

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re.: Expediente No. NC2021/0007233

Solicitud de Patente de Invención titulada: “PÉPTIDOS Y COMBINACIONES DE PÉPTIDOS DERIVADOS DE LA PROTEÍNA MMP11 PARA INMUNOTERAPIA CONTRA EL CÁNCER DE OVARIO Y OTROS TIPOS DE CÁNCER”

Solicitante: IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH

Nuestra Ref.: P2022/200125

RESPUESTA AL OFICIO No. 19094,
NOTIFICADO EL 28 DE NOVIEMBRE DE 2022
(TERCER 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 presente solicitud, me permito adjuntar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado el 19 de octubre de 2022 junto con la respuesta al segundo examen de fondo. Así entonces, el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto contiene los siguientes cambios:

- se elimina la Reivindicación 10;
- se introducen las nuevas Reivindicaciones 5, 6, 20 a 23 y 27 a 34, las cuales encuentran soporte en las antiguas Reivindicaciones 1, 15 a 18, 21 y 22 y en las páginas 91, 117 y 130 del Capítulo Descriptivo;
- se elimina la referencia a sales farmacéuticamente aceptables de la Reivindicación 1;

- se modifica la redacción de la nueva Reivindicación 36 (antigua Reivindicación 23), de manera tal que ahora se especifica en el preámbulo que la vacuna o agente terapéutico anticáncer personalizado “*comprende un péptido que consiste en la SEQ ID NO: 36*”. Asimismo, en el paso b) se indica que el archivo de péptidos contiene el péptido de SEQ ID NO: 36; en el paso c) se menciona que el péptido seleccionado del archivo es incluido en la vacuna o agente terapéutico, y en el paso d) se reemplaza el término “*formular*” por “*producir*”;
- se ajustan las dependencias de las reivindicaciones de manera acorde.

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 estas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud original.

2. a- i) El Despacho eleva las siguientes objeciones frente al Capítulo Reivindicatorio:

- la Reivindicación 10 no es clara y carece de sustento en el Capítulo Descriptivo porque las líneas de linfocitos T enumeradas están definidas por un TCR que se une a un péptido de SEQ ID NO: 36, sin embargo, dicha definición abarca un número indefinido de posibles líneas celulares para las cuales no hay evidencia en el Capítulo Descriptivo;
- las Reivindicaciones 11 y 12 carecen de respaldo en el Capítulo Descriptivo, pues allí no se describe un método *in vitro* para destruir células cancerosas, en donde dichas células cancerosas presentan un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36;
- la Reivindicación 13 no es clara y carece de respaldo en el Capítulo Descriptivo, ya que reclama un anticuerpo recombinante que está definido por su capacidad de unión al péptido y no por sus características estructurales (es decir, sus 6 CDR, secuencias VH/VL o secuencias de cadena pesada y ligera) y, como tal, abarca un número excesivo de posibles opciones que no se describen en el Capítulo Descriptivo;
- la Reivindicación 14 no es clara ya que se refiere a un receptor de linfocito T (TCR) unido a membrana, reactivo con un ligando de HLA que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, que no se encuentra definido por sus características técnicas esenciales; adicionalmente, la reivindicación abarca un sinnúmero de moléculas que aún no han sido exploradas ni contempladas por

el Solicitante, incluyendo, cualquier TCR asociado a la membrana celular de linfocitos T CD4+ y/o CD8+ existentes en la naturaleza, por lo tanto corresponde a materia no patentable;

- las Reivindicaciones 15 a 18 carecen de respaldo en el Capítulo Descriptivo, pues éste no proporciona evidencia de la producción de composiciones farmacéuticas que comprendan las líneas de linfocitos T, anticuerpos recombinantes o TCR que reconozcan la SEQ ID NO: 36;
- las Reivindicaciones 19 y 20 carecen de respaldo en el Capítulo Descriptivo, ya que el método *in vitro* reclamado para diagnosticar el cáncer en una muestra que comprende células de un sujeto, no se describe en el Capítulo Descriptivo;
- las Reivindicaciones 21 y 22 no son claras ya que reclaman un kit, pero éste no está definido por sus características esenciales, es decir, una combinación de componentes que forman una unidad funcional dirigida a un solo propósito o efecto técnico. El Despacho además señala que el kit no demuestra ningún tipo de asociación de componentes que interactúen de manera directa para generar un efecto técnico específico, sino por el contrario se evidencia la funcionalidad de cada componente de manera individual;
- la Reivindicación 23 no es clara porque contiene el término “*formular*” en la etapa (d), lo que puede implicar que el objeto mencionado se refiere a un método de tratamiento.

ii) El Despacho señala que el Capítulo Descriptivo no divulga la invención de manera suficientemente clara y completa, para que una persona capacitada en la materia pueda ejecutarla, en particular señala que el Capítulo no presenta un desarrollo concreto ni explícito con pruebas técnicas de las siguientes invenciones:

- (I) Un anticuerpo recombinante, soluble o unido a la membrana, que reconoce específicamente un péptido que consta de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36 o este péptido unido a una molécula MHC; en donde dicho anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo biespecífico, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo quimérico, o un fragmento funcional del mismo;
- (II) Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una línea de linfocitos T que expresa un TCR que es reactivo con un ligando HLA, caracterizada porque dicho ligando es un péptido de SEQ ID NO: 36 o un anticuerpo recombinante soluble o unido a membrana, o el péptido de SEQ ID

- NO: 36 cuando está unido con una molécula de MHC, y un vehículo, un excipiente y/o estabilizador farmacéuticamente aceptable;
- (III) Un método *in vitro* para destruir células cancerosas diana, en el que dichas células cancerosas diana presentan un péptido que consta de la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36;
 - (IV) Un método *in vitro* para diagnosticar cáncer en una muestra cómo se indica;
 - (V) Un kit que comprende una composición farmacéutica que comprende el péptido o la sal del mismo de las Reivindicaciones 1 a 4, el ácido nucleico recombinante o el vector de expresión de la Reivindicación 5, la línea de células recombinantes de la Reivindicación 6, la línea celular humana de linfocitos T activados de la Reivindicación 9, la línea celular de linfocitos T de la Reivindicación 10, el anticuerpo recombinante de acuerdo con la Reivindicación 13 o el receptor de linfocitos T soluble de la Reivindicación 14; en solución o en forma liofilizada; y una solución diluyente o de reconstitución para la formulación liofilizada;
 - (VI) Un método *in vitro* para producir una vacuna o agente terapéutico personalizado contra el cáncer, en donde dicho método comprende: a) identificar un péptido asociado a tumor (TUMAP) presentados por una muestra de tumor; b) comparar el péptido identificado en a) con un archivo de péptidos preseleccionados por su inmunogenicidad y/o sobrerepresentación en tumores; c) seleccionar un péptido del archivo de péptidos que coincida con el TUMAP identificado en la muestra de tumor en donde uno de dichos péptidos del archivo de péptidos es el péptido de SEQ ID NO: 36; y d) fabricar y/o formular la vacuna o el agente terapéutico celular y/o basado en un compuesto con base en el péptido del archivo seleccionado en el paso c).

iii) Adicionalmente, con respecto a los argumentos presentados en mi respuesta al segundo examen de fondo, el Despacho indica que, si bien se han presentado datos experimentales relacionados con la producción de poblaciones endógenas de linfocitos T capaces de reconocer y unirse al complejo multímero-péptido, los productos y procesos restantes corresponden a realizaciones secundarias de la invención, las cuales son especulativas y carecen de características técnicas estructurales esenciales y pruebas técnicas que demuestren sus efectos técnicos. El Despacho señala que las reivindicaciones también se refieren a un concepto inventivo diferente y que no se planteó una objeción de unidad de invención únicamente porque el Capítulo Descriptivo carece de apoyo para tales invenciones.

Además, el Despacho observa que el análisis de claridad y sustento se basa únicamente en la Decisión 486 de la Comunidad Andina. Así, los argumentos relacionados con otras

jurisdicciones son irrelevantes para el análisis. Sin perjuicio de lo anterior, los ejemplos presentados por el Solicitante sobre anticuerpos que reconocen epítomos particulares no son comparables con la materia citada, dado que este último se refiere a moléculas de unión que reconocen el complejo MHC-péptido (SEQ ID NO: 36), que engloba a su vez cualquier molécula de unión con dicha funcionalidad, incluso las que ya son conocidas en la técnica.

b- i) En respuesta a estas objeciones, me permito en primer lugar llamar la atención sobre las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, tal como señalé en el primer punto del presente memorial. En particular, se eliminó la Reivindicación 10, por lo cual considero superada cualquier objeción frente a la misma

Adicional a lo anterior, me permito resaltar que el término “*recombinante*” fue incluido en el preámbulo de la nueva Reivindicación 15 (antigua Reivindicación 14), de manera tal que la persona medianamente versada en la materia pueda entender inequívocamente que el alcance de la materia allí reclamada no abarca TCRs tal como se encuentran en la naturaleza, solamente aquellos que son producidos artificialmente, en particular aquellos producidos por técnicas de ADN recombinante. Por lo tanto, considero superada la objeción correspondiente.

ii) Con respecto a la nueva Reivindicación 12 (antigua Reivindicación 11), me permito diferir respetuosamente de la opinión del Despacho, toda vez que los métodos generales para destruir células cancerosas *in vitro* son ampliamente conocidos en el campo técnico, y su ejecución no plantea dificultad alguna para la persona medianamente versada en la materia. La única información adicional que necesita la persona medianamente versada en la materia para reproducir el método reclamado se encuentra en el Capítulo Descriptivo, en donde se detalla tanto la secuencia del péptido de SEQ ID NO: 36, como los procedimientos necesarios para activar linfocitos T con los TUMAPs allí referidos (véase Ejemplo 3 del Capítulo Descriptivo).

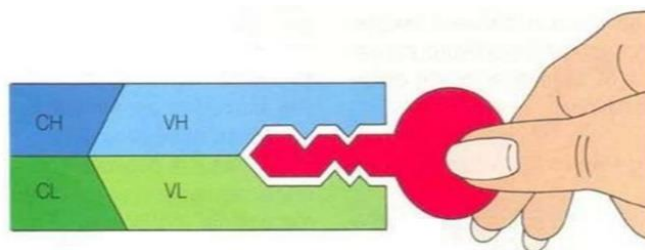
No obstante, y sin perjuicio de lo anterior, es importante recordar que un inventor tiene derecho a reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado, sin importar su amplitud, siempre y cuando cumpla con los requisitos de unidad de invención y no exista arte previo que afecte su patentabilidad. Así, una reivindicación puede ser tan amplia como se requiera para así poder enmarcar la totalidad del concepto inventivo desarrollado, y no solamente las modalidades preferidas o específicamente ejemplificadas en la solicitud. De hecho, cabe resaltar que no existe requerimiento legal alguno que determine que los ejemplos deban presentar todas y cada una de las modalidades que se encuentran

dentro del alcance de la invención, o que las reivindicaciones sólo pueden reclamar lo ilustrado en los ejemplos, ya que lo fundamental es que el Capítulo Descriptivo proporcione la información necesaria para que la persona medianamente versada en la materia pueda reproducir la invención, sin tener que acudir a experimentación adicional excesiva.

Adicionalmente, es importante mencionar que la función de los ejemplos en el Capítulo Descriptivo **es estrictamente ilustrativa** y de ninguna manera puede considerarse como el único alcance reivindicable posible. De hecho, reclamar estrictamente aquello ejemplificado en el Capítulo Descriptivo limitaría injustamente el derecho del Solicitante a reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado, y facilitaría que un tercero modifique alguno de estos elementos específicos ilustrados en los ejemplos, evitando de este modo cometer una infracción y aprovechando indebidamente el desarrollo realizado por el Solicitante, lo que desdibujaría completamente el sistema de protección de propiedad intelectual vía patente. En vista de lo anterior, solicito respetuosamente que la objeción correspondiente sea retirada.

iii) En cuanto a las reivindicaciones dirigidas a anticuerpos y TCRs, me permito diferir respetuosamente de la opinión del Despacho, en tanto que las moléculas de unión allí reclamadas no abarcan un sinnúmero de posibles opciones, por el contrario, la materia reclamada comprende un número limitado de anticuerpos y TCRs, cuyos sitios de unión (que corresponden a la característica esencial de cualquier molécula de unión) tienen la estructura necesaria para unirse a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, y no a otra. Lo anterior se atribuye al principio de “*llave y cerradura*”, que fue explicado en detalle en la respuesta al segundo examen de fondo.

Brevemente, el principio de “*llave y cerradura*” se basa en el hecho de que, a diferencia de los epítopos conformacionales discontinuos que entran en contacto con varias CDRs de un anticuerpo o TCR, los epítopos lineales cortos (tal como el péptido de SEQ ID NO: 36) se unen a una región pequeña específica dentro del sitio de unión del anticuerpo/TCR. Así, el epítipo y el sitio de unión de dichas moléculas deben coincidir para que las fuerzas de unión (incluyendo fuerzas hidrofóbicas o de van der Waals) sean las apropiadas y se pueda mantener la interacción entre ambas moléculas. En este sentido, los anticuerpos que se unen a péptidos cortos no pueden tener cualquier estructura, necesariamente deben presentar una conformación estructural particular que está definida por la secuencia de aminoácidos de dicho péptido, tal como se ilustra de manera esquemática en la siguiente figura:



Estos anticuerpos y TCRs podrían ser obtenidos por la persona medianamente versada en la materia sin necesidad de recurrir a experimentación adicional exhaustiva, ya que las técnicas para obtener anticuerpos a partir de la diana a la que se unen son ampliamente conocidas en el campo técnico, y de hecho son detalladas en la presente solicitud.

En vista de lo anterior, solicito respetuosamente al Despacho reconsiderar las objeciones correspondientes.

iv) En lo referido a la nueva Reivindicación 23 (antigua Reivindicación 20), cabe resaltar que la materia allí reclamada corresponde a una modalidad particular del concepto inventivo desarrollado por los inventores, esto es, un método para diagnosticar cáncer en una muestra que comprende células de un sujeto, el cual involucra la detección de células que presenten el péptido de SEQ ID NO: 36 en dicha muestra, esto mediante la adición de un anticuerpo, fragmento de anticuerpo o TCR marcado a una muestra de tejido.

Este método de detección *in vitro* de cáncer se basa en técnicas ampliamente conocidas por la persona medianamente versada en la materia, tales como “tinción inmunohistoquímica”. Al respecto, me permito resaltar que la adición de anticuerpos marcados a muestras de tejido para detectar un determinado epítipo diana, presentada por primera vez por Albert Coons en 1941, es una técnica establecida en el estado del arte. La utilización de un TCR en esta misma técnica no plantea ningún desafío particular para la persona medianamente versada en la materia. Asimismo, cabe resaltar que el Capítulo Descriptivo ofrece explicaciones en las páginas 156, 157 y 169 sobre las aplicaciones diagnósticas de la invención reclamada.

Adicional a lo anterior, me permito destacar que la detección del péptido de SEQ ID NO: 36 en la muestra de tejido hace que el método sea novedoso e inventivo, pero no altera el método de manera que se requieran explicaciones adicionales a las ya proporcionadas por la presente solicitud. En vista de lo anterior, solicito respetuosamente que las objeciones correspondientes sean retiradas.

v) Con respecto a las reivindicaciones dirigidas a kits, me permito señalar que la antigua Reivindicación 21 fue dividida en reivindicaciones separadas, en donde cada reivindicación define un principio activo, que está en solución o en forma liofilizada, y un segundo componente, que corresponde a un diluyente o una solución de reconstitución para la formulación liofilizada. Así las cosas, la persona medianamente versada en la materia puede entender de forma clara e inequívoca que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto no pretende protección para un “*kit de partes*”, sino para kits que comprenden un solo principio activo, en donde dichos kits están definidos por sus componentes esenciales.

En adición a lo anterior, y en cuanto al soporte de los kits reclamados, me permito señalar que la persona medianamente versada en la materia podría reproducir las diferentes modalidades reclamadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto con base en la información divulgada en el Capítulo Descriptivo y sus conocimientos del campo técnico sin tener que recurrir a experimentación adicional exhaustiva. De hecho, tanto los kits como las composiciones farmacéuticas allí contenidas que comprenden péptidos, anticuerpos, TCRs, ácidos nucleicos, vectores o células son habituales en la técnica y están disponibles comercialmente. Dichas composiciones pueden formularse y producirse utilizando técnicas establecidas y ampliamente conocidas en la técnica desde hace al menos décadas. En este sentido, no es necesario que la persona medianamente versada en la materia disponga de más información que la que figura en las páginas 129 a y 161 a 163 del Capítulo Descriptivo para reproducir la materia reclamada.

Por todo lo anterior, solicito respetuosamente que las objeciones correspondientes sean retiradas.

vi) En lo referido a la nueva Reivindicación 36 (antigua Reivindicación 23, me permito señalar en primer lugar que, únicamente con el objetivo de facilitar el trámite de la presente solicitud, se modificaron los pasos b) y c) para que sea completamente claro que el péptido de SEQ ID NO: 36 se incluye en la vacuna o agente terapéutico anticáncer personalizado, y se reemplazó el término “*formular*” por “*producir*” en el paso d).

En segundo lugar, vale la pena resaltar que la fabricación de un producto farmacéutico personalizado, ya sea una vacuna o un agente terapéutico basado en un compuesto y/o células, es una técnica establecida desde hace décadas. Un producto que contiene péptidos se basa simplemente en el péptido disuelto en un disolvente, normalmente un disolvente acuoso como solución salina. De manera similar, los agentes terapéuticos celulares se basan en células suspendidas en una solución acuosa adecuada. Estas técnicas están tan bien

establecidas que tales agentes se fabrican comercialmente desde hace décadas. Lo mismo ocurre con las vacunas.

Además, vale la pena mencionar que la Reivindicación 36 define no sólo un método en donde se produce un producto farmacéutico sino, sobre todo, un método en el que se garantiza que se proporciona un producto farmacéutico específicamente adaptado para un individuo en particular. Así, los literales a) y b) de dicha reivindicación definen pasos que aseguran que el péptido en el que se va a basar el producto farmacéutico, o el péptido que se va a incluir en el producto farmacéutico se presenta efectivamente en los linfocitos Tumorales del sujeto, de modo que el producto farmacéutico será eficaz en este individuo en particular (*i.e.* un producto farmacéutico personalizado). La etapa (a) de la Reivindicación 36 define la identificación de un péptido presentado por una muestra tumoral individuo. El producto farmacéutico se basa así en el péptido identificado en una muestra del individuo respectivo. El paso (c) es un paso de selección en preparación para el paso subsiguiente de fabricación/producción del producto farmacéutico en el paso (d). El paso (d) define entonces un paso de fabricación, que puede realizarse utilizando técnicas establecidas. Todos estos pasos se explican en detalle en las páginas 163 a 169 del Capítulo Descriptivo.

En vista de lo anterior, solicito respetuosamente que las objeciones correspondientes sean retiradas.

vii) Con respecto a la afirmación del Despacho sobre el objeto principal de la presente solicitud, una vez más el Solicitante se permite diferir respetuosamente, toda vez que es el Solicitante, no el Despacho, quien debe definir el objeto de protección de una solicitud de patente. En este caso particular, la invención, tal como se define en las reivindicaciones, cubre no sólo el péptido sintético o recombinante que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36, sino también las diferentes modalidades derivadas del mismo, tales como las sales farmacéuticamente aceptables, anticuerpos, TCRs, ácidos nucleicos, vectores, células hospedadoras, kits y composiciones farmacéuticas.

viii) Así las cosas, y en vista de las modificaciones realizadas y de los argumentos presentados anteriormente, considero que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto cumple con los requisitos de claridad y soporte establecidos en el Artículo 30 de la Decisión 486, toda vez que la persona medianamente versada en la materia puede no sólo comprender clara e inequívocamente el alcance y los límites de la materia reclamada, sino también reproducirla con base en sus conocimientos del campo técnico y la

información contenida en el Capítulo Descriptivo sin necesidad de recurrir a experimentación adicional exhaustiva.

3. a- El Despacho señala que las Reivindicaciones 1 y 2 carecen de novedad a la luz del documento “*Personalized peptide vaccine-induced immune response associated with long-term survival of a metastatic cholangiocarcinoma patient*”¹ (D2).

En particular, el Despacho afirma que D2 divulga un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos APAAWLRSA que tiene un 100% de identidad y cobertura con el péptido de SEQ ID NO: 36 de la invención, y además enseña ligandos HLA de clase I naturales identificados en muestras tumorales, junto con el diseño de una vacuna antitumoral personalizada basada en ligandos HLA mutados. Por lo tanto, la Reivindicación 1 y 2 están anticipadas por el arte previo citado y no son novedosas.

b- En respuesta a esta objeción, me permito señalar D2 no corresponde a una divulgación habilitante que afecte la presente solicitud, en tanto que dicho documento solamente hace referencia a colangiocarcinoma, más no a cáncer de ovario. Por lo tanto, la persona medianamente versada en la materia no consideraría a D2 como un punto de partida para obtener la invención reclamada en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto.

En este orden de ideas vale la pena resaltar que, si le asistiera la razón al Despacho y solamente la divulgación de una secuencia particular de aminoácidos destruyera la novedad de una invención, ningún péptido sería susceptible de protección por patente, ya que en la actualidad se puede encontrar prácticamente cualquier secuencia corta de aminoácidos en las múltiples bases de datos de biología molecular cuyos registros se basan en análisis bioinformáticos predictivos. No obstante, este no es el caso, ya que diferentes Oficinas de Patentes reconocen que la novedad de péptido no puede basarse únicamente en su secuencia particular, sino en todo el conjunto de características técnicas asociadas a la misma, y de manera particular, si el arte previo le permitiría a la persona medianamente versada en la materia reproducir la invención tal como se reclama, es decir, si dicho arte previo es una divulgación habilitante.

Teniendo en cuenta lo anterior, me permito dirigir la atención del Despacho sobre lo establecido por el Tribunal Andino de Justicia (TAJ), en relación con la evaluación de la novedad. Particularmente, dicho Tribunal ha determinado que, para establecer una objeción

¹ Löffler, M. W., *et al.* 2016. Personalized peptide vaccine-induced immune response associated with long-term survival of a metastatic cholangiocarcinoma patient. *Journal of Hepatology*; 65: 849-855.

válida contra la novedad, la divulgación del arte previo debe ser lo suficientemente detallada para que una persona versada en la materia pueda usar dicha información para reproducir y explotar la invención². En otras palabras, el TAJ establece que una divulgación en un documento del estado de la técnica sólo destruye la novedad si la enseñanza que contiene es reproducible, lo que también se conoce como una divulgación habilitante. En el presente caso, D2 no es una divulgación habilitante, ya que no conduciría a la persona medianamente versada en la materia a obtener específicamente el péptido reclamado a partir del arte previo citado.

4. a- El Despacho señala que las Reivindicaciones 3 a 13 y 15 a 29 carecen de nivel inventivo a la luz de WO2017/009400 (D1) y D2.

i) El Despacho considera a D1 como arte previo más cercano a la invención definida en la Reivindicación 3, ya que, divulga un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 1 a 549 y dichas secuencias de péptidos son capaces de unirse al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I o II y son capaces de ser reconocidas por células CD4+ o CD8+. El péptido SEQ ID NO: 82 referido en D1 contiene con un 100% de identidad y cobertura el péptido SEQ ID NO: 36 de la presente.

Además, D1 menciona péptidos inmunogénicos útiles en el diagnóstico y el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, los cuales se encuentran modificados y/o incluyen enlaces no peptídicos, y pueden hacer parte de una proteína de fusión, en particular fusionada a los aminoácidos del extremo N-terminal de la cadena no variable asociada al antígeno HLA-DR (Ii), o fusionada a un anticuerpo, por ejemplo, un anticuerpo que es específico de células dendríticas. En realizaciones particulares se indica que el péptido puede ser modificado aún más para mejorar la estabilidad y/o la unión a las moléculas de MHC con el fin de desencadenar una respuesta más potente. Los métodos para conseguir esa optimización son bien conocidos e incluyen, por ejemplo, la introducción de enlaces peptídicos inversos o enlaces no peptídicos que pueden sintetizarse con métodos conocidos en la técnica. Esta estrategia implica la síntesis de pseudopéptidos que contengan cambios en la estructura principal, pero no en la orientación de las cadenas laterales. El Despacho menciona que la patente de US4897445 proporciona un método para la síntesis en fase sólida de enlaces no peptídicos (-CH₂- NH) en cadenas polipeptídicas que implica la obtención de polipéptidos

² Proceso 06-IP-89 (<http://intranet.comunidadandina.org/Documentos/Procesos/209-IP-2005.doc>) y Proceso 36-IP-2004 (<https://www.comunidadandina.org/DocOficialesFiles/Gacetitas/Gace1098.pdf>).

con procedimientos estándar y la síntesis del enlace no peptídico mediante la reacción de un aminoaldehído y un aminoácido en presencia de NaCNBH_3 .

El despacho afirma que la diferencia entre la invención definida entre la Reivindicación 3 y el péptido divulgado en el documento D1, es que, la molécula de la solicitud consiste en una secuencia de nueve aminoácidos que carece del residuo Alanina en su extremo C-terminal, mientras que, la secuencia del documento D1 tiene 10 aminoácidos y presenta dicho residuo adicional. Además, el Despacho considera que no se evidencia un efecto técnico asociado a dicha diferencia, puesto que la solicitud no presenta pruebas técnicas para un péptido SEQ ID NO: 36 que incluya enlaces no peptídicos.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención es: “¿Cómo modificar el péptido conocido en D1 con el fin de obtener un péptido alternativo?”.

Sin embargo, D2 ya se refiere a un péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I caracterizado por la secuencia de aminoácidos APAAWLRSA el cual presenta 100% de identidad y cobertura con respecto al péptido caracterizado por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 reclamado en la presente solicitud.

En consecuencia, la persona medianamente versada en la materia estaría motivada a incluir el péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I de secuencia APAAWLRSA del D2 y las enseñanzas para modificar péptidos inmunogénicos de unión a HLA de clase I para mejorar la estabilidad y/o la unión a las moléculas de MHC con el fin de desencadenar una respuesta inmune más potente de D1, para así llegar al objeto de la Reivindicación 3. Por lo cual se considera obvia.

Adicionalmente, D1 también divulga ácidos nucleicos, vectores de expresión, anticuerpos, métodos para producir los péptidos, kits y composiciones farmacéuticas que comprenden los péptidos allí divulgados.

Así, las Reivindicaciones 4 a 7, 10 a 13, 15 a 18, 21 y 22 también carecen de actividad inventiva.

ii) De otra parte, el Despacho afirma que D1 es considerado como el arte más cercano a la invención dirigida en la Reivindicación 8 ya que divulga un método *in vitro* para producir linfocitos T activos que comprende: Contactar *in vitro* linfocitos T con células presentadoras del antígeno o un constructo artificial que imita una célula presentadora del

antígeno por un periodo de tiempo suficiente para activar dichas linfocitos T de una manera específica para el antígeno en donde el antígeno es un péptido seleccionado de las SEQ ID NO: 1 a 519 y obtener el linfocito T activo producido por este método. El péptido SEQ ID NO: 82 referido en D1 contiene con un 100% de identidad y cobertura con el péptido SEQ ID NO: 36 de la presente solicitud.

De acuerdo con el Despacho, la diferencia entre la Reivindicación 8 y el método divulgado en D1, consiste en que, la molécula empleada para la estimulación consiste en una secuencia de nueve aminoácidos, mientras que, la secuencia del D1 tiene los mismos nueve aminoácidos más un residuo de Alanina adicional en el extremo C-terminal. Por lo tanto, el efecto técnico asociado a un método *in vitro* que emplee dicha molécula es generar inmunogenicidad *in vitro* obteniendo más de un 70% de líneas celulares de linfocitos T específicas para dicho péptido. Y el problema técnico que pretende resolver esta invención sería: *¿Cómo modificar el método conocido en D1 para obtener líneas de linfocitos T contra un péptido específico?*

No obstante, dado que D2 ya describe un péptido inmunogénico de secuencia APAAWLRSA, por lo tanto, una persona medianamente versada en la materia estaría motivado para incluir el péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I de D2 en el método *in vitro* para producir linfocitos T activos de D1 para llegar al método reivindicado en la Reivindicación 8 de una manera obvia.

Adicionalmente, el Despacho señala que la Reivindicación dependiente 9 no menciona alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al proceso de la Reivindicación 8, por lo cual se considera que las Reivindicaciones 8 y 9 carecen de nivel inventivo.

iii) Asimismo, el Despacho considera a D1 como el arte previo más cercano a la materia reclamada en la Reivindicación 19 porque divulga un método para diagnosticar diferentes tipos de cáncer a partir de los péptidos inmunogénicos que consisten en las secuencias de aminoácidos seleccionadas de las SEQ ID NO: 1 a 549.

El Despacho señala que, la diferencia entre la invención definida entre la Reivindicación 19 y el método divulgado en el documento D1, consiste en que, la molécula empleada para la estimulación en la solicitud consiste en una secuencia de nueve aminoácidos, mientras que, la secuencia del documento D1 tiene los mismos nueve aminoácidos más un residuo de Alanina adicional en el extremo C-terminal. Sin embargo, no hay evidencia de que el incluir

específicamente el péptido que consiste en la SEQ ID NO: 36 proporcione algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver la presente invención sería: *¿Cómo modificar el método in vitro para diagnosticar cáncer conocido en D1 con el fin de obtener un método in vitro para diagnosticar cáncer alternativo?* Sin embargo, D2 ya sugería un péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I caracterizado por la secuencia de aminoácidos APAAWLRSA que presenta 100% de identidad y cobertura con respecto al péptido caracterizado por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 de la presente solicitud.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir el péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I caracterizado por la secuencia de aminoácidos APAAWLRSA del D2 en el método *in vitro* para diagnosticar diferentes tipos de cáncer de D1, para así llegar al objeto de la Reivindicación 19. Por lo cual se considera obvia. Adicionalmente, la Reivindicación dependiente 20 tampoco cumple con el requisito de nivel inventivo.

iv) Finalmente, el Despacho indica que D1 es considerado como el arte previo más cercano a la invención definida en la Reivindicación 23, ya que divulga un método para producir una vacuna que comprende: a) identificar péptidos asociados a tumor (TUMAPs) presentados por una muestra tumoral de un paciente individual; b) comparar los péptidos identificados en a) con un archivo de péptidos que han sido preseleccionados por su inmunogenicidad y/o sobrerepresentación en tumores en comparación con tejidos normales; c) seleccionar al menos un péptido de dicho archivo que coincida con el TUMAP identificado en el paciente y d) manufacturar y/o formular dicha vacuna personalizada basada en el paso c) en donde el archivo comprende una pluralidad de péptidos seleccionados de las SEQ ID NO: 1 a 519 y, el péptido SEQ ID NO: 82 referido como componente de dicho archivo de D1, contiene con un 100% de identidad y cobertura el péptido SEQ ID NO: 36 de la presente solicitud.

El Despacho señala que la diferencia entre la invención definida entre la Reivindicación 23 y el método divulgado en D1 consiste en que al menos uno de los péptidos seleccionados del archivo consiste en una secuencia de nueve aminoácidos, mientras que, la secuencia de D1 tiene los mismos nueve aminoácidos más un residuo de Alanina adicional en el extremo C-terminal. Sin embargo, el Despacho señala que no se evidencia un efecto técnico asociado a una vacuna que comprenda dicha secuencia ya que, no existe ninguna prueba técnica en la

solicitud que evidencie un proceso como el reclamado para obtener una vacuna personalizada a base de péptidos o células.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención sería: *¿Cómo modificar el método conocido en D1 para obtener un método alternativo?*

Sin embargo, D2 ya divulga un péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I caracterizado por la secuencia de aminoácidos el cual presenta 100% de identidad y cobertura con respecto al péptido caracterizado por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 reclamado en la presente solicitud

Adicionalmente, D1 se refiere a un protocolo específico para la identificación del archivo de péptidos que comprende aproximaciones de genómica funcional integrada que combinan análisis de la expresión génica, espectrometría de masas e inmunología de linfocitos T, dicha aproximación asegura que solo los TUMAPs que estén realmente presentes en un alto porcentaje en los tumores y sean mínimamente expresados en tejidos normales, sean escogidos para el análisis y, señala que, la lista de secuencias inmunogénicas contiene péptidos con perfiles de expresión génica relacionados a mutaciones somáticas que son determinadas por comparación con los genomas de las líneas germinales de las células de sangre periférica (PBMC) y que los péptidos identificados *de novo* pueden ser evaluados por su inmunogenicidad y, de ser este parámetro adecuado, pueden ser seleccionados para la inclusión en la vacuna. Además, menciona que, para que un péptido pueda ejercer una respuesta inmune celular debe tener la capacidad de unirse a una molécula de MHC Clase I y esto ocurre para péptidos de 8 a 12 aminoácidos que contengan dos residuos conservados que interactúen adecuadamente con el surco de unión de la molécula de. Por lo que, teniendo en cuenta que la secuencia de D1 comprende en su totalidad la SEQ ID NO: 36 de la solicitud es decir tiene 9 residuos conservados y, que, su tamaño es de 10 aminoácidos y es apropiado para la unión al MHC Clase I, dicha secuencia constituiría un ligando efectivo para una molécula de MHC clase I, lo que permitirá su presentación y la generación de líneas de linfocitos T específicas contra la misma.

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir el péptido inmunogénico de unión a HLA de clase I caracterizado por la secuencia de aminoácidos APAAWLRSA de D2 en el método para la generación de vacunas personalizadas de D1, para así llegar al objeto de la Reivindicación 23. Por lo cual se considera obvia, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

El Despacho agrega que las Reivindicaciones dependientes 24 a 29 tampoco cumplen con el requisito de nivel inventivo.

v) Respecto a los argumentos presentados a favor de nivel inventivo en la respuesta al segundo examen de fondo, el Despacho reitera que los argumentos para el péptido reclamado en la Reivindicación 1 no son procedentes, ya que el péptido recombinante o sintético que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 reclamado, no es nuevo, a la luz de las enseñanzas de D2.

b- En vista de las modificaciones señaladas en el primer punto de este memorial, y a la luz del arte previo citado por el Despacho, me permito presentar a continuación argumentos a favor del nivel inventivo de la materia reclamada en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto:

i) Con respecto a la nueva Reivindicación 5, me permito señalar inicialmente que la materia allí reclamada (*i.e.* una sal farmacéuticamente aceptable del péptido de SEQ ID NO: 36) no se encuentra anticipada por ninguno de los documentos del arte previo citado.

Ahora bien, la diferencia entre la Reivindicación 5 y la divulgación de D2 reside en que se proporciona una entidad estructuralmente diferente, a saber, una sal del péptido.

El efecto técnico y el problema a resolver

La formación de una sal peptídica puede proporcionar una condición de solubilidad mejorada, y también una condición de estabilidad mejorada de un péptido. Por lo tanto, el problema a resolver podría formularse como la provisión de una forma del péptido de SEQ ID NO: 36 que se encuentre en una condición de solubilidad mejorada y/o en una condición de estabilidad mejorada.

Al evaluar si la sal reivindicada es una solución obvia al problema, es necesario analizar si la persona medianamente versada en la materia se enfrentaría al problema teóricamente formulado, si vería tal problema y si existiría una motivación para seleccionar la materia reivindicada como solución al problema.

La persona medianamente versada en la materia seleccionaría medios más fáciles de proporcionar una condición de solubilidad mejorada

En cuanto a la solubilidad, el péptido APAAWLRSA contiene una arginina básica, que proporciona una carga neta positiva en una solución acuosa a pH fisiológico. Hay una serina polar adicional, pero los 7 aminoácidos restantes son de naturaleza no polar. Por lo tanto, cabe esperar que la solubilidad en disolventes acuosos sea escasa, especialmente con concentraciones elevadas de sales o tampones.

En D2 no se reconoce el problema de la solubilidad deficiente. En consecuencia, para el problema de la mejora de la solubilidad, D2 no ofrece ninguna sugerencia.

Por su parte, D1 divulga en el Ejemplo 1 el uso de ácido fórmico y acetonitrilo en cromatografía RP. Además, el documento divulga el uso de DMSO en la página 98. Por lo tanto, en D1 se proporcionan soluciones mucho más convenientes al problema de mejorar la solubilidad. Por lo tanto, no hay ninguna razón por la que la persona medianamente versada en la materia deba estar motivada para proporcionar una forma del péptido de SEQ ID NO: 36 que esté en condiciones de solubilidad mejorada proporcionando una sal del péptido.

La persona medianamente versada en la materia no reconocería que existe el problema de proporcionar una condición de estabilidad mejorada, y D2 enseña a no seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36

Aumentar la estabilidad de un péptido permite su almacenamiento a largo plazo. El péptido APAAWLRSA contiene un triptófano en la posición 5, que es susceptible de oxidación. Además, el péptido APAAWLRSA tiene una longitud de 9 aminoácidos, por lo que no se pliega en una estructura terciaria y, por tanto, es propenso a la hidrólisis.

Sin embargo, sin ninguna indicación en la técnica anterior de que el péptido pueda presentarse selectivamente en células cancerosas, no hay razón para que la persona medianamente versada en la materia contemple el almacenamiento a largo plazo del péptido. Sólo una vez que se sabe que el péptido de SEQ ID NO: 36 es de interés médico, existe la necesidad de que el péptido tenga que ser almacenado. Cabe destacar que la sal reivindicada en la Reivindicación 5 debe ser una sal farmacéuticamente aceptable.

Tanto D2 como D1 divulgan otros péptidos que se sugiere que son útiles en el contexto del tratamiento del cáncer. Sin embargo, este no es el caso del péptido de SEQ ID NO: 36.

La secuencia de SEQ ID NO: 36 se divulga en la Tabla Suplementaria 17 como No. 786 de un total de 1318 secuencias (véase la página 103 de los datos suplementarios de D2). La tabla tiene el título “*Inmunopeptidoma L06/10 (tejido tumoral)*”. “L06/10” se refiere a una muestra de tumor, véase el último párrafo de la columna izquierda de la página 850 y la Figura 1 de D2. No existe una muestra correspondiente de tejido sano. En consecuencia, a partir de D2 la persona medianamente versada en la materia no tiene información sobre si el péptido APAAWLRSA es un péptido común que se encuentra en cualquier tejido del cuerpo o si es un péptido que sólo se encuentra en determinados tumores. Sólo en este último caso el péptido es de interés en el contexto médico, y en este caso el almacenamiento a largo plazo del péptido sería de interés.

Según las explicaciones de la página 55 del suplemento de D2, se identificaron 375 “*péptidos únicos*” en el tumor denominado “L06/10”. Sin embargo, no se afirma que estos péptidos estarían ausentes en el tejido sano, y tampoco se indica qué péptidos podrían ser. Las Figuras 16 a 21 muestran un péptido por cada dos figuras, es decir, 3 péptidos. Estos péptidos difieren del péptido APAAWLRSA.

La composición de la vacuna peptídica utilizada en D2 se muestra en la Tabla 1 de la página 851. La columna izquierda de la página 854 de D2 afirma que los péptidos respectivos “*han demostrado ser inmunogénicos en pacientes con cáncer y/o en ensayos in vitro con linfocitos T*”. En consecuencia, D2 enumera 1318 secuencias, de las cuales se enseña que una selección es adecuada para una vacuna. El péptido de SEQ ID NO: 36 no está incluido entre estos péptidos.

La tabla suplementaria 19 de D2 muestra la predicción de epítomos para péptidos de vacunas. Aunque una predicción no es prueba de que el péptido sea adecuado como vacuna, el péptido APAAWLRSA tampoco se encuentra entre los péptidos de la lista. Por lo tanto, D2 enseña a no considerar el péptido APAAWLRSA en el contexto médico.

En este orden de ideas, D2 no puede proporcionar ninguna sugerencia que pueda considerarse una motivación para la persona medianamente versada en la materia con respecto a SEQ ID NO: 36. De manera similar, tampoco hay razón para que la persona medianamente versada en la materia lleve el péptido APAAWLRSA a una condición de estabilidad aumentada.

La presente solicitud es la primera prueba de que el péptido de SEQ ID NO: 36 es útil para fabricar un medicamento

Como también se explicó en nuestra presentación anterior, sólo los datos de la presente solicitud demuestran que el péptido de SEQ ID NO: 36 es adecuado para su producción como medicamento, a saber, un medicamento útil para tratar el cáncer. El simple hecho de que el péptido de SEQ ID NO: 36 se presente en la superficie de las células cancerosas no puede proporcionar ningún indicio a este respecto, contrario a lo que indica el Despacho.

La Tabla 19 de la presente solicitud muestra la sobrerepresentación del péptido de SEQ ID NO: 36 en un par de cánceres, la Tabla 16 muestra la unión a HLA I, y la Tabla 11B muestra resultados positivos en una prueba de inmunogenicidad *in vitro*.

De hecho, estos efectos técnicos fueron confirmados por el Solicitante en experimentos adicionales, los cuales se encuentran en el Anexo 1 del presente memorial. En particular, Figura 1 del Anexo 1 muestra el análisis de espectrometría de masas utilizando muestras de tejido correspondientes con respecto al péptido de SEQ ID NO: 36. Los detalles experimentales pueden encontrarse en el Ejemplo 1 de la solicitud. La Figura 1 muestra la detección del péptido en la superficie de células en tejido obtenido de pacientes con cáncer y controles sanos. Los controles sanos están de nuevo a la izquierda, las muestras de cáncer a la derecha. La presentación del péptido en muestras no cancerosas no es detectable. En cambio, el péptido se encuentra en células de varios tipos de cáncer, a saber, al menos cáncer de mama (BRCA), cáncer colorrectal (CCR), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y cáncer de ovario (OC).

De otro lado, la Figura 2 del Anexo 1 muestra datos de expresión, concretamente los niveles relativos de ARN de la proteína fuente codificada por MMP11 del péptido de SEQ ID NO: 36 en diferentes muestras de tejido de pacientes sanos (diferentes órganos), y de pacientes con cáncer. Los detalles experimentales pueden encontrarse en el Ejemplo 2 de la presente solicitud. Las muestras de cáncer incluyen, entre otras, carcinoma colangiocelular (CCC), cáncer de vesícula biliar (GBC), cáncer gástrico (GC), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer de esófago (OSCAR), cáncer de páncreas (PACA), carcinoma de vejiga urinaria (UBC) o cáncer de endometrio uterino (UEC), en los que se encontraron niveles de expresión significativos. La traducción a ARN en muestras no cancerosas se encontró en placenta.

La Figura 3 del Anexo 1 muestra los resultados del ensayo de inmunogenicidad *in vitro*. Los detalles experimentales pueden encontrarse en el Ejemplo 3 de la presente solicitud. Se observó que el péptido de SEQ ID NO: 36 activaba los linfocitos T, provocando su proliferación. “Pocillos positivos” indica el número total de pocillos positivos para un

donante individual. Al menos el 50% de los pocillos del donante representativo fueron positivos. “*Donantes positivos*” indica el número de donantes para los que se encontró al menos un pocillo positivo en la prueba de inmunogenicidad *in vitro*. Éstos superaron el 70%. Por lo tanto, en la gran mayoría de los donantes el péptido de SEQ ID NO: 36 fue capaz de activar los linfocitos T. Así pues, el péptido es capaz de ser reconocido por los linfocitos T, lo que conduce a una respuesta inmune contra las células cancerosas que presentan el péptido.

Finalmente, la Figura 4 del Anexo 1 muestra el análisis de espectrometría de masas del péptido sintético, del que la Reivindicación 5 define una sal farmacéuticamente aceptable, y de la contraparte natural del péptido libre aislado de muestras de tejido. La parte inferior muestra el perfil obtenido para la contraparte nativa obtenida de muestras tumorales, después de que el péptido haya sido purificado y aislado por cromatografía líquida. La parte superior muestra el perfil obtenido para el péptido de SEQ ID NO: 36 que ha sido sintetizado químicamente mediante síntesis peptídica clásica en fase sólida. Como puede verse, los fragmentos obtenidos son los mismos, aunque hay algunas diferencias menores en las intensidades de señal aquí y allá. Así pues, el péptido prácticamente no puede distinguirse del homólogo natural que se ha identificado en muestras tumorales.

Los inventores de la presente solicitud han descubierto que el péptido de SEQ ID NO: 36 no se presenta en células sanas. Esto significa que el sistema inmune del cuerpo reconoce el péptido de SEQ ID NO: 36 como no perteneciente a la situación de un organismo sano, como ya se explicó en nuestra presentación anterior, y como también se explica con más detalle a continuación.

Como se ha expuesto anteriormente, los péptidos que se presentan en la superficie celular proceden de cualquier proteína que se encuentre en el citoplasma. A la vista de la divulgación de D2 de que se ha descubierto que el péptido de SEQ ID NO: 36 es uno de los numerosos péptidos que se presentan en las células cancerosas del conducto biliar de un paciente, no se podría haber previsto que este péptido no se presente en las células sanas. Por lo tanto, tampoco podría haberse previsto que el péptido APAAWLRSA sea capaz de inducir una respuesta inmune.

La presentación del péptido de SEQ ID NO: 36 sólo en la superficie de las células cancerosas permite al sistema inmune del organismo distinguir entre células sanas y células cancerosas. Un péptido que se presenta en una célula cancerosa y, por tanto, forma parte del ligandoma HLA de la célula, puede ser potencialmente un ligando HLA al que el sistema inmune nunca ha estado expuesto previamente. En este caso, el péptido es altamente inmunogénico.

Si un péptido sólo se presenta en una célula cancerosa, pero no en células sanas, se trata de un ligando HLA al que el sistema inmune nunca ha estado expuesto previamente. Por tanto, el péptido es altamente inmunogénico.

Por otro lado, si un péptido que se presenta en una célula cancerosa es un péptido que también se presenta en células de tejido sano, la restricción del MHC en el desarrollo de linfocitos T del organismo respectivo hace que el péptido sea reconocido como un antígeno propio. En este caso, el péptido no puede ser inmunogénico dentro del organismo respectivo. Esto se debe a lo que se conoce como autotolerancia del sistema inmune. Como se explica en la página 1004 del libro de Berg, *et al.* citado en mi respuesta al segundo examen de fondo (Anexo 2 del presente memorial), los precursores de los linfocitos T se someten a una selección positiva y negativa en el timo, a la que no sobrevive aproximadamente el 98% de los precursores. A los linfocitos T portadoras de TCR específicos para péptidos que no se presentan en células sanas se les permite madurar, mientras que los linfocitos T portadores de TCR para autoantígenos son eliminados por delección clonal o por un proceso denominado anergia, a menos que el linfocito T respectivo sea una célula “ignorante”. Como resultado, no hay respuesta inmune contra los autoantígenos.

No hay ningún indicador en D1 o D2 que pueda llevar al experto a contemplaciones que puedan dar lugar a la selección, en primer lugar, del péptido de la secuencia APAAWLRSA y, en segundo lugar, a la provisión de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Por lo tanto, la sal del péptido de SEQ ID NO: 36 según la Reivindicación 5 tiene nivel inventivo.

Observaciones similares se aplican al péptido definido en la Reivindicación 3, que incluye enlaces no peptídicos. Los enlaces no peptídicos no pueden ser degradados por peptidasas, una impureza común que pone en riesgo el almacenamiento a largo plazo de péptidos y proteínas.

Una vez más, el Despacho no explica en qué se basaría la persona medianamente versada en la materia para seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36, y qué razón tendría la persona medianamente versada en la materia para proporcionar una forma del péptido de SEQ ID NO: 36 que sea más estable en el almacenamiento a largo plazo. De nuevo, sin ninguna indicación en la técnica anterior de que el péptido pueda presentarse selectivamente en células cancerosas, no hay razón para que la persona medianamente versada en la materia

contemple seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36 o proporcionar una forma que sea más estable al almacenamiento a largo plazo.

Como D2 enseña a no considerar el péptido APAAWLRSA en el contexto médico, la argumentación del Despacho referida a que la persona medianamente versada en la materia estaría “*motivada*” a obtener la invención es sustancialmente errónea, y sólo puede basarse en un análisis en retrospectiva.

En la presente objeción contra la Reivindicación 3, el Despacho considera que D1 es el arte previo más cercano. D1 divulga el péptido APAAWLRSA, que difiere del péptido de SEQ ID NO: 36 en que contiene una Alanina C-terminal adicional.

Como demuestran los datos presentados anteriormente, es probable que la presencia de un aminoácido adicional en el extremo C-terminal de un péptido altere sustancialmente el perfil de presentación de un péptido. Por lo tanto, no se puede extraer ninguna conclusión de la presentación del péptido APAAWLRSA únicamente en células cancerosas, pero no en células sanas. Además, la publicación de Garstka, *et al.* (Anexo 3) muestra que la unión de un péptido a la ranura de unión de una molécula MHC se ve gravemente afectada por la eliminación o adición de un aminoácido en el extremo N o C del péptido. Por lo tanto, la persona medianamente versada en la materia es consciente de que es poco probable que los efectos encontrados para un determinado péptido sean transferibles a un péptido que contenga un aminoácido adicional en su extremo C. Véase también más adelante a este respecto.

Partiendo de D1, tampoco hay razón para que la persona medianamente versada en la materia seleccione el péptido APAAWLRSA. Al consultar D2, la persona medianamente versada en la materia encontraría que D2 no enseña a seleccionar el péptido APAAWLRSA. Por lo tanto, no se proporciona ninguna motivación para la persona medianamente versada en la materia que pudiera conducir en última instancia a la contemplación del objeto de la Reivindicación 3.

Tampoco hay razón para que la persona medianamente versada en la materia contemple la posibilidad de generar un ácido nucleico que codifique el péptido de SEQ ID NO: 36 o un vector que comprenda dicho ácido nucleico. Lo mismo se aplica a una célula huésped o a un método de producción del péptido.

ii) En lo referido a la nueva Reivindicación 10 (antigua Reivindicación 8), me permito resaltar que la materia allí reclamada hace referencia a un método *in vitro* para producir linfocitos T activados. En el método, los linfocitos T se ponen en contacto *in vitro* con antígeno cargado en moléculas MHC de clase I humanas que están en la superficie de una célula presentadora de antígeno o en una construcción artificial que imita una célula presentadora de antígeno. El antígeno es el péptido de la secuencia SEQ ID NO: 36.

Para determinar si el método y la línea celular humana reivindicados implican nivel inventivo, no es relevante si el efecto técnico asociado a la materia reivindicada es una ventaja, como dio a entender el Despacho. El requisito legal establecido en el Artículo 18 de la Decisión 486 es simplemente que la materia reivindicada no sea obvia.

La diferencia entre D2 y la materia de la Reivindicación 10 se ha identificado en que los linfocitos T se ponen en contacto con una célula presentadora de antígeno o construcción artificial que presenta el péptido de SEQ ID NO: 36.

El efecto técnico

De acuerdo con el Despacho, el efecto técnico asociado con un método *in vitro* basado en el péptido de SEQ ID NO: 36 es generar inmunogenicidad *in vitro* obteniendo más del 70% de líneas celulares de linfocitos T específicas para este péptido.

No queda claro qué se supone que significa la “*generación de una inmunogenicidad in vitro*”. Ni se genera una inmunogenicidad, ni puede generarse *in vitro*. Tampoco hay pruebas generales de que más del 70% de los linfocitos T sean específicos para el péptido de SEQ ID NO: 36, lo que podría utilizarse para identificar un efecto técnico.

La Tabla 11b de la solicitud muestra el porcentaje de pocillos positivos para PBMC de un único donante de sangre. Como se explica en el Ejemplo 3, se aislaron linfocitos T CD8+ de un donante de sangre individual. Los linfocitos T CD8+ se incubaron con perlas recubiertas con el complejo del péptido de SEQ ID NO: 36 y MHC, y con un anticuerpo anti-CD28. De este modo, se estimularon los linfocitos T que reconocen el péptido de SEQ ID NO: 36, lo que condujo a su proliferación. Como resultado, se generó una línea de linfocitos T *in vitro* utilizando, entre otras cosas, el péptido de SEQ ID NO: 36. Se detectó la proliferación y se contó el número de pocillos en los que habían proliferado linfocitos T. En cada uno de estos pocillos se había formado una línea específica de linfocitos T CD8+ de un clon de linfocito T específico para el péptido de SEQ ID NO: 36 tras la estimulación *in vitro*.

Este ensayo es, en esta forma, una instantánea de un único donante de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés). Por lo tanto, los datos como tales tienen, por un lado, una tasa de error de falsos positivos baja, es decir, el riesgo de que el ensayo detecte un potencial inmunogénico falso de los péptidos analizados es bajo. Por otro lado, los datos tienen un alto porcentaje de errores falsos negativos, y el ensayo no detecta en absoluto el verdadero potencial inmunogénico de los péptidos analizados. Dicho de otro modo, no hay una gran diferencia entre un péptido que muestra “+” o “++++”, ya que ambos han sido capaces de inducir la activación de linfocitos T en el donante concreto probado. Ambos péptidos, es decir, que muestren “+” o que muestren “++++”, han demostrado por tanto su potencial inmunogénico que conduce a la activación de linfocitos T cuyos receptores de linfocitos T podrían utilizarse como base para generar un agente terapéutico.

La Tabla 11b de la solicitud confirma así que el péptido de SEQ ID NO: 36 es capaz de inducir la activación de linfocitos T en el donante concreto ensayado. La Figura 3 del Anexo 1 muestra además que de la gran mayoría de los donantes ensayados se aislaron y detectaron linfocitos T que reconocen específicamente el péptido de SEQ ID NO: 36.

Como se ha explicado anteriormente, una vez que se sabe que el péptido de SEQ ID NO: 36 no se presenta en células de tejido sano, ya no es sorprendente que el péptido sea capaz de estimular los linfocitos T de un donante de sangre. Sin embargo, sin este conocimiento hay que suponer que el péptido es uno de los muchos péptidos que se presentan en el tejido sano.

Así pues, el efecto técnico asociado al método *in vitro* de la nueva Reivindicación 10, es más bien que el método funciona.

De la presentación de un péptido en la superficie de una célula sin control, independientemente de que se trate de una célula cancerosa o sana, no se puede extraer ninguna conclusión sobre si existen linfocitos T específicas para este péptido.

Sobre la base de la divulgación de D2, no hay ninguna razón que llevara a la persona medianamente versada en la materia a establecer un método como el definido en la Reivindicación 10.

La posibilidad de producir linfocitos T activados que reconozcan el péptido de SEQ ID NO: 36 no podría haber sido esperada por la persona medianamente versada en la materia, porque

no había ninguna razón para suponer que los linfocitos T que reconocen el péptido de SEQ ID NO: 36 podrían encontrarse en un ser humano.

Sólo sobre la base de los datos proporcionados por la presente solicitud es plausible que el péptido de SEQ ID NO: 36 sea capaz de activar linfocitos T.

En este sentido, el hecho de que todos los péptidos probados en la presente solicitud, y también en D1, resultaran ser capaces de activar linfocitos T es extremadamente inusual, y se debe a los criterios de selección aplicados durante y después del aislamiento e identificación de estos péptidos.

Para que un péptido sea reconocido por los linfocitos T es necesario que se puedan obtener dichos linfocitos T. Dichos linfocitos T tendrían que proceder de algún donante. Por lo tanto, un donante respectivo tendría que tener linfocitos T que reconozcan el péptido de SEQ ID NO: 36. Existen mecanismos reguladores en un organismo que impiden la generación de linfocitos T dirigidos a péptidos que se presentan en células sanas del organismo. De este modo se evita una respuesta autoinmune.

Esto significa que para poder inducir una respuesta inmune contra una determinada célula que no se encuentra normalmente en un organismo, como una célula cancerosa, el péptido en cuestión debe presentarse selectivamente en la superficie de la misma célula, pero no en las células sanas. Como expliqué en mi respuesta al segundo examen de fondo, la presentación de los péptidos en la superficie celular se produce a través de la unión al MHC, en el caso de los péptidos procedentes de proteínas citosólicas a través de la unión al MHC I, véase la primera frase completa de la página 996 del Anexo 2. El péptido se une en un surco de unión del MHC, como se ilustra en la Figura 34.27 del Anexo 2.

Si un péptido se presenta tanto en células sanas como cancerosas, la restricción del MHC en el desarrollo de linfocitos T del organismo respectivo hace que el péptido sea reconocido como un antígeno propio. En este caso, el péptido no puede ser inmunogénico dentro del organismo respectivo. Esto se debe a lo que se conoce como autotolerancia del sistema inmune. Como se explica en la página 1004 del Anexo 2., los precursores de los linfocitos T se someten a una selección positiva y negativa en el timo, a la que no sobrevive aproximadamente el 98% de los precursores. A los linfocitos T portadoras de TCR específicos para péptidos que no se presentan en células sanas se les permite madurar, mientras que los linfocitos T portadores de TCR para autoantígenos son eliminados por

deleción clonal o por un proceso denominado anergia, a menos que el linfocito T respectiva sea una célula ignorante. Como resultado, no hay respuesta inmune contra los autoantígenos.

Por lo tanto, los linfocitos T que reconocen el péptido de SEQ ID NO: 36 sólo pueden obtenerse si el péptido de SEQ ID NO: 36 no se presenta en células sanas.

Esto explica por qué todos los péptidos enumerados en las Tablas 11A y 11B de la presente solicitud demostraron ser capaces de inducir una respuesta inmune. Por la misma razón es altamente plausible que el péptido de SEQ ID NO: 36 también sea capaz de inducir una respuesta inmune:

Los inventores de la presente solicitud han aislado el péptido de SEQ ID NO: 36 a partir de tejido real, como se describe en el Ejemplo 1 de la solicitud. El péptido se ha aislado de las muestras como un complejo, es decir, péptido unido a MHC clase I, también conocido como complejo pMHC (denotado en el Ejemplo como “péptido HLA”, abreviado en otros lugares también como complejo pMHC). A este respecto, la Tabla 16 de la solicitud tal como se presentó muestra además que el péptido de SEQ ID NO: 36 se une al MHC I. El complejo del péptido y el MHC se aísla de la muestra mediante inmunoprecipitación, una técnica que permite aislar el antígeno proteico de una solución utilizando un anticuerpo que se une específicamente a ese antígeno. El anticuerpo era específico para el MHC, más concretamente para el HLA-A*02. La unión del anticuerpo al MHC es específica de la conformación, y sólo capturará complejos MHC de clase I plegados. Una molécula MHC de clase I (incluido HLA-A*02) depende de la unión a un péptido para plegarse correctamente. Dicho de otro modo, el MHC de clase I libre no es estable sin un péptido unido a él. Como se describe en el Ejemplo 1 de la solicitud, se purificaron los complejos péptido-MHC y, a continuación, se liberaron los péptidos unidos. El péptido de SEQ ID NO: 36 se identificó entre los péptidos unidos al MHC. Esto demuestra que el péptido de SEQ ID NO: 36 se presenta efectivamente en la superficie de las células por MHC.

Además, la Figura 1 del Anexo 1 muestra la presentación selectiva del péptido APAAWLRSA en determinados cánceres. Dicha figura también muestra que el péptido APAAWLRSA no se encuentra en la superficie del tejido sano.

En D2 no se presentan ni pueden presentarse tales pruebas, ya que D2 sólo revela que el péptido APAAWLRSA es presentado por el MHC en células cancerosas de un paciente que padece cáncer de vías biliares. El argumento del Despacho de que D2 sugeriría un péptido de unión a HLA clase I inmunogénico es en parte erróneo. D2 no demuestra ni puede

demostrar que el péptido APAAWLRSA sea inmunógeno. Todo lo que muestra D2 es la unión a HLA clase I, que no es indicativa de ningún efecto inmunológico. D2 no demuestra en qué tejido de un organismo sano se presenta o no el péptido. Además, como se ha señalado anteriormente, D2 enseña a no seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36.

El problema a resolver

Esto significa que el problema a resolver puede plantearse como la provisión de otro método *in vitro* para producir linfocitos T activados.

Aunque este problema implica la provisión de un método adicional, no se requiere ningún efecto adicional para que el método implique nivel inventivo. Como se ha explicado anteriormente, no cabía esperar que dicho método funcionara para el péptido de SEQ ID NO: 36. Sólo un número limitado de péptidos es adecuado para un método *in vitro* de producción de linfocitos T activados. Todos aquellos péptidos que se presentan en la superficie de células sanas, son tratados por el sistema inmune del donante del que se han obtenido los linfocitos T como “*proprios*”, es decir, como parte del organismo. No se pueden encontrar linfocitos T que reconozcan dichos péptidos en un organismo, por ejemplo, un donante del que se han obtenido linfocitos T.

No se puede saber de antemano si un péptido determinado se presenta o no en la superficie de las células sanas de un donante. Dado que el “*traje*” genético entre los individuos de una especie no es drásticamente diferente, sólo se puede concluir que un péptido es adecuado para un método *in vitro* de producción de linfocitos T activados, una vez que esto se ha establecido para un individuo. Esto puede hacerse comprobando si los linfocitos de una muestra de sangre responden al péptido, o determinando que el péptido no se presenta en la superficie de las células sanas de un individuo.

La solución aportada por la Reivindicación 10 no es obvia

Como ya se ha señalado, el D2 no dice nada sobre si el péptido APAAWLRSA podría presentarse o no en el tejido sano. Además, D2 enumera un par de péptidos que difieren del péptido APAAWLRSA, que se han considerado adecuados para la generación de una vacuna. El péptido APAAWLRSA se enumera entre un gran número de péptidos, en los que éste no es el caso. Por lo tanto, la persona medianamente versada en la materia no elegiría el péptido APAAWLRSA, sino que seleccionaría un péptido de los que se han encontrado adecuados para una vacuna.

D1 divulga numerosos péptidos que difieren todos del péptido reivindicado. Los péptidos de D1 también se han seleccionado por ser péptidos que sólo se presentan en células cancerosas, y se ha demostrado que los péptidos divulgados son capaces de inducir una respuesta inmune. Sin embargo, no es posible extraer ninguna conclusión de la existencia de estos péptidos con respecto a otros péptidos que puedan ser capaces de inducir una respuesta inmune. El argumento del Despacho de que D1 divulgaría un método de activación de linfocitos T no demuestra la condición previa básica para combinar con éxito el método de D1 con cualquier otra divulgación: debe disponerse de linfocitos T que reconozcan el péptido de la otra divulgación, en este caso D2. Sin dichas linfocitos T no hay nada que pueda activarse. Tales linfocitos T existen en un organismo, si el péptido respectivo no se presenta en células sanas, véase más arriba.

Cuando D1 se toma como punto de partida no es posible prever qué otros péptidos podrían presentarse selectivamente sólo en las células cancerosas. Dicho de otro modo, para un péptido dado, como el péptido APAAWLRSA, a partir de su identificación en un determinado tejido, incluido un determinado cáncer, no es posible extraer ninguna conclusión sobre en qué otras células podrían presentarse este péptido en un organismo.

Partiendo de D1 no hay información creíble para la persona medianamente versada en la materia en el documento D2 de que el péptido de SEQ ID NO: 36 podría y sería reconocido por los linfocitos T. D2 no puede proporcionar ninguna sugerencia sobre dónde y dónde no podría presentarse el péptido de SEQ ID NO: 36 en un organismo, por ejemplo, en células de qué tejido. Mucho menos puede D2 proporcionar ninguna sugerencia de que el péptido de SEQ ID NO: 36 podría estar ausente de los tejidos sanos.

Sólo de los datos de la presente solicitud se deduce que pueden existir y existirán linfocitos T portadores de un TCR dirigido contra el péptido de SEQ ID NO: 36.

Puesto que además D2 enseña a no seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36, la persona medianamente versada en la materia no seleccionaría la secuencia de SEQ ID NO: 36 de las 1318 secuencias enumeradas en la Tabla suplementaria 17 de D2.

Por lo tanto, la combinación de D1 y D2 no puede conducir a la solución de otro método para producir linfocitos T activados tal como se define en la Reivindicación 10.

Por último, el Despacho sigue haciendo referencia al péptido APAAWLRSAA divulgado en D1, que tiene un residuo de alanina adicional en su extremo C-terminal. Como señalé en mi respuesta al segundo examen de fondo, el conocimiento del péptido APAAWLRSAA y su presentación únicamente en determinados tejidos *a posteriori* no puede proporcionar ninguna orientación al experto con respecto al péptido APAAWLRSA.

Los datos generados por el solicitante y presentados anteriormente muestran que es probable que la presencia de un aminoácido adicional en el extremo C de un péptido altere sustancialmente el perfil de presentación de un péptido. En el Anexo 3 se muestra además que la adición/eliminación de un aminoácido en el C-terminal de un péptido afecta gravemente a la unión del péptido respectivo a las moléculas del MHC I, incluida una pérdida completa de la unión al MHC I.

La Figura 34.27 en la página 997 del Anexo 2. ilustra el surco de unión del MHC. La leyenda de dicha figura explica que un péptido que se une en el surco de unión está rodeado en tres lados por una lámina b y dos hélices a. La Figura 34.28 en la misma página del Anexo 2 muestra que normalmente el aminoácido en el extremo C-terminal de un péptido unido funciona como un residuo de anclaje. El texto sobre la figura explica: *“Las cadenas laterales de la molécula MHC interactúan con los amino y carboxilo terminales y con las cadenas laterales en estas dos posiciones clave. Estos dos residuos suelen denominarse residuos de anclaje”* (Mi traducción).

Por lo tanto, no cabe esperar que el hallazgo de un péptido que es un aminoácido más largo que el péptido en cuestión pueda transferirse en modo alguno al péptido en cuestión. Por lo tanto, no puede extraerse ninguna conclusión de la divulgación del péptido APAAWLRSAA en D1 al péptido APAAWLRSA divulgado en D2. Por lo tanto, el método de la Reivindicación 10, implica nivel inventivo. Por las mismas razones, la línea celular de linfocitos T activados de la Reivindicación 11 también tiene nivel inventivo.

El efecto técnico de una línea celular humana de linfocitos T activada utilizando el péptido consistente en SEQ ID NO: 36 es que las células de dicha línea celular reconocen y atacan a las células cancerosas. Los linfocitos T activados pueden así encontrar una aplicación en terapia. Una forma marcada de los linfocitos T activados es además adecuada para métodos en el contexto del diagnóstico.

Como se ha explicado anteriormente, esto no podría haberse esperado de una combinación de D1 y D2. El hecho de que el péptido de SEQ ID NO: 36 se presente sólo en ciertas células

cancerosas, pero no en células sanas, no podría haber sido predicho por la persona medianamente versada en la materia.

La identificación de los péptidos que se presentan en las células no es ni rutinaria ni de cribado

Adicional a lo anterior, me permito resaltar que D1 divulga técnicas que son útiles para identificar y caracterizar péptidos que se presentan en determinadas células. Sin embargo, el conocimiento de las técnicas necesarias para identificar péptidos en la superficie de las células no implica el conocimiento de los péptidos que podrían identificarse utilizando dichas técnicas.

La identificación de los péptidos presentados por el MHC sólo en el tejido canceroso requiere, además, el análisis tanto de muestras de tejido sano como de tejido canceroso. Es necesario recoger, preparar, medir y analizar los datos de las muestras de cáncer y de tejido, todo lo cual no es una simple experimentación rutinaria, y mucho menos un cribado.

Cuando se identifican péptidos que sólo se presentan en la superficie de células cancerosas, cabe señalar que existen un par de fuentes de error que pueden conducir a la identificación de resultados falsos positivos, por lo que se requieren cuidadosas adaptaciones individuales y la validación de los resultados obtenidos. Las fuentes de error incluyen contaminaciones y degradaciones durante la etapa de precipitación inmunitaria, arrastre en las columnas de cromatografía, truncamiento del péptido durante la manipulación, proteólisis durante la incubación debido a la presencia de proteasas contaminantes o fragmentación durante el análisis por espectrometría de masas.

Si bien las técnicas utilizadas para identificar péptidos presentados por MHC en la superficie de las células pueden ser generalmente conocidas, sus ajustes específicos, su combinación específica y su aplicación individual con respecto a todos y cada uno de los péptidos sobrepresentados individualmente identificados incluidos en la presente solicitud exceden con mucho lo que la persona medianamente versada en la materia en la materia consideraría experimentación rutinaria. Además, la mera observación de que la presente solicitud comprende un “gran” número de péptidos identificados tampoco indica que se hayan obtenido mediante experimentación rutinaria. Por el contrario, esto demuestra más bien el esfuerzo sustancial que el solicitante ha realizado para hacer avanzar los conocimientos en el presente campo.

Más en detalle, se requiere una intervención humana significativa para obtener resultados razonables debido a los diversos escollos inherentes al sistema, véanse más arriba los más destacados. Si la identificación de péptidos se llevara a cabo de forma automática o, al menos, basándose en algún tipo de rutina, no se eliminarían dichos escollos y los resultados obtenidos carecerían de sentido:

(a) El número de posibles ligandos del MHC es prácticamente infinito. En particular, hay aproximadamente 60 millones de péptidos teóricos de clase I codificados por el proteoma con una longitud de entre 8 y 12 aminoácidos. Esto aumenta drásticamente las posibilidades de descubrir falsamente péptidos HLA, y requiere una atención adicional a cada péptido potencial. Cuando se identifican péptidos para la terapia del cáncer, los péptidos potenciales no pueden reducirse simplemente a aquellos péptidos con una baja tasa de falsos descubrimientos, ya que esto limitaría la sensibilidad de identificación de péptidos verdaderos. Además, en otras aplicaciones, la coincidencia péptido-espectro mejor clasificada suele ser correcta a la hora de identificar un péptido. Sin embargo, esto no es necesariamente cierto en el caso de la inmunopeptidómica, que tiene un espacio de búsqueda mucho mayor que otras aplicaciones, lo que da lugar a más ambigüedades de masa. De ahí que el análisis de los datos obtenidos deba realizarse de forma más minuciosa que en otros ámbitos, lo que exige una atención humana minuciosa en cada caso.

(b) Un péptido encontrado puede en realidad no ser un verdadero ligando del MHC, ya que puede producirse fragmentación en la fuente. En particular, las técnicas de espectrometría de masas de ionización por *electrospray* pueden generar iones que podrían seleccionarse para la adquisición de espectros MS/MS que pueden confundirse con ligandos MHC. En particular, los fragmentos fuente C-terminales pueden identificarse erróneamente como ligandos del MHC. La eliminación de tales péptidos también requiere mucha atención y experiencia.

(c) Debido a la alta sensibilidad necesaria en la inmunopeptidómica, es necesario identificar las fuentes de arrastre específicas del sistema y de la aplicación y diseñar protocolos de limpieza, con el fin de evitar la contaminación de los resultados obtenidos por muestras anteriores, lo que puede dar lugar fácilmente a resultados falsos. Esta cuestión es muy específica del presente campo de investigación y requiere la identificación y aplicación de tales protocolos en la experimentación cotidiana.

(d) Los péptidos que de hecho no están relacionados con la presentación por el MHC pueden generarse como resultado de la escisión proteolítica por proteasas y peptidasas

endógenas. Estas enzimas proceden de la muestra analizada y se liberan durante la preparación de la muestra. Los enfoques para la detección de tales contaminaciones utilizan un análisis estadístico de la cobertura proteica como métrica para excluir las proteínas problemáticas. Esto requiere un análisis detallado de grandes conjuntos de datos y, de nuevo, una atención humana que va mucho más allá de cualquier experimentación rutinaria.

Todos estos aspectos deben considerarse conjuntamente a la hora de identificar los péptidos que se presentan en la superficie de determinadas células. En consecuencia, ni siquiera la identificación de un único péptido como ligando del HLA puede considerarse una experimentación rutinaria.

Además, después de identificar un péptido que se presenta en células cancerosas, es necesario evaluar si el péptido se presenta en células de tejido sano o no. Como se ha explicado anteriormente, ni siquiera el conocimiento de un péptido concreto que se está buscando puede ayudar a su identificación. En su lugar, en este caso se requiere un cribado cuidadoso de todos los péptidos identificados en tejido sano, con el objetivo de detectar la presencia de un péptido en particular. Debido a las fuentes de error inherentes a las técnicas utilizadas, esto hace que el análisis sea aún más complicado que la identificación de un péptido presente en tejido canceroso. Es decir, mientras que la identificación de los ligandos HLA podría restringirse en función de los datos a los resultados más fiables, ya que cualquier ligando HLA identificado podría ser útil, para la comparación de si un determinado péptido se presenta o no en tejido sano, no puede omitirse ningún dato. De este modo, se introduce un nivel adicional de complejidad en el método necesario para la identificación de péptidos adecuados para la terapia del cáncer, lo que complica aún más este aspecto de la identificación.

Por consiguiente, las técnicas requeridas no pueden llevarse a cabo como un trabajo rutinario, ni son un cribado.

También hay que tener en cuenta que el aislamiento de los péptidos que se presentan en la superficie de las células suele implicar el uso de la inmunoprecipitación. Durante la inmunoprecipitación del ligandoma del MHC I, las pérdidas pueden alcanzar hasta el 99%. Esto puede extraerse del artículo de Hassan *et al.*, 2014 (Anexo 4). Como se indica en el segundo párrafo de la columna izquierda de la página 2 del Anexo 4: *“La mayor incertidumbre en la cuantificación precisa del número de copias del ligando no es causada por el experimento final de espectrometría de masas, sino introducida por los rendimientos variables de los pasos de pretratamiento de la muestra, que además pueden ser dependientes*

del péptido” (Mi traducción). Posteriormente, los autores comprueban la recuperación de los péptidos presentados en la superficie celular por las moléculas MHC I tras la inmunoprecipitación. Como se informa al final del segundo párrafo de la columna de la izquierda en la página 4 del documento, los autores descubrieron que “*se producen pérdidas bastante extremas, es decir, del 90 al 99%, durante el paso de inmunopurificación*” (Mi traducción).

Además, los péptidos que se unen a las moléculas del MHC no suelen proceder de un proceso que tenga un patrón característico de hidrólisis. Como resultado, a diferencia de los péptidos trípticos, puede no haber lisina o arginina en el extremo C-terminal de dichos péptidos. Esto aumenta la señal de la llamada “*serie de iones y*” en la identificación peptídica por espectrometría de masas, lo que significa que el inmunopeptidoma tiene un espectro de fragmentación menos definido. En consecuencia, los péptidos respectivos tienen menos posibilidades de ser identificados. Además, como no puede haber restricción enzimática en las búsquedas, los ligandos del MHC tienen una baja confianza en las puntuaciones de coincidencia del espectro peptídico, al contrario que los péptidos trípticos. Todos estos factores aumentan el riesgo de que se pasen por alto los péptidos de unión al MHC.

También por estas razones, la materia reclamada en las Reivindicaciones 10 y 11 tiene nivel inventivo.

iii) En cuanto a la nueva Reivindicación 12 (antigua Reivindicación 11), cabe destacar que esta se encuentra dirigida a un método *in vitro* para destruir células cancerosas que presentan un péptido que consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 36. En el método, la línea celular de linfocitos T activados de la nueva Reivindicación 11 (antigua Reivindicación 9), se pone en contacto con células cancerosas.

Como se ha explicado anteriormente, esta línea celular de linfocitos T activados implica actividad inventiva. Por lo tanto, el método de la Reivindicación 12 también reviste de nivel inventivo.

iv) En lo que respecta a las nuevas Reivindicaciones 16 a 23 y 26 a 35, éstas definen composiciones farmacéuticas y kits. Si bien D1 también puede divulgar composiciones y kits farmacéuticos, divulga péptidos completamente diferentes. Como se ha explicado anteriormente y en respuestas anteriores, cabe esperar que la diferencia C-terminal entre el péptido APAAWLRSAA y el péptido APAAWLRSA sea tan sustancial en

términos de perfil de unión y presentación del MHC I, que no es posible realizar ninguna comparación.

Para que la persona medianamente versada en la materia pueda contemplar la posibilidad de generar una composición farmacéutica o un kit, es necesario establecer que los posibles principios activos son eficaces en un contexto médico. Como se ha explicado anteriormente, la presentación del péptido de SEQ ID NO: 36 sólo en determinadas células cancerosas, pero no en tejido sano, no podría haberse previsto. El hallazgo por parte del solicitante de que el péptido de SEQ ID NO: 36 se presenta selectivamente en células cancerosas estableció que el péptido, y por tanto también los anticuerpos, TCRs, células, ácidos nucleicos, etc. que reconocen, expresan, etc. el péptido, son adecuados en el contexto médico.

Por lo tanto, el objeto de las Reivindicaciones 16 a 23 y 26 a 35, implica nivel inventivo por las mismas razones explicadas anteriormente.

v) En el método de la nueva Reivindicación 24 (antigua Reivindicación 19), se añade un anticuerpo o receptor de linfocitos T marcado a una muestra de tejido, cuyo anticuerpo o receptor de linfocitos T reconoce específicamente el péptido de SEQ ID NO: 36. De este modo se detecta la presentación del péptido de SEQ ID NO: 36, de modo que se puede diagnosticar el cáncer.

D1 revela la detección de péptidos completamente diferentes. Como se ha explicado anteriormente, a partir de D2 no se podría haber predicho la presentación de un péptido consistente en la secuencia de SEQ ID NO: 36 sólo en células cancerosas. Una vez más hay que destacar que el efecto técnico de la presentación selectiva en células cancerosas, pero no en células sanas, no tiene por qué implicar una ventaja.

Así pues, el método de la Reivindicación 24 implica nivel inventivo por las mismas razones expuestas anteriormente.

vi) La nueva Reivindicación 36 (antigua Reivindicación 23) define un método para producir un producto farmacéutico anticancerígeno personalizado, a saber, una vacuna anticancerígena o un agente terapéutico celular y/o basado en compuestos. El producto farmacéutico contiene el péptido de SEQ ID NO: 36. En el método se evalúa si el péptido de SEQ ID NO: 36 se encuentra tanto en un almacén de péptidos que han sido preseleccionados para inmunogenicidad y/o sobrerepresentación en tumores en comparación

con tejidos normales como en una muestra tumoral de un individuo. Si es así, se produce/fabrica un producto farmacéutico personalizado basado en el péptido seleccionado.

El efecto técnico es de nuevo que se puede fabricar un producto farmacéutico anticancerígeno personalizado eficaz que contenga el péptido de SEQ ID NO: 36.

Como se muestra en la presentación sólo en ciertos tipos de cáncer, pero no en tejidos sanos, el péptido de SEQ ID NO: 36 se puede utilizar para producir un producto farmacéutico que sea eficaz contra el cáncer.

D1, que se ha tomado para definir el arte previo más cercano, divulga el péptido APAAWLRSAA, que difiere del péptido reivindicado APAAWLRSA en un aminoácido adicional. Como ya se ha explicado anteriormente, esta diferencia es una diferencia sustancial, tanto en términos de unión al MHC I como de presentación potencial en la superficie de las células.

El Anexo 3 muestra que la unión de un péptido al surco de unión de una molécula MHC se ve gravemente afectada por la presencia o ausencia de un aminoácido adicional en el extremo N o C del péptido. Al final del Anexo 3, se hace referencia al conocimiento general común de la persona medianamente versada en la materia sobre la unión al MHC, incluida la ranura de unión del MHC. El conocimiento general que tendría la persona medianamente versada en la materia puede tomarse del libro de texto del Anexo 1. La Figura 34.27 en la página 997 de dicho anexo muestra esquemáticamente el surco de unión del MHC. La leyenda de la Figura 34.27 explica que un péptido que se une en el surco de unión está rodeado en tres lados por una lámina b y dos hélices a. En consecuencia, el péptido es en gran medida un péptido de unión. Por tanto, el péptido está rodeado en gran medida por residuos de la molécula del MHC. Un papel importante con respecto a la unión del péptido al MHC juega el aminoácido en el C-terminal de un péptido unido, como se muestra en la Figura 34.28 en la misma página del libro de texto y el texto por encima de esta figura. El aminoácido en el C-terminal de un péptido es típicamente un residuo de anclaje y por lo tanto decide sobre la unión del péptido al MHC. Por lo tanto, una adición o eliminación en esta posición conduce a resultados impredecibles.

Los datos generados por el solicitante y presentados anteriormente muestran, además, que la presencia de un aminoácido adicional en el extremo C-terminal de un péptido puede dar lugar a un perfil de presentación completamente distinto. Así pues, las consecuencias de un aminoácido adicional en el extremo C de un péptido no son predecibles.

Basándose en la divulgación de D1, no se puede prever si un péptido diferente, incluido el péptido APAAWLRSA, se presentará en células sanas o no, aunque se conozca la existencia de un determinado péptido capaz de unirse al MHC. Así pues, el efecto técnico se basa de nuevo en la presentación del péptido únicamente en las células cancerosas.

El Despacho no explica por qué se esperaría (e incluso podría esperarse) que el péptido de SEQ ID NO: 36 estuviera sobrepresentado en ciertos tipos de cáncer.

D2 divulga la secuencia de SEQ ID NO: 36 dentro de una lista de un total de 1318 secuencias. D2 en la página 103 de los datos suplementarios de D2. Como se ha explicado anteriormente, D2 enseña que hay 375 “*péptidos únicos*” dentro de esta lista, y que se seleccionaron unos pocos péptidos para la generación de una vacuna peptídica. La Tabla 1 de la página 851 de D2 muestra estos últimos péptidos. Estos péptidos difieren del péptido de SEQ ID NO: 36. Por lo tanto, D2 enseña a no seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36.

D2 también carece de información sobre qué péptidos se encuentran en el tejido sano. Sólo si un péptido no se encuentra en el tejido sano.

La Figura 1 del Anexo 1 muestra que el péptido de SEQ ID NO: 36 se encuentra en células de al menos cáncer de mama (BRCA), cáncer colorrectal (CRC), carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) y cáncer de ovario (OC). La figura también muestra que el péptido de SEQ ID NO: 36 no se presenta en células sanas.

Si un péptido sólo se presenta en una célula cancerosa, pero no en células sanas, se trata de un péptido de unión al MHC al que el sistema inmune nunca ha estado expuesto previamente. Por tanto, el péptido es altamente inmunogénico.

Si el péptido se presentara también en células sanas, sería reconocido como “*propio*”. Como se explica en la página 1004 del Anexo 2., los precursores de linfocitos T se someten a una selección positiva y negativa en el timo, a la que no sobrevive aproximadamente el 98% de los precursores. A los linfocitos T portadores de TCR específicos para péptidos que no se presentan en células sanas se les permite madurar, mientras que los linfocitos T portadores de TCR para autoantígenos son eliminados. Como resultado, no hay respuesta inmune contra los autoantígenos.

La conclusión de que el péptido de SEQ ID NO: 36 es tratado por el sistema inmune como “*no propio*”, queda confirmada por los datos de la Tabla 11B y la Figura 3 adicional. Éstos muestran que el péptido de SEQ ID NO: 36 es capaz de estimular linfocitos T, por lo que existen linfocitos T específicas para el péptido de SEQ ID NO: 36.

Por lo tanto, no había ninguna razón para que la persona medianamente versada en la materia contemplara una selección del péptido de SEQ ID NO: 36. Tampoco se podría haber predicho que el péptido de SEQ ID NO: 36 podría ser adecuado para la fabricación de una vacuna personalizada contra el cáncer o un agente terapéutico basado en compuestos y/o celular para un individuo específico. Así las cosas, el método de la Reivindicación 36 tiene nivel inventivo.

vii) La nueva Reivindicación 14 (antigua Reivindicación 13) define un anticuerpo recombinante que reconoce específicamente un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36, o el péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36 cuando está en un complejo con una molécula MHC.

La nueva Reivindicación 15 (antigua Reivindicación 14) define un TCR soluble que es reactivo con un ligando HLA, y que por tanto reconoce un péptido cuando se une al MHC. El péptido consiste en la secuencia de aminoácidos según SEQ ID NO: 36.

El Despacho indica que D1 proporciona un anticuerpo que se une específicamente a un complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) humano de clase I o II que forma un complejo con un antígeno restringido por HLA. Esto es técnicamente incorrecto. D1 divulga anticuerpos que se unen específicamente a péptidos y anticuerpos que se unen específicamente a péptidos cuando se unen a una molécula MHC.

El Despacho considera que la combinación de enseñanzas de D1 y D2 hace que el objeto de las Reivindicaciones 14 y 15 sea evidente. Sin embargo, el Despacho no explica por qué la combinación de D1, que divulga un péptido que difiere del péptido de SEQ ID NO: 36, y D2, que enseña a no seleccionar el péptido de SEQ ID NO: 36, podría motivar al experto a generar un anticuerpo o TCR dirigido contra el péptido de SEQ ID NO: 36 o el péptido de SEQ ID NO: 36 en un complejo con MHC.

Como se ha explicado anteriormente, de la divulgación del péptido APAAWLRSAA en D1 no se puede extraer ninguna conclusión con respecto a otros péptidos. Esto incluye el péptido APAAWLRSA, incluso si hubiera alguna razón para que la persona medianamente versada

en la materia contemplara la selección de este péptido. Sin embargo, como D2 no enseña tal selección, no existe tal razón para la persona medianamente versada en la materia.

Lo que podría ser una motivación sería la falta de presentación de un péptido en tejido sano, y la presentación selectiva del péptido en cierto tejido canceroso. Sin embargo, ni D1 ni D2 proporcionan tal motivación. Como se ha explicado anteriormente, sólo el solicitante descubrió que la diana de unión del anticuerpo y el TCR, el péptido de SEQ ID NO: 36, se presenta selectivamente en determinadas células cancerosas y que los linfocitos T que reconocen este péptido existen y pueden estimularse utilizando el péptido. Este hallazgo no podría haberse previsto. Ninguno de los documentos citados proporciona ninguna sugerencia a este respecto.

Por lo tanto, la materia reclamada en las Reivindicaciones 14 y 15 implica nivel inventivo por las mismas razones explicadas anteriormente.

5. Finalmente, si el Despacho lo considera necesario solicito se realice un examen adicional, para lo cual anexo el recibo de pago correspondiente. De otro modo, 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 Reivindicatório Modificado;
- Anexo 1 - Datos experimentales adicionales (SEQ ID NO: 36);
- Anexo 2 - Berg, *et al*;
- Anexo 3 - Garstka, *et al*;
- Anexo 4 - Hassan, *et al*;
- Pago por modificaciones a las reivindicaciones;
- Pago por 13 reivindicaciones adicionales;
- Pago por examen adicional.