

Doctora:
EDNA MARCELA RAMÍREZ
Directora de Nuevas Creaciones
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

REFERENCIA: Expediente NC2020/0015243 PATENTE PCT
NÚMERO DE SOLICITUD INTERNACIONAL: PCT/CL2019/050040
PRIORIDAD: CL 1347-2018 18 de mayo de 2018.

ASUNTO: Respuesta a Requerimiento Artículo 45.

**“HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE BOVINA RECOMBINANTE, COMPOSICIÓN QUE LA
COMPRENDE Y MÉTODO PARA INDUCIR SUPEROVULACIÓN Y SINCRONIZACIÓN DEL
CELO EN BOVINOS UTILIZANDO DICHA HORMONA”**

FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO, identificado como aparece al pie de mi firma, abogado en ejercicio, portador de la Tarjeta Profesional No. 140.243 expedida por el Consejo Superior de la Judicatura, actuando en nombre y representación de CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOMEDICINA Spa. (CBB) y FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ - UNIVERSIDAD DE FORTALEZA, solicitantes de la patente de invención radicada en el Expediente de la referencia, procedo a dar respuesta al Oficio No. 4071 de 15 de marzo de 2023 en los términos que se exponen a continuación:

1. Título.

De acuerdo con lo señalado en el Oficio de requerimiento N° 4071 de 15 de marzo de 2023, se acepta el título propuesto y se presenta a consideración del Despacho el siguiente título, el cual, refleja en mejor medida el objeto divulgado en la descripción y las reivindicaciones:

“HORMONA FOLÍCULO ESTIMULANTE BOVINA RECOMBINANTE (RFSH) DE CADENA SIMPLE Y UNA COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA QUE LA COMPRENDE”.

2. Reivindicaciones.

Se presenta a consideración un nuevo capítulo reivindicatorio en el cual, se han realizado las siguientes modificaciones, de acuerdo con lo señalado en el Oficio de requerimiento:

1. Se eliminaron las referencias a porcentajes de identidad de las secuencias reivindicadas.
2. Con respecto a los sitios de N-glicosilación en la reivindicación 9, Se eliminó el término “al menos”, dejando definido que son 2 sitios.
3. Se reemplazó el término “simple cadena” por “cadena simple”, de conformidad con lo sugerido por el Examinador.
4. Se eliminaron las reivindicaciones 21 a 24 originalmente presentadas.

En cuanto a la objeción planteada por el respetado Examinador, según la cual, *“El capítulo reivindicatorio no es conciso debido a que comprende múltiples reivindicaciones independientes (reivindicaciones 1, 5, 7, 9 y 13) que reclaman una secuencia polinucleotídica sintética que codifica una hormona folículo estimulante bovina recombinante (rFSH), un vector de expresión que codifica dicha secuencia polinucleotídica, una célula transducida que comprende el vector y expresa la rFSH, una secuencia polipeptídica sintética de la rFSH bovina y un método para obtener la rFSH. Se sugiere a los solicitantes revisar las relaciones entre las reivindicaciones y ajustar la dependencia de las mismas, teniendo en cuenta que solo debe existir una reivindicación independiente por categoría inventiva y las demás modalidades deben presentarse como reivindicaciones dependientes.”*, de manera respetuosa, las entidades solicitantes discrepan de dicha aseveración, teniendo en consideración que, de acuerdo con lo dispuesto por el Documento GUÍA PARA EXAMEN DE SOLICITUDES DE PATENTE DE INVENCION Y MODELO DE UTILIDAD, en relación con las Reivindicaciones Independientes, se establece que:

“(…) La solicitud puede contener más de una reivindicación independiente, de producto o de proceso, aunque la mayor parte de las veces es más claro si hay una sola reivindicación independiente de producto y una sola reivindicación independiente de proceso.”.

En este sentido, bajo el entendido que en el área de la técnica de la Biotecnología, un único concepto inventivo, tal como en el presente caso que se trata de un nuevo gen sintético, puede conllevar a la generación de más de un producto protegible por patente, con valor comercial independiente uno de otro (nótese que son diferentes productos biotecnológicos los que se reivindican y no modalidades preferidas de dicha invención), las entidades solicitantes consideran que el capítulo reivindicatorio que se anexa a la presente respuesta, en efecto, cumple con el requisito de concisión.

Al respecto, de manera respetuosa se solicita al Despacho tener en cuenta que, dado el campo técnico de la invención, nada obsta para que en el presente caso las entidades solicitantes pretendan obtener derechos particulares mediante reivindicaciones independientes para cada uno de los productos comprendidos dentro de un mismo concepto inventivo, permitiendo la adecuada explotación comercial de estos.

En este mismo sentido, con la modificación al capítulo reivindicatorio que se anexa a la presente respuesta, las entidades solicitante consideran que se supera la observación planteada en el oficio, según la cual, *“el capítulo descriptivo no divulga de manera suficiente cualquier variante de un primer y segundo polinucleótido que codifica la subunidad beta y alfa de la FSH de Bos taurus, y un tercer polinucleótido que enlaza dichos primer y segundo polinucleótidos, el cual codifica una secuencia espaciadora derivada de la keratina 10 humana, donde dichos fragmentos comprenden “al menos 85% de identidad” con las secuencias polinucleotídicas de las SEQ ID No. 1, 2 y 3. Asimismo, la descripción tampoco divulga de manera suficiente cualquier variante de un polipéptido que comprenda “al menos 85% de identidad” con las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID No. 5, 6 y 7.”*.

A su vez, se observa que la modificación al capítulo reivindicatorio se encuentra completamente sustentada en el contenido de la solicitud original, cumpliéndose de esta forma con las disposiciones establecidas por el artículo 34 de la Decisión Andina 486 de 2000.

3. Del Examen de Patentabilidad.

El despacho consideró a los siguientes documentos como relevantes a efectos de la afectación de los requisitos de patentabilidad de la solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	EP2732824	“Compositions and methods for increasing reproduction performance in non human mammals using alpha-beta-linked follicle stimulating hormone”	21 de mayo de 2014
D2	WO2009073574	“Activity of recombinant equine follicle stimulating hormone”	11 de junio de 2009

En relación con la afectación a los requisitos de patentabilidad expuesta en el oficio de requerimiento, presentamos a consideración del despacho los siguientes argumentos:

Análisis de Novedad.

El respetado Examinador considera a los documentos D1 y D2 como relacionados con la invención. Como resultado del análisis de novedad, se arriba a la conclusión de que la solicitud no es novedosa debido a que tendría un 99,22%, 100% y 100% de identidad con las SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, y SEQ ID NO: 7 respectivamente.

No obstante, resulta de gran relevancia precisar que en el alineamiento realizado por el Examinador del que se calculan estos porcentajes, solo para SEQ ID NO: 5 se compara la totalidad de aminoácidos de la secuencia. De este modo y, teniendo en cuenta que en el nuevo Capítulo Reivindicatorio que se acompaña a este escrito se reivindican las secuencias tal como son, no existiría un porcentaje de identidad del 100% con la totalidad de ninguna de las secuencias de la presente solicitud.

En este contexto, al existir diferencias de secuencia entre D1 (EP2732824) y la presente solicitud, queda en evidencia que se cumple con el requisito de novedad, en cuanto no estarían divulgadas tal como son las secuencias de la reivindicación 9. En consecuencia, las reivindicaciones dependientes 20 a 24 también serían novedosas.

Análisis de Nivel inventivo

El respetado Examinador analiza el nivel inventivo de la solicitud, estableciendo que el documento D1, esto es, el documento considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención, anticipa un péptido para enlazar las cadenas alfa y beta de FSH que, en su criterio, es similar al reivindicado.

En este análisis, el Examinador también menciona el documento D2 (WO2009073574), en el cual, se divulga: *“metodologías para la obtención de una hormona folículo estimulante recombinante de cadena simple, mediante técnicas de ADN recombinante, donde la secuencia de nucleótidos que codifica la subunidad alfa se inserta en marco en el extremo 3' de la subunidad beta de la hormona folículo estimulante equina (eFSH) empleando mutagénesis por PCR de extensión solapada. El péptido carboxilo terminal que lleva los oligosacáridos con O-ligandos se emplean como enlazador con las subunidades dispuestas en tándem, de modo que la subunidad beta es N-terminal con respecto a la subunidad alfa. El constructo de cadena sencilla se inserta en un vector y se transfecta en células de ovario de hámster chino (CHO), dando como resultado un polipéptido eFSH de cadena sencilla, que se aísla y purifica”*.

De acuerdo con lo anterior, el examinador arriba a la conclusión, según la cual, una persona normalmente versada en la materia, seguiría las metodologías divulgadas en D2, para obtener una FSH recombinante como la divulgada en D1, para así llegar al objeto de la presente invención.

En este contexto, resulta pertinente anotar que ninguno de los documentos citados en el oficio objeto de la presente respuesta anticipa o sugiere un péptido enlazador o *linker* que se deriva de

la keratina 10 humana, para expresar, por vía recombinante, una FSH bovina sintética como la reivindicada en la presente invención.

En efecto, el diseño del mencionado enlazador conllevó, en consecuencia, un esfuerzo inventivo propio que no puede considerarse obvio a partir de lo divulgado previamente, evidenciando ciertas ventajas sorprendentes sobre lo anticipado, como se explicará a continuación.

En primer término, se observa que la presente solicitud de patente persigue proteger una variante de simple cadena de FSH bovina (scbFSH). De N a C-terminal, la scbFSH objeto de la presente invención, consta de las siguientes secuencias: (i) la subunidad beta de FSH de *Bos taurus*, una secuencia con su péptido señal endógeno, (ii) un péptido *linker* de 33 aminoácidos derivado de la keratina 10 humana, y (iii) la subunidad alfa de FSH de *Bos taurus*.

A continuación, se muestra una representación de la secuencia de scbFSH:

MKSVQFCFLFCCWRAICCRSCELTNITITVEKEECGFCISINTTWCAGYCYTRDLVYRDPARPNIQKT
CTFKELVYETVKVPGCAHHADSLYTYPVATECHCGKCDSDSTDCTVRGLGPSYCSFREIKEGSSGGG
GNGSGGGSSGGSSSGNGSGGGSSSGFPDGEFTMQGCPECKLKENKYFSKPDAPIYQCMGCC
FSRAYPTPARSKKTMVLPKNITSEATCCVAKAFTKATVMGNVRVENHTEHCSTCYHKSGGGHH
HHHH.

Secuencias dentro de la molécula

En color rojo: Cadena beta

En color verde: Péptido *linker* de keratina 10 humana (*incluyendo mutaciones para N-glicosilación*)

En color azul: Cadena alfa

En color café: Tag de histidinas

Sombreado en amarillo: Péptido señal endógena de la cadena beta.

Sombreado en gris claro: Secuencias potenciales de N-glicosilación endógena.

Sombreado en gris oscuro: Secuencias Potenciales de N-glicosilación incorporadas.

Un elemento novedoso y no obvio en esta molécula es el uso del péptido *linker* o enlazador derivado de keratina 10 humana. Este péptido deriva de la región comprendida entre los aminoácidos 533 y 565 de keratina 10 humana (UniProtKB P13645).

A continuación, se muestra la comparación entre la región 533 y 565 de keratina 10 humana, y el péptido *linker* final usado en la molécula scbFSH.

Secuencia ketarina 10 humana nativa	GSSGGGGGGYGGGSSGGGSSSGGGYGGGSSSGG
Secuencia de keratina 10 humana modificada para incorporar sitios de N-glicosilación.	GSSGGGGN ¹ GS ² GGGSSGGGSSSGN ³ GS ⁴ GGGSSSGG

El alineamiento de homología permite observar 4 cambios puntuales de aminoácidos que se hicieron en el péptido linker, a fin de generar dos sitios potenciales de N-glicosilación (encerrados en cuadros rojos). Considerando que cada cadena oligosacáridica N-enlazada aporta un peso molecular de entre 3,5 y 5 kDa, entonces, la inclusión de estos dos sitios potenciales de N-glicosilación dentro del péptido linker permiten incrementar en 7 a 10 kDa adicionales el peso molecular de la scbFSH expresada.

Nótese que, a diferencia de la técnica anterior, los sitios adicionales de N-glicosilación no han sido incorporados dentro de las cadenas alfa o beta de la FSH, si no que pasaron fuera de ambos dominios. Este es un elemento relevante, pues con estos sitios adicionales de N-glicosilación en el linker utilizado, no solo se incrementa el tamaño y tiempo de vida media en circulación de la molécula scbFSH, sino que, además, de ninguna manera se afecta la integridad o adecuado plegamiento de las subunidades alfa y beta.

De esta forma, en la molécula scbFSH, el péptido linker derivado de keratina 10 humana permite:

- I. Unir covalentemente las subunidades alfa y beta de la FSH bovina, incrementado así la estabilidad final de la molécula, pues resulta imposible la disociación de las dos subunidades.
- II. Dar suficiente libertad estérica a ambas subunidades. Esto, debido al gran tamaño (33 aa) del péptido linker.
- III. Incrementar el tamaño y tiempo de vida media en circulación ($t_{1/2}$) de la molécula final, lo que permite reducir a la mitad el número de aplicaciones de FSH, en los ensayos de superovulación. Un protocolo normal de superovulación en bovinos implica la administración de 8 dosis de FSH administradas cada 12 horas. Por su tiempo de vida media en circulación, la molécula scbFSH de la presente invención, rinde resultados

similares cuando se administran 4 dosis cada 24 horas, es decir se reduce a la mitad la dosificación necesaria para lograr el resultado deseado.

En consecuencia, resulta dable concluir que la incorporación de dos sitios adicionales de N-glicosilación en la molécula propuesta en la solicitud no es obvia, ni puede ser deducida de los documentos D1 o D2.

En efecto, como fue mencionado anteriormente, los N-glicanos adicionales se incorporaron con el propósito de incrementar en aproximadamente 10 kDa en el tamaño de la molécula.

Este incremento en el tamaño de la FSH permite reducir la tasa de filtración en los riñones incrementando su $t_{1/2}$. Desde el punto de vista práctico, este incremento en $t_{1/2}$ permite reducir a la mitad, el número de dosis que deben ser administradas de esta hormona en un ensayo de superovulación. En consecuencia, este cambio en la molécula implica menos trabajo para el operario que la usa, menos consumos de jeringas y materiales para su administración, y menos estrés para los animales que serán sometidos al proceso de superovulación.

Ahora bien, el hecho de que la incorporación de los sitios de N-glicosilación sea dentro del péptido linker (derivado de keratina 10 humana), tampoco es obvia, ni puede ser deducida de los documentos del estado del arte. En este punto, resulta importante considerar que las cadenas oligosacáridicas N-enlazadas, pueden tener un tamaño relativamente grande (hasta 5 kDa cada una). Estas estructuras, considerablemente grandes (unos 10 kDa en total), si se ubican en cualquier posición de la molécula, podrían interferir con la unión entre la hormona FSH y su receptor debido a un impedimento estérico. Para evitar esto, fue necesario realizar un estudio bioinformático previo que permitiese establecer las regiones precisas donde deberían incorporarse estos sitios de N-glicosilación, a fin de evitar su interferencia en la interacción de hormona-receptor. Como se mencionó anteriormente, estas definiciones dan lugar **a una molécula nueva**, diferente de las descritas en el estado del arte, y que incluye modificaciones que, por una parte, no son obvias o deducibles desde los documentos citados por el Examinador y, por otra parte, garantizaron que la molécula que se obtuviera no solo fuera activa biológicamente, sino que su estructura le permitiera la funcionalidad necesaria, y además, **de manera inesperada**, le proveyera **ventajas técnicas** sobre las propuestas realizadas por la técnica anterior.

En resumen, el péptido enlazador empleado en la presente solicitud, no solo **no se había empleado nunca** en el estado del arte con este fin, sino que además, se le introdujeron **modificaciones** que no pueden considerarse en la experimentación de rutina, sino **como el resultado de un esfuerzo inventivo propio** de las solicitantes.

El diseño de la **molécula sintética** incluyó, por lo tanto, **optimización de codones, péptidos ricos en glicina y serina** y, adicionalmente, **dos sitios adicionales de N-glicosilación en posiciones específicas** de la molécula humana nativa, combinación de características técnicas que ni se anticipan ni se sugieren en los documentos citados por el Examinador.

Más aún, **esta combinación de características técnicas provoca mejoras considerables en la aplicación práctica del péptido reivindicado** como se ha argumentado aquí y demostrado por las solicitantes en la solicitud como se presentó originalmente, las cuales se han pasado por alto en el análisis de la presente acción oficial, lo que evidencia un uso indebido de la retrospectiva en el análisis de patentabilidad de la presente invención.

Respetuosamente consideramos que las reivindicaciones de la solicitud involucran un paso inventivo, y por lo tanto tienen mérito suficiente para adquirir el derecho solicitado.

En virtud de lo anteriormente expuesto, consideramos que con la modificación que se presenta al capítulo reivindicatorio, las objeciones expuestas en el examen de fondo han sido resueltas. Por consiguiente, solicito respetuosamente que el Despacho tenga por cumplidos los requisitos de patentabilidad de la totalidad de las reivindicaciones presentadas en el Expediente.

4. Anexos.

- i) Copia del nuevo capítulo reivindicatorio compuesto por veinte (20) cláusulas que reemplaza el anteriormente presentado.
- ii) Comprobante de pago de la tasa de modificación.

5. Petición.

En virtud de lo anteriormente expuesto, ruego a usted proceder a estudiar los documentos allegados al presente escrito y, en consecuencia, conceder el título de patente a la invención tramitada bajo el Expediente de la Referencia.

Atentamente,



FELIPE EDUARDO FIGUEROA CARDOZO

C.C. 16.940.582

T.P. 140243 C.S. de la J.