

Doctora

Edna Marcela Ramírez Orozco

Directora de Nuevas Creaciones

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO -SIC-

E.

S.

D.

TOBOS ABOGADOS S.A.S.

Carrera 7C No. 138-19

Oficina 901 Bogotá D.C.

Colombia

NIT 900.367.556-3

Cel: +57 320 3340887

Tel: +57 60 1 309 9955

Tel: +57 60 1 805 1166

www.tobos.com.co

tobos@tobos.com.co

Referencia: Solicitud de patente de invención No. NC2020/0001927

Solicitante: VALNEVA SE

Título: "COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE COMPRENDEN EL VIRUS CHIKUNGUNYA INMUNOGÉNICO CHIKV-DELTA5NSP3 Y PROCESO PARA SU PRODUCCIÓN"

RESPUESTA AL EXAMEN NOTIFICADO POR CORREO ELECTRÓNICO OFICIO No. 20268

ANDREA TOBOS MATEUS, mayor de edad y vecina de Bogotá D.C., identificada como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderada de la sociedad VALNEVA SE, respetuosamente me dirijo a usted con el fin de dar respuesta al examen de patentabilidad dentro del término de legal.

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

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

1. Reivindicación 1 – Claridad

1.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora respecto al % de las partículas de CHIKV-Δ5nsP3 presentes en la composición en la reivindicación 1, la solicitante modifica la reivindicación objetada y aclara que al menos el 30% de las partículas CHIKV-Δ5nsP3 expresan una proteína estructural E2. El fundamento de esta modificación se encuentra en la página 27, líneas 1-5 de la descripción. De manera que, la composición de la reivindicación 1 contiene 1 – 50% de las partículas CHIKV- Δ5nsP3 de la composición que expresan una proteína estructural E2 que tiene la mutación E168K y/o G55R y las demás partículas víricas de la composición son partículas CHIKV- Δ5nsP3 de tipo salvaje, es decir, no comprenden ninguna mutación en la proteína E2.

1.2. Adicionalmente, la reivindicación 17 (ahora reivindicación 16) ha sido modificada para reflejar los cambios de la reivindicación 1.

2. Reivindicación 13 – Consistencia

2.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora respecto a que la reivindicación 13 repite materia ya mencionada en la reivindicación 1, la solicitante elimina la reivindicación 13.

3. Reivindicación 15– Claridad

3.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora, se adiciona la preposición “de” en el lugar indicado en la reivindicación 15 (ahora reivindicación 14).

4. Reivindicación 17 – Redacción

4.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora, la solicitante modifica la reivindicación 17 (ahora reivindicación 16) para indicar que las células Vero están infectadas con partículas de virus CHIKV-Δ5nsP3 en el numeral i).

5. Reivindicación 17 – Condiciones técnicas del método

5.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora sobre las condiciones técnicas esenciales del crecimiento de células Vero infectadas, la solicitante especifica en la reivindicación 17 la temperatura a la cual se debe incubadas las células Vero para su crecimiento. Además, se modifica el número máximo de pasajes a 3, de acuerdo con el capítulo descriptivo (página 26, líneas 7-10, y en la página 30, líneas 22-25 y página 31, líneas 1-2).

5.2. La solicitante aclara que la heterogeneidad de secuencia de la proteína estructural E2 se redujo al realizar tres pasajes de células Vero en comparación con cinco pasajes de células Vero (página 26, líneas 7-10). Por lo tanto, el capítulo descriptivo muestra claramente que pasar las células Vero un máximo de tres veces llevó a una reducción de las mutaciones que reducen la inmunogenicidad.

5.3. Además, la solicitante indica que el pasaje de un virus en células es una técnica estándar y no es esencial la adición de cualquier otra condición técnica para lograr el efecto técnico y el concepto inventivo de la invención. De hecho, la Tabla 3 de la descripción muestra datos de un estudio observacional de pasaje de CHIKV-Δ5nsP3 en células Vero hasta 15 pasajes después del rescate. Estos pasajes se llevaron a cabo en condiciones variables en términos de densidad de células Vero, MOI y grado de CPE a las 24 horas (ver Tabla 2 para un resumen de estas condiciones). Sin embargo, la Tabla 3 muestra que, en el pasaje 5 en células Vero, la mutación E168K está presente, incluso en condiciones no controladas.

6. Reivindicaciones 23, 24 y 25 – Claridad

6.1. En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora sobre el número de pasajes de las partículas en la etapa ii) del método, la solicitante elimina la expresión “un máximo de” de las reivindicaciones objetadas. Además, la solicitante elimina la reivindicación 23 debido a que ya está

incluida en la reivindicación 17 modificada (ahora reivindicación 16).

7. EXAMEN DE PATENTABILIDAD

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

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	Hallengård D., et al. Journal of Virology.	“Novel Attenuated Chikungunya Vaccine Candidates Elicit Protective Immunity in C57BL/6 mice”	Marzo 2014
D2	Gardner C.L., et al. PLOS Neglected Tropical Diseases.	“Deliberate Attenuation of Chikungunya Virus by Adaptation to Heparan Sulfate Dependent Infectivity: A Model for Rational Arboviral Vaccine Design”	20 de febrero de 2014

8. NIVEL INVENTIVO

8.1. Mutaciones en la proteína estructural E2 del virus Chikungunya

8.1.1. La Examinadora afirma que la reivindicación independiente 1 carece de nivel inventivo con respecto al documento D1 “Hallengård D., et al. Journal of Virology.” y al documento D2 “Gardner C.L., et al. PLOS Neglected Tropical Diseases” ya que D1 divulga una composición que comprende partículas del virus CHIKV-Δ5nsP3 que expresan la proteína estructural E2 (Pág. 2859, Col. Izq.) y D2 divulga el aumento de la capacidad infectiva de las partículas virales al incluir mutaciones G55R y E168K en la proteína estructural E2 del virus Chikungunya (Pág. 2, Col. Izq., pág. 4, Col. Der. y págs. 5 a 15). De manera que, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir las mutaciones en la proteína estructural E2 del virus Chikungunya en los aminoácidos 55 y 168 mencionadas en D2 en la composición de D1, para modificar la composición conocida en D1 con el fin de proporcionar una composición alternativa y así llegar al objeto de la reivindicación 1.

8.1.2. El solicitante indica que D2 se refiere a las mutaciones que se producen al pasar CHIKV-LR en CHOK1 (células de ovario de hámster chino), pgsA745 (células mutantes de ovario de hámster chino) o células C6/36 (derivadas de mosquitos *Aedes albopictus*) (pág. 2 - columna 2, "materiales y métodos, "paso in vitro" de D2). Es decir, D2 enseña el pasaje de una variante diferente del virus en **distintos tipos de células**. La única referencia a las células Vero en D2 es cuando se calculan los niveles de infección (pág. 7, col 2):

"Las mutaciones E2 de carga positiva tienden a aumentar la infectividad específica de las partículas de virus y la infectividad dependía de las interacciones iónicas in vitro".

8.1.3. Por lo tanto, el D2 no enseña las mutaciones que se producen al pasar el CHIKV por células Vero y por el contrario si menciona que las mutaciones son "específicas de la célula y de la cepa" (pág. 13, col

2, párrafo 1 y Tabla 1 de D2). Por lo tanto, las enseñanzas de D2 no son aplicables a las células Vero, ni a la forma mutante de CHIKV (es decir, CHIKV-Δ5nsP3).

8.1.4. Si a pesar de las enseñanzas de D2, un experto en la materia intentara introducir las mutaciones enseñadas en D2 a células Vero para producir una vacuna, además se enfrentaría a que el rendimiento de partículas del virus CHIKV-Δ5nsP3 es bajo cuando se cultiva en células Vero, como indica D1 (pág. 2860, Col 1, "Resultados", párrafo 1):

“Es importante destacar que los pases seriados de los mutantes Δ5nsP3 y Δ6K a bajas MOI en células Vero no revelaron un aumento de los títulos de las cepas recogidas en cinco pases, y la RT-PCR seguida de secuenciación mostró que las deleciones introducidas se conservaban en todos los pases de ambos virus mutantes”

8.1.5. De hecho, la Figura 1 de D2 muestra que el cambio de recuento en el título de CHIKV-LR aumenta sustancialmente entre los pasajes 5 y 10 (reproducido a continuación para comodidad de la Examinadora).

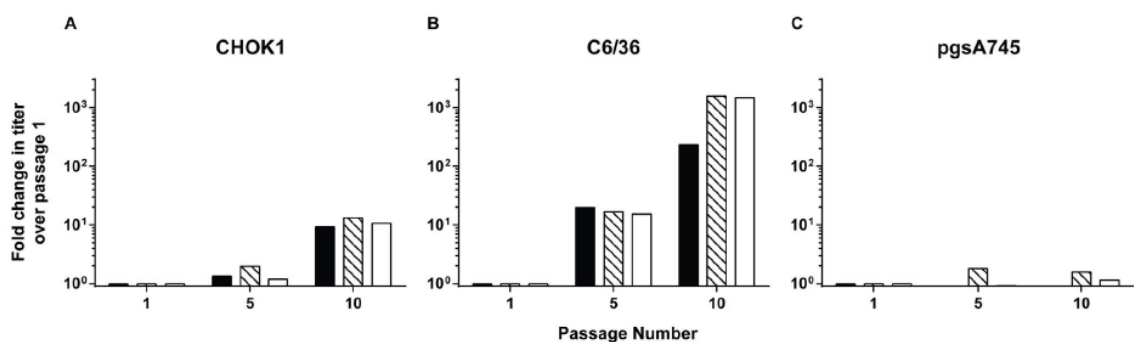


Figure 1. Cell culture passage of CHIKV-LR. CHIKV-LR virus stock was serially passaged 10 times in triplicate parallel series on: A) CHOK1; B) C6/36; or C) pgsA745 cells. After each amplification, the quantity of infectious virions was titered on BHK-21 fibroblasts by standard plaque assay. The fold-increase in titer at passage (P) 5 and P10 were normalized to the titer at P1. Each bar represents one individual passage series.
doi:10.1371/journal.pntd.0002719.g001

8.1.6. Por lo tanto, la persona experta estaría motivada aumentar el número de pases del virus CHIKV-Δ5nsP3 en células Vero **más allá de los cinco pases enseñados en D2** para proporcionar un alto rendimiento de CHIKV-Δ5nsP3 para su uso como composición farmacéutica (es decir, que requiere una cantidad efectiva de partículas).

8.2. Ocurrencia de las mutaciones – número de pases o pasajes

8.2.1. Respecto a la cantidad de pasajes, la Examinadora indica que D2 menciona que las mutaciones G55R y E168K tienden a ocurrir entre el segundo y el tercer pase consecutivo respectivamente (Pág. 4, Col. Der y pág. 5, Tabla 1). Además, menciona que la acumulación de mutaciones en la proteína E2 para diferentes virus a lo largo de los pasajes ha sido descrita ampliamente en previos trabajos y que el interés de sustituciones de aminoácidos que aumenten la carga positiva neta en ciertas regiones de E2 es porque estas pueden incrementar drásticamente la infectividad de las partículas en las células cultivadas (Pág. 2, Col. Izq.). En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir un máximo de dos o tres pasajes para obtener una composición que comprende un número reducido de partículas CHIKV-Δ5nsP3 que expresan una proteína estructural E2 con una mutación E168K y/o G55R

como lo indica D2 en el proceso de producción de la composición de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 17. Por lo cual se considera obvia.

8.2.2. Al respecto, la solicitante desea primero aclarar que, contrario a lo indicado por la Examinadora, D2 no dice que las mutaciones G55R y E168K tienden a ocurrir entre el segundo y el tercer pase consecutivo respectivamente. A continuación, se muestra la traducción del texto referenciado por la Examinadora (página 4, columna 2, párrafo 1 de D2):

“Una sustitución E2-55 G a R se produjo con una frecuencia de dos de cada cinco en la segunda serie de pases en células CHOK1, mientras que la combinación de E2-99 H a Y/E2-168 E a K estaba presente en dos de cada seis de la población de la tercera serie de pases”.

8.2.3. Los términos “segunda serie” y “tercera serie” se refieren a la réplica de cultivo evaluada de los experimentos de pases paralelos por triplicado, de manera que la segunda serie es la réplica dos y tercera serie es la réplica tres, y no corresponden al número de pases. De hecho, al observar la Tabla 1 de D2 (reproducida a continuación), la columna virus muestra como el nombre de cada cultivo corresponde a la línea celular (cHOK1, C6/C36 o pgsA745), número de pase (5 o 10) y la serie o réplica (1, 2 o 3). Además, la leyenda de la tabla indica que solamente se evaluó la presencia de mutaciones en los pasajes 5 y 10, donde se encontró que las mutaciones sólo se identificaron en virus individuales y no en la población mayoritaria del cultivo (véase la leyenda de la Tabla 1 que explica el sufijo "a" para el nombre del virus).

Table 1. Mutations identified in the E2 glycoprotein at passage 5 and 10 after cell culture adaptation of CHIKV-LR.

Virus	E2 amino acid position							
	55	79	82	99	159	166	168	264
WT-LR	G	E	G	H	S	E	E	V
CHOK1 5.1	G	E	G	H	R	E	E	V
CHOK1 5.2	G	E	G	H	R	E	E	V
CHOK1 5.3	G	E	G	H	R	E	E	V
CHOK1 10.1	G	E	G	H	R	E	E	V
CHOK1 10.2	G	E	G	H	R	E	E	V
CHOK1 10.2a	R	E	G	H	S	E	E	V
CHOK1 10.3	G	K	G	H	S	E	E	V
CHOK1 10.3a	G	E	G	Y	S	E	K	V
C6/36 5.1	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 5.2	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 5.3	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 10.1	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 10.2	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 10.3	G	K	G	H	S	E	E	V
C6/36 10.3a	G	E	G	H	S	-	E	V
pgsA745 5.1	G	E	G	H	S	E	E	V
pgsA745 5.2	G	E	G	H	S	E	E	A
pgsA745 5.3	G	E	G	H	S	E	E	V
pgsA745 10.1	G	E	G	H	S	E	E	V
pgsA745 10.2	G	E	G	H	S	E	E	A
pgsA745 10.3	G	E	G	H	S	E	E	A

Suffix 'a' indicates mutations identified only in individual viruses but not in the majority population.

8.2.4. Además, en la tabla 1 se evidencia que la sustitución G55R (azul) y la sustitución E168K (verde) no eran detectables en las líneas celulares C6/36 o pgsA745, incluso cuando se pasaban 10 veces. De hecho, estas sustituciones G55R y E168K sólo se detectaron al hacer pasar el CHIKV en las células CHOK1 durante diez pasajes (rojo), e incluso entonces, las mutaciones no estaban presentes en todos los cultivos. Por lo tanto, si el experto considerara la Tabla 1 (sin la aplicación de la retrospectiva), no habría ninguna

motivación para que el experto vigilara estas dos mutaciones en lugar de otras mutaciones que se enseñan en D2 como más prevalentes y reproducibles (por ejemplo, las mutaciones en las posiciones 79, 159 y 264).

8.2.5. Teniendo en cuenta lo anterior, se evidencia que el documento D2 no enseña las mutaciones G55R y E168K en CHIKV-Δ5nsP3 pasadas en células Vero.

8.3. Modelos computacionales

8.3.1. La Examinadora también indica que el documento D2 menciona que, por medio de modelos computacionales es posible predecir las mutaciones predominantes de un solo aminoácido cuando se realizan entre cinco a diez pases del virus, las cuales podrían alterar el perfil electrostático de la proteína E2 y aumentar la carga positiva neta en dos regiones expuestas (Pág. 2, Col. Der).

8.3.2. Al respecto, la solicitante desea primero aclarar que, contrario a lo indicado por la Examinadora, el texto de D2 no dice que los modelos computacionales permitan predecir las mutaciones predominantes. A continuación, se muestra la traducción del texto referenciado por la Examinadora:

“Mediante modelado computacional, se predijo que las mutaciones de aminoácidos individuales que se hicieron predominantes en la población del virus en sólo cinco a diez pasajes a través de células de mamíferos o mosquitos alteraban el perfil electrostático de la glicoproteína E2 y aumentaban la carga positiva neta en dos regiones expuestas. Mediante la introducción individual de estas mutaciones en CHIKV-LR, hemos identificado un panel de mutaciones E2 que confieren virulencia reducida en un modelo murino de enfermedad musculoesquelética (MSD) y las hemos asociado con aspectos particulares de la dependencia de HS para la adhesión/infectividad in vitro” (Pág. 2, Col. Der).

8.3.3. En otras palabras, los autores de D2 primero determinaron las mutaciones en la población del virus al realizar de cinco a diez pasajes a través de células, posteriormente evaluaron mediante modelado computacional el efecto de dichas mutaciones sobre el perfil electrostático de la glicoproteína E2. Para este modelado, los modelos del trímero E1/E2 de la cepa 05-115 CHIKV y mutantes se construyeron en el programa Modeller versión 9v8 (Pág. 3, col 1, sección “Molecular modelling”). Finalmente, estas mutaciones se introdujeron de forma individual en CHIKV-LR para identificar las que conferían una virulencia reducida en un modelo murino de enfermedad musculoesquelética (MSD), lo que no es una tarea trivial.

8.4. Mutaciones G55R y E168K

8.4.1. La Examinadora también menciona que de acuerdo con el capítulo descriptivo presentado y las enseñanzas de D2, las mutaciones G55R y E168K son negativas para la inmunogenicidad del virus, por lo cual se entiende que una mutación reductora de la inmunogenicidad es una característica indeseable de la composición y, por tanto, no es claro porqué la reivindicación 1 de la solicitud reclama una composición

que comprende partículas virales que expresan una proteína E2 con dichas mutaciones.

8.4.2. Al respecto, la solicitante considera que la observación de la Examinadora se origina al pensar en una situación ideal para producir una composición que no incluyera ninguna partícula con las mutaciones que reducen la inmunogenicidad. Sin embargo, en el curso de la fabricación de la vacuna CHIKV-Δ5nsP3, los presentes inventores descubrieron que había que alcanzar un cierto equilibrio entre la producción de niveles suficientes de partículas virales para una vacuna, y el mantenimiento de las partículas no inmunogénicas por debajo del umbral en el que se perdía la inmunogenicidad, tal como se define en los experimentos del Ejemplo 4. Para superar este problema, los inventores descubrieron que se podía producir una cantidad eficaz de virus inmunogénico mediante pasaje en células Vero durante menos de cinco pasajes.

8.4.3. Además, la solicitante indica que **no hay pruebas** de que ni G55R ni E168K tengan ningún impacto en **la inmunogenicidad** del virus CHIKV-LR en D2 ya que la inmunogenicidad y la eficacia protectora sólo se probaron para los mutantes LR-82R y LR-79K (Figura 9 de D2), no para los mutantes G55R o E168K. Para estos mutantes, D2 sólo menciona que confieren virulencia reducida en un modelo murino de enfermedad musculoesquelética (MSD) (Pág. 2, Col 1, Párrafo 2) y la Examinadora apreciará que la virulencia no equivale a la inmunogenicidad.

8.4.4. Justamente, este hecho se demuestra con el mutante LR-79K que tuvo propiedades inmunogénicas y protectoras demostradas en la Figura 9 de D2 pero estaba **muy atenuado** (Figura 3 de D2) y su distribución tras la inoculación subcutánea estaba muy retrasada (Figura 8 de D2). Por el contrario, tanto el mutante LR-168K como el LR-55R causaron MSD, se atenuó parcialmente (Figura 3 de D2) y ambos mutantes se distribuyeron mejor tras la inoculación subcutánea (Figura 8 de D2). Ambos parámetros podrían llevar al experto a concluir que las mutaciones E168K y G55R no afectarían sustancialmente a la inmunogenicidad del virus CHIKV-LR y de hecho D2 concluye que el mutante LR-79K es un candidato promisorio para incluir en una vacuna atenuada, no los mutantes E168K y G55R usados en la presente invención.

8.4.5. Como se ha comentado anteriormente, no hay ninguna enseñanza en los documentos del estado de la técnica citados que apunte hacia la idea de que las mutaciones se producen de forma reproducible por debajo del paso 10 para las cepas CHIKV, y mucho menos para las cepas CHIKV en células Vero. Incluso si el experto considerara que las mutaciones pueden ocurrir por debajo del paso 10 para CHIKV-Δ5nsP3, aún necesitaría identificar qué mutaciones aparecen de forma consistente al pasar CHIKV-Δ5nsP3 en células Vero, y en qué fase de paso ocurren.

El experto necesitaría entonces identificar qué mutaciones afectan a la inmunogenicidad, y la tolerancia de ciertas proporciones de virus con estas mutaciones en una composición. La persona capacitada tendría entonces que considerar cómo evitar que aparezcan estas mutaciones sin dejar de producir altos rendimientos del virus. No se trata de una tarea sencilla y, basándose en los argumentos

expuestos anteriormente, el experto no habría estado motivado para hacerlo en primer lugar.

Por lo tanto, llegar a la invención actualmente reivindicada a partir de D1 y D2 habría requerido múltiples pasos que habrían obligado al experto a ignorar las enseñanzas de D1 y D2, y por lo tanto habría requerido capacidad inventiva. Aunque la invención parece obvia para la Examinadora en retrospectiva, no hay ninguna enseñanza en el estado de la técnica que hubiera conducido al experto a la invención reivindicada. Como tal, el experto, refiriéndose a la divulgación de D1 y/o D2 no habría estado motivado para reducir el número de pases de CHIKV-Δ5nsP3 en células Vero con el fin de reducir las mutaciones 55 y/o 168 para llegar a una composición más inmunogénica porque ni D1 ni D2 divulgan ninguna pérdida de inmunogenicidad de estas mutaciones.

8.4.6. Teniendo en cuenta todo lo anterior, las presentes reivindicaciones son inventivas con respecto a D1 y D2.

9. Presento pago por modificación voluntaria a capítulo reivindicatorio en trámite. No se presenta pago de reivindicaciones adicionales, puesto que el número de reivindicaciones disminuyó a 34.

10. ANEXOS

Anexo 01. Reivindicaciones modificadas en limpio

Anexo 02. Reivindicaciones modificadas marcadas

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

Atentamente,



ANDREA TOBOS MATEUS

C.C. 52.223.325 de Bogotá

T.P. 148648

tobos@tobos.com.co

11402910co_memorialexamenr_070323.docx