y una región truncada de vástago 2” como lo abarcaban las Reivindicaciones 13, 14 y 17 que fueron eliminadas. En consecuencia, las nuevas Reivindicaciones dependientes 7 a 13 se modificaron de manera acorde para que su alcance

corresponda al reclamado en la reivindicación de la cual dependen. Por lo anterior, le solicito respetuosamente al Despacho que retire las objeciones relacionadas.

v) Respecto a la objeción presentada por falta de claridad para la antigua la Reivindicación 8 (nueva la Reivindicación 7), me permito nuevamente llamar la atención del Despacho a las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio adjunto, pues se modificó esta reivindicación para eliminar la expresión “*comprende al menos un promotor*”, y hacer referencia al promotor exacto que se menciona, de tal forma que ahora reclama solamente “El vector AAV de la Reivindicación 6, que además codifica un promotor U6”, lo cual se mencionaba antes en parte de la antigua Reivindicación 9 (nueva reivindicación 8); así mismo, la nueva Reivindicación 8 (antigua Reivindicación 9) fue modificada para eliminar la referencia al promotor U6, de forma que ahora la reivindicación reclama “*El vector AAV de la Reivindicación 7, que además codifica un promotor U1a*”, por lo tanto considero completamente superada la objeción relacionada.

vi) Ahora bien, respecto a la supuesta falta de claridad de la antigua Reivindicación 11 (nueva Reivindicación 10), me permito señalar que los errores de redacción que existían fueron corregidos y adicionalmente se eliminó la limitación de "secuencia" en la reivindicación, por lo tanto, considero completamente superada esta objeción.

vii) De este modo, me permito afirmar que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto cumple con el requisito de claridad establecido en el artículo 30 de la Decisión 486, permitiéndole a la persona medianamente en la materia no sólo entender clara e inequívocamente el alcance reclamado, sino también reproducir la invención a partir de la información contenida en el Capítulo Descriptivo y sus conocimientos del campo técnico sin tener que recurrir a experimentación adicional excesiva.

4. a- El Despacho indica que el Capítulo Descriptivo no divulga la invención de manera suficientemente clara y completa, para que una persona medianamente versada en la materia pueda ejecutarla. En Particular el Despacho señala que existen errores tales como:

- la página 10 menciona “*repetició*”;
- la página 11 menciona “*un bucle R para interrogar*” lo cual no resulta claro;

- la página 37 menciona “*generados por 3 x 10⁹ GC*” y “*generados por 3 x 10⁸ GC de cigotos con AAV6*”, los exponenciales no están puestos de manera adecuada

b- En respuesta a esta objeción me permito anexar al presente memorial hojas sustitutas de las páginas 10, 11 y 37, donde se corrigen errores tipográficos como se describe a continuación:

- en la página 10, línea 31 se corrige el término “*repetició*” por “*repetición*”;
 - en la página 11, línea 6 se corrige el término “*interrogar*” por “*hibridizar con*”;
 - en la página 37, línea 3 se corrige el término “3 x 10⁹” por “3 x 10⁹”;
- en la página 37, línea 4 se corrige el término “3 x 10⁸” por “3 x 10⁸”. Con lo anterior considero totalmente cumplida la solicitud realizada.

5. a- El Despacho manifiesta los dibujos de la solicitud no cumplen los requisitos necesarios para darle claridad a la invención. En particular el Despacho señala los siguientes errores:

- en la figura 2 el texto que indica las secuencias es ilegible;
- en la figura 3 el texto que indica las secuencias es ilegible;
- la figura 4A tiene el texto ilegible y no es posible distinguir cada uno de los nucleótidos en las estructuras;
- la figura 19 no se presenta el nombre de los ejes;
- la figura que aparece como 42 E, tiene debajo un rótulo cortado que menciona figura 5;
- la figura 44A presenta en la parte superior un rótulo cortado con el título de otra figura;
- en la figura 57B los superíndices de la dosis de AAV tiene muy baja resolución y no es claro ni legible el valor respectivo.

b- En respuesta a esta objeción me permito anexar al presente memorial las figuras enmendadas, con las modificaciones solicitadas por el Despacho, con lo cual considero totalmente cumplida la solicitud realizada.

6. a- El Despacho solicita el listado de secuencias en el formato ST. 25.

b- En respuesta a esta solicitud, me permito anexar al presente escrito el listado de secuencias en el formato establecido.

7. a- El Despacho afirma que la presente invención carece de novedad a la luz de la patente US20160177278A1 (D1), y el documento “*DNase H Activity of Neisseria meningitidis Cas9*”¹ (D2).

En particular el Despacho señala que D1 describe una plataforma Cas9 derivada de *Neisseria meningitidis* para facilitar la precisión de edición de genes de nucleasa de sitio único dentro de un genoma humano, donde el sistema Cas9 comprende un sgARN de guía única que comprende una repetición truncada: región de antirepetición y está comprendido en un vector que cuenta con un promotor y el cual está comprendido dentro de un plásmido vírico adenoasociado

Adicionalmente, el Despacho menciona que D1 divulga que el sgARN forma un bucle R con una unidad de direccionamiento acoplada, para lo cual es clave la complementariedad entre un PAM específico de la nucleasa Cas9 y un sitio objetivo, donde el sgARN está truncado y comprende 20 nucleótidos. Donde el plásmido vírico comprende un promotor específico del hígado y el AAV es un serotipo AAV8. El sgARN es complementario a una región del sitio diana del gen de interés y el gen de interés puede ser pcsk9.

D1 también divulga que el plásmido vírico adenoasociado (AAV) comprende un vector de ácido nucleico de ácido ribonucleico- *Neisseria meningitidis* Cas9 de guía única.

En vista de lo anterior, el Despacho señala que la Reivindicación 1, así como las Reivindicaciones dependientes 2 y 3, y la Reivindicación 7, así como las reivindicaciones dependientes 8, 11, 12 a 15 y 17 no cumplen con el requisito de novedad.

Por su parte, D2 divulga un estudio de la actividad de DNasa H de Cas9 de *Neisseria meningitidis* en donde se muestra una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) que comprende una repetición truncada: región anti-repetición en donde dicha secuencia de sgARN es una secuencia de ácido ribonucleico de guía única del sistema Cas9

¹ Zhang, Y., *et al.* (2015). DNase H Activity of *Neisseria meningitidis* Cas9. *Molecular cell*, 60(2), 242–255. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4609032/pdf/nihms727268.pdf>

de *N. meningitidis* y el sgARN de 145 nucleótidos se truncó delecionando 7, 14, 22, 45, 57 o 69 nucleótidos, obteniendo sgARN de longitud 138 nucleótidos, 131 nucleótidos, 123 nucleótidos, 100 nucleótidos, 88 nucleótidos o 76 nucleótidos.

Adicionalmente, D2 divulga que el introducir delecciones seriales de sgARN con eliminación de 7, 14, 22, 45, 57 y 69 nucleótidos del extremo 3', se mostró que $\Delta 7\text{nt}$ no tiene defectos y los ARN $\Delta 14\text{nt}$ y $\Delta 22\text{nt}$ exhibieron defectos modestos, mientras que los sgARN $\Delta 45\text{nt}$, $\Delta 57\text{nt}$ y $\Delta 69\text{nt}$ fueron completamente defectuosos, lo que sugiere que los 7 nucleótidos del terminal 3' son prescindibles para escisión, interrupción parcial o total ($\Delta 14\text{nt}$, $\Delta 22\text{nt}$) de la horquilla terminal suprimiendo la actividad NmeCas9, de tal forma que esta solo tolera pequeñas delecciones terminales 3' o la eliminación del tallo superior

Por lo cual, el Despacho concluye que las Reivindicaciones 4, 5 y 6 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

b- i) En respuesta a esta objeción, me permito reiterar mi llamado al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en el cual particularmente la Reivindicación 1 fue modificada de manera tal que ahora está dirigida a una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región truncada de vástago 2.

Por su parte, D1, aunque revela en la Reivindicación 9 una región truncada ni siquiera se refiere a una región de repetición: antirepetición, ya que dicha reivindicación se refiere a “La proteína de fusión de la Reivindicación 1, en la que dicho elemento de secuencia guía está truncado”, por lo tanto, me permito respetuosamente diferir de la opinión del Despacho en tanto el “elemento de secuencia guía” no forma parte de la “región de repetición: antirrepetición” de una molécula de sgARN.

Al respecto D1 enseña en su Figura 112 que el elemento de secuencia guía está ubicado en el extremo de una región crARN y cita en la leyenda de esta figura: “secuencias representativas de sgARN para varios loci para SpCas9 y NmCas9. El elemento de secuencia guía se indica en rojo”. Por lo anterior, me permito resaltar que en la Fig. 112 de D1 que muestra varias secuencias de sgARN de Cas9, TODAS presentan la secuencia de ácido nucleico terminal 5' de la región de crARN con un color de fuente más claro en comparación con el resto del sgARN. Si se compara la figura 112 de D1 con la Figura 1 de

la presente solicitud, se ve fácilmente que el elemento de guía de secuencia terminal anotado no está dentro de la región de repetición: antirrepetición de la presente invención. De hecho, el "elemento de secuencia guía" de D1 es la secuencia diana de crARN para el gen de interés y en la presente solicitud se denomina "un ARN espaciador" que se encuentra en el extremo 5', tal como se describe en la página 42 del Capítulo Descriptivo:

Además, se ha demostrado previamente que una región de crARN guía variable 5' (ej., región espaciadora) de Nme1Cas9 también puede ser truncada por unos pocos nucleótidos sin pérdida de función. Amrani, "Nme1Cas9 is an intrinsically high-fidelity genome editing platform" [biorxiv.org/content/early/2017/08/04/172650](https://doi.org/10.1101/172650) (2017);

y en la página 39 del Capítulo Descriptivo:

La región de crARN del sgARN se compone de una primera secuencia espaciadora de 24 nt...

Además, ambos documentos enseñan que el "elemento de guía de secuencia" y la región "espaciadora" son responsables de la hibridación con el gen objetivo adecuado, al respecto D1 menciona (D1 pág. 8 [0027]) (mi énfasis, mi traducción):

En una realización, la proteína de fusión comprende además un ARN guía para cada Cas9 presente, cada ARN guía contiene un elemento de secuencia guía que es complementario a una región del sitio objetivo del ADN;

Mientras que la presente solicitud menciona en la página 45 del capítulo Descriptivo:

Los genes específicos que se van a editar pueden ser dirigidos insertando una secuencia espaciadora que coincida con un gen objetivo en un casete de sgARN mediante el uso de sitios de restricción convencionales (ej., Sap1).

En consecuencia, es evidente que tanto el "elemento de secuencia guía" como el "ARN espaciador" **DEBEN** ser monocatenarios, no un dúplex repetido: antirepetido como se reclama actualmente. Por lo anterior, se puede concluir que D1 no anticipa la Reivindicación 1 ni tampoco la Reivindicación 7 de la presente solicitud ya que D1 no enseña ningún sgARN

con una región dúplex truncada crARN - tracrARN repetición: antirepetición. Por lo anterior, considero que la objeción está completamente superada.

ii) Respecto a la afirmación de Despacho en la cual se señala que D1 anticipa la Reivindicación 7 (nueva Reivindicación 6), respetuosamente me permito presentar mi desacuerdo, ya que al igual que como se mencionó en el caso de la Reivindicación 1, D1 no anticipa la Reivindicación 7 pues no divulga el vector como se reclama en la presente solicitud, es decir, que comprenda una repetición truncada: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada. Por lo tanto, considero que la objeción está completamente superada.

iii) Ahora bien, respecto a D2, el Despacho argumenta que anticipa la Reivindicación 5 de la presente solicitud porque revela ... *Cas9 de Neisseria meningitidis y la ... introducción de delecciones seriales de sgARN* ... Al respecto, respetuosamente me permito llamar nuevamente la atención del Despacho sobre el Capítulo Reivindicatorio Modificado, particularmente sobre las enmiendas realizadas a la nueva Reivindicación 4 (antigua Reivindicación 5), la cual ahora reclama una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) Cas9 que comprende una región de vástago 2 truncada.

Teniendo en cuenta estas modificaciones, D2 no anticipa esta reivindicación pues no enseña un sgARN con solo una región de vástago 2 truncada. D2 revela claramente que los truncamientos informados son para considerarse presentes de forma alternativa en un sgARN, y no en combinación, al respecto D2 menciona en su página 10 (mi énfasis, mi traducción):

Estos resultados sugieren que los 7 nt del terminal 3' son prescindibles para la escisión, la interrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal que impide modestamente la función y la eliminación completa ($\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$) de la horquilla, o el nexa más la horquilla, suprime el clivaje. Para definir aún más las subregiones del sgARN que se requieren para la orientación, generamos variantes con la mayor parte del nexa (int2) o el vástago superior (int1) eliminado (Fig. 7A);

y en su página 11:

Entre todas las variantes probadas, solo dos ($\Delta 7nt$ e $int1$) rescataron la interferencia (Fig. 7D), lo que sugiere que in vivo, NmeCas9 solo tolera pequeñas deleciones del terminal 3' o la eliminación del vástago superior.

Además, D2 enseña que “el vástago superior o los siete nucleótidos del terminal 3'” son prescindibles (p. ej., truncamientos en la región repetición:antirrepetición o la región del vástago 2). D2 nunca sugiere, predice o enseña (implícita o explícitamente) que se puede crear un sgARN NmeCas9 funcional que comprende solo una región de vástago 2 truncada, al contrario, lo que D2 enseña es que el vástago superior es prescindible.

Como tal, D2 no anticipa la Reivindicación 4 porque no enseña ningún sgRNA que tenga solamente una región vástago 2 truncada. Por lo cual, considero que la objeción relacionada está completamente superada.

iv) Considerando lo anterior, me permito resaltar que, para establecer una afectación válida contra la novedad, el Manual Andino de Patentes (MAP) exige que el estado de la técnica debe divulgar **explícita e inequívocamente** la invención, incluidas todas sus características esenciales². Adicionalmente, el Tribunal Andino de Justicia (TAJ) ha determinado que, para establecer una objeción de novedad válida, la “*divulgación debe ser detallada y, en todo caso, suficiente para que una persona del oficio pueda utilizar esa información para ejecutar o explotar la invención*”³. En el presente caso, ni D1 ni D2 describen ningún sgARN con una región dúplex truncada crARN - tracrARN repetición: antirepetición la presente invención con todas sus características esenciales, por lo que su novedad debe ser reconocida.

8. a- i) El Despacho señala que la Reivindicación 9 carece de nivel inventivo a la luz de D1 y el documento “*Optimizing sgARN structure to improve CRISPR-Cas9 knockout efficiency*”⁴ (D3).

El Despacho considera a D1 como arte previo más cercano a la Reivindicación 9, porque divulga un plásmido vírico adenoasociado (AAV) que porta un sistema de CRISPR-CAS9

² Andean Patent Manual. OMPI, Andean Community Secretary, 2004. ISBN-9978-43-855-6. Section 9.4.

³ Proceso 06-IP-89 (<http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Procesos/209-IP-2005.doc>) y Proceso 36-IP-2004 (<http://www.notinet.com.co/serverfiles/servicios/archivos/30jul04/ca36-04.htm>)

⁴ Dang, Y., et al. (2015). Optimizing sgRNA structure to improve CRISPR-Cas9 knockout efficiency. *Genome biology*, 16, 280. <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-015-0846-3>

desde *Neisseria meningitidis* y el cual está dentro de un vector que comprende un promotor específico de hígado. Donde dicho vector comprende una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) que comprende una repetición truncada y la cual es una secuencia comprendida en un sistema Cas9 de *Neisseria meningitidis*, en donde la longitud de secuencia de sgARN comprende 20 nucleótidos.

El Despacho afirma que la diferencia entre la Reivindicación 9 y D1, consiste en que el promotor se selecciona del grupo que consiste en un promotor U6 y un promotor U1a. El Despacho señala que no hay evidencia de que esta diferencia proporcione un plásmido vírico de AAV con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que los plásmidos de AAV permiten la liberación del sistema CRISPR CAS9 en el sitio diana.

Así las cosas, el problema técnico a resolver por la invención es: *¿Cómo modificar el plásmido conocido en D1 con el fin de proporcionar otro plásmido alternativo?*

Sin embargo, la inclusión de un promotor que se seleccione del grupo que consiste en un promotor U6 o un promotor U1a en un plásmido que porte un sistema CRISPR-CAS9 ya está divulgado en D3 que se refiere a un plásmido que porta un sistema CRISPR-CAS9 donde la secuencia de ARN de guía única (sgARN) está unida al promotor U6.

En consecuencia, la persona medianamente versada en la materia estaría motivada a estaría motivada a incluir el promotor U6 en el plásmido que porta el sistema CRISPR-CAS9 como lo sugiere D3 en el vector de D1, para así llegar al objeto de la Reivindicación 9. Por lo cual se considera obvia.

ii) Por su parte, el Despacho también considera a D1 como arte previo más cercano a la Reivindicación 16 y afirma que la diferencia entre la Reivindicación 16 y D1 consiste en que la longitud de secuencias del sgARN se selecciona del grupo que consisten en 121 nucleótidos, 111 nucleótidos, 107 nucleótidos, 105 nucleótidos, 103 nucleótidos, 102 nucleótidos, 101 nucleótidos, 100 nucleótidos y 99 nucleótidos.

Sin embargo, el Despacho menciona que no hay evidencia de que incluir una longitud de secuencia de sgARN seleccionada del grupo que consisten en 121 nucleótidos, 111 nucleótidos, 107 nucleótidos, 105 nucleótidos, 103 nucleótidos, 102 nucleótidos, 101 nucleótidos, 100 nucleótidos y 99 nucleótidos específicamente proporcione un sgARN con

algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que sgARNs truncados ya habían sido previstos en dicho documento los cuales permiten delecciones e inserciones en la secuencia blanco

Así las cosas, el Despacho señala que el problema técnico a resolver por la invención es: *¿Cómo modificar el plásmido conocido en D1 con el fin de proporcionar otro plásmido alternativo?*

Sin embargo, el incluir una longitud de secuencias del sgARN que se selecciona del grupo mencionado en la presente solicitud ya está divulgado en D2. En consecuencia, la persona medianamente versada en la materia estaría motivada a incluir un sgARN de una longitud de 100 nucleótidos en el sistema CRISPR-CAS9 que porta el plásmido como lo sugiere D2 en el plásmido de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 16. Por lo cual se considera obvia.

El Despacho agrega que la Reivindicación dependiente 18 tampoco menciona alguna característica que, junto con las características de la Reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al plásmido de la Reivindicación 16, por lo cual se considera que carece de nivel inventivo.

b- i) En primer lugar, es importante insistir en el Capítulo Reivindicatorio Modificado Adjunto, en particular sobre las modificaciones hechas en la nueva Reivindicación 6 (antigua Reivindicación 7), la cual ahora reclama un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada; así como las consecuentes modificaciones que sufrieron sus reivindicaciones dependientes, en especial las nuevas Reivindicaciones 8 y 13 (antiguas Reivindicaciones 9 y 16), objetadas por el Despacho.

Teniendo esto presente y respecto a la supuesta falta de nivel inventivo de las antiguas Reivindicaciones 9 y 16 (nuevas Reivindicaciones 8 y 13), me permito respetuosamente recordar al Despacho que las reivindicaciones dependientes incorporan inherentemente todas las características esenciales de la reivindicación independiente de la cual dependen y solamente limitan su alcance mediante la definición de características adicionales. Como se demostró anteriormente, dicha Reivindicación independiente 6 es novedosa y, como tal,

representa un objeto patentable. En consecuencia, en ausencia de una objeción de nivel inventivo sobre la Reivindicación 6, las Reivindicaciones dependientes 8 y 13 también resultan inventivas por sobre el arte previo citado. Por lo anterior, se considera completamente superada esta objeción.

ii) En conclusión, a la luz de las modificaciones hechas al Capítulo Reivindicatorio, las características esenciales y efectos técnicos asociados a la materia reclamada en la presente invención, específicamente, un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una repetición truncada: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada, no habrían podido ser dilucidadas ni mucho menos previstas a partir de la información aportada por los documentos citados por el Despacho. De tal manera que en vista de que no existe en el estado de la técnica alguna indicación para modificar o adaptar la solución más cercana a fin de llegar a la invención reivindicada, la invención no es obvia y por ende el nivel inventivo de la misma debe ser reconocido.

9. Finalmente, si el Despacho lo considera necesario, solicito amablemente proceda a realizar un examen de fondo adicional, para lo cual adjunto el comprobante de pago de la tasa de examen correspondiente. De otra forma, considero que la presente solicitud cumple con los requisitos de patentabilidad establecidos por la Decisión 486 y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado;
- Listado de secuencias;
- Figuras modificadas 2-3-4A-19-42E-44A-57B;
- Hojas sustitutas de las páginas 10-11-37 del Capítulo Descriptivo;

- Recibo de pago por concepto de modificaciones a las reivindicaciones;
- Recibo de pago por concepto de Examen adicional;