

REPÚBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

Señores
UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS

TÍTULO DE LA SOLICITUD: “PLATAFORMAS DE ENTREGA DE ARN DE GUÍA ÚNICA CRISPR TRUNCADO”

NÚMERO DE SOLICITUD INTERNACIONAL: PCT/US2018/060126

FECHA DE PRESENTACIÓN INTERNACIONAL: 9 de noviembre de 2018.

PRIORIDAD: US 62/596,375 8 de diciembre de 2017.

US 62/584,310 de 10 de noviembre de 2017.

US 62/667,084 de 4 de mayo de 2018.

Como resultado del examen de patentabilidad realizado a la solicitud indicada en la referencia, atendiendo a lo consagrado en el artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le comunica que esta Dirección ha encontrado que la materia objeto de solicitud no cumple con algunos requisitos establecidos en la Decisión, con fundamento en los siguientes aspectos:

1. Modificaciones presentadas

Revisada la modificación a la solicitud objeto de estudio, la cual fue radicada el 24 de agosto de 2023 bajo el número NC2020/0007046, y teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 34 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, esta oficina acepta las modificaciones presentadas por ajustarse a los requisitos legales.

2. Objeto de la invención

El problema planteado consiste en la necesidad de proporcionar secuencias mejoradas de Cas9s y sgARN que puedan proporcionar una edición específica y precisa de una gama más amplia de sitios objetivo, especialmente cuando se combinan con plataformas confiables de entrega de ácido nucleico.

Para resolver dicho problema técnico, la solicitud en estudio plantea una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una región truncada de repetición:anti-repetición y una región truncada de vástago 2.

3. Reivindicaciones estudiadas

El presente estudio se basa en el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo N° NC2020/0007046 presentado el 24 de agosto de 2023.

4. De la solicitud de patente

4.1. Reivindicaciones

Teniendo en cuenta lo establecido en el artículo 30 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina:

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

"Las reivindicaciones definirán la materia que se desea proteger mediante la patente. Deben ser claras y concisas y estar enteramente sustentadas por la descripción. (...)"

Esta oficina informa que,

La reivindicación 1 no es clara porque menciona *"una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende una región truncada de repetición:anti-repetición y una región truncada de vástago 2"*, pero no menciona todas las características técnicas esenciales del sgARN que se reclama como cuál es la longitud del mismo, cuál es la SEQ ID NO: del mismo, cuáles son las posiciones que se truncan en la región repetición:anti-repetición y del vástago 2, ni cuántos nucleótidos son truncados. Adicionalmente, tal como se encuentra redactada la reivindicación, incluiría secuencias de sgARN con truncamientos de cualquier longitud que incluso resultarían en moléculas no funcionales. Se le recuerda al solicitante que la reivindicación independiente debe incluir todas las características técnicas esenciales de la invención, por esto se sugiere mencionar la longitud del sgARN, la SEQ ID NO: del mismo, las posiciones que se truncan en la región repetición:anti-repetición y del vástago 2 y cuántos nucleótidos se truncan, en concordancia con lo divulgado en la descripción.

Las reivindicaciones 2 y 11 no son claras porque mencionan *"La secuencia sgARN de la Reivindicación 1, que comprende además una región espaciadora truncada"*, pero no mencionan cuál es la región espaciadora truncada ni su SEQ ID NO:, ni donde está truncada y el número de nucleótidos truncados. Se sugiere mencionar cuál es la región espaciadora, la SEQ ID NO: respectiva y los nucleótidos donde se encuentra truncada la misma, en concordancia con lo divulgado en el capítulo descriptivo.

Las reivindicaciones 2 y 3 comprenden características técnicas esenciales del sgARN que deberían ser incluidas en la reivindicación independiente. Se sugiere incluir las características técnicas esenciales del sgARN en la reivindicación independiente.

La reivindicación 4 no es clara porque menciona *"Una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) Cas9 que comprende una región truncada de repetición:anti-repetición y una región de vástago 2 truncada"*, pero no menciona cuál es la SEQ ID NO: del sgARN, cuáles son las posiciones que se truncan en la región repetición:anti-repetición y del vástago 2, ni cuántos nucleótidos son truncados en cada región. Además, el reclamar un sgARN de 145 nt no es coherente con lo mencionado en la reivindicación, ya que incluiría el sgARN sin truncamientos.

Las reivindicaciones 1 y 4 no son concisas porque reclaman la misma materia, se sugiere dejar una sola de las dos donde se incluyan todas las características técnicas esenciales del sgARN reclamado.

La reivindicación 5 no es clara porque menciona *"Un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende una región truncada de repetición: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada"*, pero no menciona cuál es la secuencia sgARN reclamada, cuál es la posición de la región truncada, ni cuántos nucleótidos son truncados, de esta forma, no se mencionan todas las características técnicas esenciales de la invención, lo cual impide distinguir la invención del estado de la técnica. Adicionalmente, tal como se encuentra redactada la reivindicación, incluiría secuencias de sgARN con truncamientos de cualquier longitud que incluso resultarían en moléculas no funcionales. Se le recuerda al solicitante que la reivindicación independiente debe incluir todas las características técnicas esenciales de la invención, por esto se sugiere mencionar la SEQ ID NO: del sgARN de secuencia única reclamada, la repetición truncada de vástago 2, la región de

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

anti-repetición, la posición o secuencia donde se encuentra truncado el ácido ribonucleico de acuerdo con lo divulgado en la descripción.

Las reivindicaciones 1, 4 y 5 no son claras porque mencionan “una región truncada de repetición: región anti-repetición” cuando debería ser “una región truncada de repetición: anti-repetición”, se sugiere realizar las correcciones respectivas.

Las reivindicaciones 11 y 12 comprenden características técnicas esenciales del sgARN del vector que deberían ser incluidas en la reivindicación independiente. Se sugiere incluir las características técnicas esenciales del sgARN en la reivindicación independiente 5.

Esta oficina informa que, el capítulo reivindicatorio no es claro, toda vez que los elementos esenciales de la invención, que deberían ser parte de la reivindicación principal, se encuentran distribuidos en diferentes reivindicaciones. De acuerdo con lo anterior, se sugiere replantear el capítulo reivindicatorio, de manera que la reivindicación independiente incluya todas las características esenciales de la invención que se desea proteger.

En consecuencia, es necesario que allegue las aclaraciones o modificaciones correspondientes para dar cumplimiento a lo establecido en el citado artículo.

4.2. Descripción

Revisado el capítulo descriptivo de la solicitud, este no divulga la invención de manera suficientemente clara y completa, para que una persona capacitada en la materia pueda ejecutarla, incumpliendo de esta forma lo establecido en el artículo 28 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina.

Lo anterior porque, se reclama una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende “cualquier” truncamiento en la región de repetición:anti-repetición y “cualquier” truncamiento en la región de vástago 2, pero no hay evidencia de que incluir un truncamiento de longitud indeterminada en dichas regiones permite obtener un sgARN funcional. Únicamente se evidencia una actividad de edición para ciertos constructos (ej. Constructos #11 y #13).

5. Determinación del Estado de la Técnica

La fecha para determinar el estado de la técnica es el 10 de noviembre de 2017, que corresponde a la fecha de presentación de la solicitud de prioridad.

Consultadas las fuentes de información con que se cuenta, se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de publicación
D1	US20160177278A1	“Cas9-DNA Targeting Unit Chimeras”	23 de junio de 2016
D2	Zhang, Y., et al. <i>Molecular cell</i> ,	“DNase H Activity of <i>Neisseria meningitidis</i> Cas9”	15 de octubre de 2015

D1¹ divulga una plataforma Cas9 derivada de *Neisseria meningitidis* para facilitar la precisión de edición de genes de nucleasa de sitio único dentro de un genoma humano, donde el sistema Cas9 comprende un sgARN de guía única que comprende una

¹<https://patentimages.storage.googleapis.com/9b/fa/63/bd2da932c982cd/US20160177278A1.pdf>

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

repetición truncada: región de antirepetición y está comprendido en un vector que cuenta con un promotor y el cual está comprendido dentro de un plásmido vírico adenoasociado (Abstract, Reiv. 9, Párrs. [0019] y [0184] – [0187]).

D2² divulga un estudio de la actividad de DNasa H de Cas9 de *Neisseria meningitidis* y la importancia de las secuencias guías (sgARN) características en el sistema CRISPR CAS9 de tipo II-C, donde al introducir delecciones seriales de sgARN con eliminación de 7, 14, 22, 45, 57 y 69 nucleótidos del extremo 3', se mostró que $\Delta 7nt$ no tiene defectos y los ARN $\Delta 14nt$ y $\Delta 22nt$ exhibieron defectos modestos, mientras que los sgARN $\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$ fueron completamente defectuosos, lo que sugiere que los 7 nucleótidos del terminal 3' son prescindibles para escisión, interrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal suprimiendo la actividad NmeCas9, de tal forma que esta solo tolera pequeñas delecciones terminales 3' o la eliminación del tallo superior (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).

6. Examen de Patentabilidad

De acuerdo con lo establecido en el artículo 14 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, en el cual se establecen los requisitos de patentabilidad objeto de la solicitud en estudio, esta Oficina presenta a continuación el análisis de los requisitos de patentabilidad.

6.1. Nivel Inventivo

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 1 (Radicado NC2020/0007046 del 24 de agosto de 2023) se refiere a: “Una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende (...)”. A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

CARACTERÍSTICAS ESENCIALES	D2
Una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de <i>Neisseria meningitidis</i> Cas9 que comprende	Una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de <i>Neisseria meningitidis</i> Cas9 que comprende (Págs. 10 y 11, Sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).
una región truncada de repetición:anti-repetición y	Una repetición truncada: región anti-repetición (Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).
una región truncada de vástago 2.	Donde el sgARN de guía única puede estar truncado en la región de vástago 2 (Fig. 7B).

D2 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 1, ya que divulga un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una región repetición: anti-repetición truncada, donde para encontrar cuál era la región mínima de repeticiones se generaron truncamientos en esta región, incluso con la pérdida completa de la región repetición: anti-repetición (Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). De esta forma, se logró confirmar que las delecciones y la eliminación completa de la

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

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

región repetición: anti-repetición no afecta la funcionalidad del sgARN (Pág. 5, sección - Cleavage site selection and RNA guide requirements for ssDNA cleavage, Figs. 3B y 4A). Así mismo, la eliminación del tallo superior permite obtener sgARN completamente funcionales (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). D2 también divulga que el sgARN presenta una región espaciadora truncada y muestra que los sgARN guías tienen una longitud total de 145 nucleótidos (Pág. 8, sección - Limited tolerance for protospacer/PAM linker length variation for NmeCas9; Pág. 10, sección, Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). Adicionalmente, D2 enseña que el sgARN guía puede estar truncado en la región de vástago 2 (Fig. 7B).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 1 y el sARN divulgado en D2, consiste en que el sgARN está truncado simultáneamente en la región repetición: anti-repetición y en el vástago 2.

No hay evidencia de que el incluir específicamente un vástago 2 truncado en el sgRNA que presenta la región repetición: anti-repetición truncada proporcione un sgARN con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D2, puesto que un sgARN truncado que es completamente funcional ya había sido previsto en dicho documento (Figs. 3B, 4A y 7B). Adicionalmente, no está probado que todos los sgARN incluidos en el alcance de la reivindicación son funcionales, puesto que algunos no tienen actividad de escisión (Fig. 2, Constructo #3).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el sgARN conocido en D2 con el fin de proporcionar otro sgARN alternativo?

Sin embargo, el incluir un vástago 2 truncado en una secuencia de sgARN ya está divulgado en D2, que se refiere a un estudio de la actividad de DNasa H de Cas9 de *Neisseria meningitidis* y la importancia de las secuencias guías (sgARN) características en el sistema CRISPR CAS9 de tipo II-C, donde al truncar el vástago nexa (int2) se observaron defectos de escisión y al truncar el vástago superior no se detectó ningún efecto (Pág. 10, fig. 7B). Además, D2 divulga que al introducir delecciones seriales de sgARN con eliminación de 7, 14, 22, 45, 57 y 69 nucleótidos del extremo 3', se mostró que $\Delta 7nt$ no tiene defectos y los ARN $\Delta 14nt$ y $\Delta 22nt$ exhibieron defectos modestos, mientras que los sgARN $\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$ fueron completamente defectuosos, lo que sugiere que los 7 nucleótidos del terminal 3' son prescindibles para escisión, interrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal suprimiendo la actividad NmeCas9, de tal forma que esta solo tolera pequeñas delecciones terminales 3' o la eliminación del tallo superior (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir el truncamiento de vástago 2 como lo sugiere D2 en el sgARN que comprende una región repetición: antirepetición truncado de D2, para así llegar al objeto de la reivindicación 1. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 2 a 4 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al sgARN de la reivindicación 1, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

Teniendo en cuenta lo señalado en el artículo 18 de la Decisión 486 de 2000 de la Comisión de la Comunidad Andina, la reivindicación independiente 5 (Radicado NC2020/0007046 del 24 de agosto de 2023) se refiere a: *"Un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria*

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

meningitidis Cas9 que comprende una región truncada de repetición: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada (...). A continuación, se presenta la tabla comparativa entre el objeto reivindicado y los documentos encontrados en el estado de la técnica:

CARACTERÍSTICAS ESENCIALES	D1	D2
Un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende	Un plásmido vírico adenoasociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única de Neisseria meningitidis que comprende (Párrs. [0019] y [0184] – [0187]). (Párr. [0407]).	Un vector de ácido nucleico que comprende un sistema Cas9 (Pág. 14, sección - Plasmid DNA Cleavage).
una región truncada de repetición: región anti-repetición y una región de vástago 2 truncada.	Una repetición truncada: región anti-repetición (Reiv. 9).	Una repetición truncada: región anti-repetición o una región de vástago 2 truncada (Fig. 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).

D1 es considerado como el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 5, ya que divulga un plásmido vírico adenoasociado (AAV) que porta un sistema de CRISPR-CAS9 desde *Neisseria meningitidis* y el cual está dentro de un vector que comprende un promotor específico de hígado (Párrs. [0019], [0184] – [0187] y [0407]). Donde dicho vector comprende una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) que comprende una repetición truncada y la cual es una secuencia comprendida en un sistema Cas9 de *Neisseria meningitidis*, en donde la longitud de secuencia de sgARN comprende 20 nucleótidos (Reivs. 8 y 9, Párrs. [0018] – [0019] y [0184] – [0187]). Adicionalmente, D1 menciona que el sgARN forma un bucle R con una unidad de direccionamiento acoplada, para lo cual es clave la complementariedad entre un PAM específico de la nucleasa Cas9 y un sitio objetivo (Párr. [0235], Fig. 52A), donde el sgARN está truncado y comprende 20 nucleótidos (Párr. [0018]). Donde el plásmido vírico comprende un promotor específico del hígado y el AAV es un serotipo AAV8 (Párr. 0407)). El sgARN es complementario a una región del sitio diana del gen de interés y el gen de interés puede ser *pcsk9* (Párrs. [0018] y [0407]).

La diferencia entre la invención definida en la reivindicación 5 el plásmido divulgado en D1, consiste en que el vástago 2 de la secuencia de sgARN está truncado.

No hay evidencia de que incluir el vástago 2 truncado específicamente proporcione un sgARN con algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que sgARNs truncados ya habían sido previstos en dicho documento, los cuales permiten delecciones o inserciones en la secuencia blanco (Fig. 55, Párr. [0154]). Adicionalmente, no está probado que todos los sgARN incluidos en el alcance de la reivindicación son funcionales, puesto que algunos no tienen actividad de escisión (Fig. 2, Constructo #3).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: ¿Cómo modificar el plásmido conocido en D1 con el fin de proporcionar otro plásmido alternativo?

Sin embargo, el incluir un vástago 2 truncado en una secuencia de sgARN ya está divulgado en D2, que se refiere a un estudio de la actividad de DNasa H de Cas9 de *Neisseria meningitidis* y la importancia de las secuencias guías (sgARN) características en el sistema CRISPR CAS9 de tipo II-C, donde al truncar el vástago nexa (int2) se observaron defectos de escisión y al truncar el vástago superior no se detectó ningún efecto (Pág. 10, fig. 7B). Además, D2 divulga que al introducir delecciones seriales de

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

sgARN con eliminación de 7, 14, 22, 45, 57 y 69 nucleótidos del extremo 3', se mostró que $\Delta 7nt$ no tiene defectos y los ARN $\Delta 14nt$ y $\Delta 22nt$ exhibieron defectos modestos, mientras que los sgARN $\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$ fueron completamente defectuosos, lo que sugiere que los 7 nucleótidos del terminal 3' son prescindibles para escisión, interrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal suprimiendo la actividad NmeCas9, de tal forma que esta solo tolera pequeñas deleciones terminales 3' o la eliminación del tallo superior (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).

En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir un truncamiento del vástago 2 de la secuencia de sgARN como lo sugiere D2 en el plásmido de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 5. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 6 a 12 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al vector de la reivindicación 5, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

7. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	US20160177278A1	5 a 12	Nivel inventivo
D2	Zhang, Y., et al. Molecular cell,	1 a 12	Nivel inventivo

8. Respuesta a los argumentos del solicitante

Respuestas a los argumentos por claridad de las reivindicaciones

En lo referente a los argumentos del solicitante con relación a la claridad del capítulo reivindicatorio de la solicitud bajo estudio en donde manifestó: *“presento respetuosamente mi desacuerdo respecto a la opinión del Despacho, toda vez que, sugiere modificaciones a la Reivindicación 1 que no son características técnicas esenciales. De hecho, el Despacho no ha argumentado por qué una SEQ ID NO y/o la cantidad de nucleótidos truncados son esenciales y, además, el Capítulo Descriptivo sugiere lo contrario. Por otro lado, la sugerencia del Despacho de que la Reivindicación 1 no revela la posición de las regiones truncadas es errónea, de manera que el primer truncamiento se encuentra en la “región de repetición:anti-repetición” y el segundo truncamiento se encuentra en la región “vástago 2” del sgARN de Nme. (...)”*. Para lo cual plantea que las mismas encuentran sustento en el capítulo descriptivo citando particularmente el texto a continuación *“El sgRNA NmeI/Cas9 de 145 nucleótidos (nt) de longitud completa usado convencionalmente incluye un 15 crRNA de 48 nt, un enlazador de 4 nt y un tracrRNA de 93 nt. La región crRNA del sgRNA está compuesta por una primera secuencia espaciadora de 24 nt y una segunda secuencia repetida de 24 nt que se empareja con una región 5' anti-repetición de tracrRNA de 24 nt formando así una región repetición:anti-repetición. La región restante de tracrRNA de 69 nt incluye la región vástago 1 y la región vástago 2 (véase Figura 1)”* y aclara que la figura 2 ya muestra diversos ejemplos de nucleótidos que pueden truncarse en el sgARN, y así las cosas manifiesta que la reivindicación 1 cumple con el requisito de claridad. Así mismo, reitera que en otras figuras como la 1 también se evidencia las regiones truncadas donde se identifica las secuencias, los truncamientos y diferentes modalidades que las abarcan.

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

Así mismo, adiciona que la claridad no podrá analizarse únicamente por las palabras usadas en las reivindicaciones de forma aislada y es necesario tener en cuenta lo divulgado en el capítulo descriptivo que sirve para interpretar dichas reivindicaciones y determinar el alcance de protección. Por tanto, la divulgación de la solicitud debe ser considerada en su totalidad con toda la información presentada en la descripción. Concluye que la reivindicación 1 es clara y concisa.

Adicionalmente, en cuanto a la claridad de la reivindicación 4, manifiesta que las modificaciones realizadas indican la longitud de secuencia de sgARN y que una persona versada en la materia sabría cuál es la longitud del truncamiento. Por tanto, es entendible y la objeción debería ser superada. Y en relación con la claridad de la reivindicación 6 (ahora reivindicación 5), argumenta que la característica esencial del AAV corresponde al ácido ribonucleico que este codifica, en lo cual el capítulo descriptivo proporciona suficiente información de dichos vectores. Además, indica que el solicitante está en todo su derecho de reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado sin importar la amplitud de este.

Añade, que “En particular, la definición del sgARN y el AAV reclamados en las Reivindicaciones 1 y 6 es válida en tanto encuentra soporte en el hecho que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad de un concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad, como se demostrará más adelante. 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. En este sentido, dichas reivindicaciones únicamente pretenden proteger diferentes modalidades del invento, las cuales encuentran soporte en el Capítulo Descriptivo y en los Ejemplos, y que evidentemente están dentro del concepto desarrollado legítimamente por los inventores”.

Finaliza insistiendo que el capítulo reivindicatorio modificado cumple los requisitos de claridad, concisión y soporte establecidos en el artículo 30 de la decisión 486 por tanto, es claro el alcance y los límites de la materia reclamada, la cual puede ser reproducida con la información divulgada en el capítulo descriptivo.

En respuesta a los argumentos del solicitante se indica que el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2020/0007046 del 24 de agosto de 2023 carece de claridad y concisión como se puede evidenciar en el numeral 4.1 del presente oficio. Particularmente, la reivindicación 1 no presenta todas las características técnicas esenciales del sgARN reclamado, puesto que no incluye cuántos y cuáles nucleótidos se truncan en las regiones repetición: anti-repetición y en la región de vástago 2, de tal forma que el mismo sea funcional. Además, no indica cuál es la longitud del sgARN y la SEQ ID NO: del mismo. Ante esto, debe mencionarse que la reivindicación independiente debe comprender todas las características técnicas esenciales de la materia reivindicada. Teniendo en cuenta que en el capítulo descriptivo se evidencia que los sgARNs tienen una longitud específica de 99, 100, 101, 103, 105, 107, 111, 121 o el sgARN sin truncan de 145 nucleótidos (Fig. 2), además se evidencia que los nucleótidos que se trunca en la región repetición: anti-repetición no son cualquiera, sino que siempre son los mismos y algunos nucleótidos específicos de la región central no se cortan (Fig. 2), por tanto la reivindicación independiente debería indicar cuántos y cuáles nucleótidos se truncan en dicha región. Así mismo, en la región de vástago 2, hay una región central que comprende los nucleótidos UUCU, la cual no es truncada en ninguna de las modalidades, por tanto, debería también indicarse cuántos y cuáles nucleótidos se truncan en la reivindicación independiente. Es importante mencionar, que justamente el alcance de la materia como está redactada la reivindicación no es claro, pues incluiría modalidades de sgARN que

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

no son exploradas ni realizadas por el solicitante, tampoco todas las permutaciones podrían reclamarse porque no todas son funcionales, puesto que su actividad de escisión es 0 como se indica en la figura 2.

De esta manera, está claro que se deben mencionar las características técnicas esenciales de la materia o realizar una razonable generalización de la misma que permita comprender su alcance y reclamar lo que está siendo divulgado en la descripción.

Así mismo, las reivindicaciones mencionan que el sgARN presenta además una región espaciadora truncada, pero tampoco indica cuáles son dichas secuencias de región espaciadora y en cuántos y cuáles nucleótidos está truncada, lo cual también debería ser mencionado, pues la descripción indica que dichas regiones cuentan con 22 a 24 nucleótidos que son de mayor eficiencia (Fig. 36C).

Por su parte, la reivindicación 5 actual reclama el vector de AAV, donde el solicitante argumenta que la única característica esencial del mismo es el sgARN que codifica, pero la reivindicación no menciona todas las características técnicas esenciales de dicho sgARN, por tanto, tampoco puede subsanarse la objeción por claridad. Como se indicó previamente, la reivindicación independiente debe tener todas las características técnicas esenciales de la invención de la solicitud y es necesario que respecto al sgARN se mencione su longitud, secuencia, cuántos y cuáles nucleótidos son truncados en la región repetición: anti-repetición y en el vástago 2 para que el mismo siga siendo funcional. Así las cosas, tal y como está reclamada la materia en las reivindicaciones puede interpretarse como que es posible truncar cualquier región de cualquier tamaño, lo cual no concuerda con lo divulgado en el capítulo descriptivo, dado que podría incluso truncarse toda la región de acuerdo con lo reivindicado. Así mismo, en la descripción se divulgan unos números de secuencias de la invención, pero estos no aparecen en las reivindicaciones.

Finalmente, las reivindicaciones 1 y 4 son independientes que reclaman la misma materia, siendo la diferencia en que la reivindicación 4 indica la longitud del sgARN. Por tanto, el capítulo comprende dos reivindicaciones independientes idénticas, por tanto, carecen de concisión. Adicionalmente, la longitud de 145 nucleótidos no tendría coherencia con lo divulgado en el capítulo descriptivo, puesto que un sgARN de dicha longitud sería un sgARN no truncado y por tanto no correspondería a la materia reivindicada.

Respuesta a los argumentos del solicitante frente a las objeciones por novedad

El solicitante contesta en sus argumentos que el examinador utiliza el documento D2 para afectar la novedad de la materia reclamada en la reivindicación 1 a lo cual afirma que: *“En respuesta a esta objeción, me permito reiterar mi llamado al Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en el cual particularmente la Reivindicación 1 está dirigida a una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende una región truncada de repetición:anti-repetición y una región truncada de vástago 2 (...)*

Ahora bien, en relación con el arte previo citado, señalo respetuosamente que D2 no anticipa el objeto de la presente invención, pues enseña un sgARN con solo una región de vástago 2 truncada. D2 revela claramente que los truncamientos informados son para considerarse presentes de forma alternativa en un sgARN, y no en combinación, al respecto D2 menciona en su página 10 (...)

Además, D2 enseña que “el vástago superior o los siete nucleótidos del terminal 3” son prescindibles (p. ej., truncamientos en la región repetición:antirrepetición o la región del

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

vástago 2). D2 nunca sugiere, predice o enseña (implícita o explícitamente) que se puede crear un sgARN NmeCas9 funcional que comprende ambas regiones de repetición: anti-repetición truncada y una región de vástago 2 truncada, al contrario, lo que D2 enseña una u otra región, pero no ambas.

Como tal, D2 no anticipa la presente invención porque no enseña ningún sgRNA que tenga ambas regiones como se reclama en la presente solicitud, por lo cual, considero que la objeción relacionada está completamente superada”.

Se aclara que el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2020/0007046 del 24 de agosto de 2023 permite superar las objeciones por novedad, sin embargo, la materia reivindicada presenta objeciones por nivel inventivo como se indica en el numeral 6.1 del presente oficio.

Respuesta a los argumentos del solicitante por las objeciones por nivel inventivo

Respecto a las objeciones por nivel inventivo de la materia reclamada, el solicitante argumenta que: *“En respuesta, señalo respetuosamente que la presente invención está dirigida a una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis Cas9 que comprende una región truncada de repetición: anti-repetición y una región truncada de vástago 2 (...)*

Ahora bien, difiero respetuosamente de la opinión del Despacho, en particular, como se explicó en el punto anterior, D2 enseña un sgRNA que tiene una región truncada de repetición: anti-repetición o una región truncada de vástago 2, sin embargo, nunca sugiere o implica con una expectativa razonable de éxito que un sgRNA podría, o debería, tener ambos truncamientos. Como tal, el arte previo no proporciona a la persona medianamente versada en la materia ninguna motivación para combinar las enseñanzas de D1 de un plásmido AAV que codifica un sgRNA NmeCas9 que comprende una región truncada de repetición: anti-repetición con las enseñanzas de D2 de una región truncada de vástago 2.

Así las cosas, y a la luz de las evidentes diferencias encontradas entre la materia reclamada en la solicitud frente al arte previo, vale la pena señalar que el Manual Andino de Patentes (MAP) establece que las invenciones en el campo de la química (biotecnología) tienen nivel inventivo cuando la materia reclamada tiene una estructura inesperada (no derivable por la persona medianamente versada en la materia) o cuando presentan un efecto técnico inesperado o mejorado impredecible del arte previo. En el presente caso, las dos condiciones se cumplen, toda vez que no hay enseñanzas en D1 ni D2 que guíen de manera obvia e inequívoca a una persona medianamente versada en la materia a las moléculas de sgARN reclamadas en la Reivindicación 1, ni mucho menos sugerencias que le permitan predecir de manera razonable los efectos técnicos específicos exhibidos (...)

(...) En conclusión, a la luz de la clara evidencia en favor del nivel inventivo suministrada anteriormente, la invención no habría podido ser dilucidada ni mucho menos prevista a partir de la información aportada por los documentos citados. La persona medianamente versada en la materia no habría encontrado sugerencia o motivación alguna que la condujera directamente a desarrollar las moléculas de sgARN aquí reclamadas con sus características estructurales reivindicadas, esperando obtener los efectos técnicos particulares e inesperados derivados de tales diferencias estructurales y evidenciados a lo largo del Capítulo Descriptivo, por lo tanto, su nivel inventivo debería ser reconocido.

Por todo lo anterior, considero que las objeciones presentadas por el Despacho en su segundo examen de fondo han sido resueltas. Por consiguiente, considero que la

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

presente solicitud cumple con los requisitos de patentabilidad establecidos por la Decisión 486 y, por lo tanto, solicito respetuosamente que el Despacho proceda con la concesión de la patente”.

Se aclara que, para el capítulo reivindicatorio del escrito radicado bajo número NC2020/0007046 del 24 de agosto de 2023 las objeciones por nivel inventivo siguen siendo pertinentes. Debe aclararse que aunque el documento D2 no presenta sgARNs con truncamientos simultáneos en la región repetición: anti-repetición y en el vástago 2, si enseña que pueden realizarse truncamientos en las dos regiones (Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides; Fig. 7A – ver Int1 y $\Delta 7$), por tanto, una persona normalmente versada en la materia se vería motivada a incluir truncamientos en la región de vástago 2 como lo enseña D2, en un sgARN que presenta truncamiento en la región repetición: anti-repetición como el que se indica en D2. Además, en D2 se muestra que los truncamientos en la región repetición: anti-repetición permiten tener sgARN que son completamente funcionales y que no presentan ninguna afectación (Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides).

Adicionalmente, D2 enseña que también se puede trancar la región de vástago 2 y cuando se muta con una delección de 7 nucleótidos en el mismo ($\Delta 7$ nt) no tiene defectos y cuando se mutan los ARN $\Delta 14$ nt y $\Delta 22$ nt exhiben defectos modestos, de tal forma que podría obtenerse sgARNs completamente funcionales con pequeñas delecciones en el vástago 2 o la eliminación del tallo superior (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). Por lo cual, una persona normalmente versada en la materia interesada en obtener sgARNs funcionales de menor longitud se vería motivada a trancar tanto la región de vástago 2 como la región de repetición: anti-repetición (ver Int1 en Fig. 7A), ya que las mismas no tienen un impacto en la capacidad de escisión del sgARN.

Por otra parte, trancar la región de vástago 2 adicional a la región repetición: anti-repetición no proporciona algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D2, puesto que un sgARN truncado que es completamente funcional ya había sido previsto en dicho documento (Figs. 3B, 4A y 7B). Además, y contrario a lo argumentado por el solicitante, no todos los sgARN de la solicitud son funcionales, puesto que algunos no tienen actividad de escisión, como es el caso del sgARN # 3 donde el porcentaje de lesión es 0, además hay sgARNs cuyo porcentaje de lesión es muy inferior al sgARN silvestre como es el caso de #6 con el 1% y #9 con el 2% (Fig. 2). Por tanto, no hay un efecto asociado a trancar cualquier región dentro del vástago 2 y la región repetición: anti-repetición, puesto que ya el documento D2 mencionaba que truncamientos en el vástago 2 podían conducir a sgARN completamente funcionales, algunos con defectos modestos en la actividad o algunos completamente defectuosos y mutaciones en la región repetición: anti-repetición conducen a sgARN completamente funcionales (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). De esta forma, no es posible reconocer un efecto técnico a la amplitud de la materia reclamada, ya que, tal como lo demuestran las pruebas presentadas en la solicitud, no todos los sgARN truncados en las regiones de repetición: anti-repetición y vástago 2 son funcionales.

En este mismo contexto, la reivindicación 5 carece de nivel inventivo a la luz de las enseñanzas de los documentos D1 y D2 y la combinación de dichos documentos llevarían a una persona normalmente versada a obtener la materia. De esta forma, D1 es el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 5, ya que divulga un plásmido vírico adenoasociado (AAV) que porta un sistema de CRISPR-CAS9 de *Neisseria meningitidis* y el cual está dentro de un vector que comprende un promotor específico de hígado (Párrs. [0019], [0184] – [0187] y [0407]). Donde dicho vector comprende una secuencia de sgARN que comprende una repetición truncada y en donde la longitud de secuencia de sgARN comprende 20 nucleótidos (Reivs. 8 y 9, Párrs. [0018]

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

– [0019] y [0184] – [0187]). Donde la única diferencia del plásmido divulgado en D1 con el de la solicitud, consiste en que el vástago 2 de la secuencia de sgARN está truncado. Pero, esta diferencia no permite evidenciar algún efecto técnico diferente al que ya proporcionaba el objeto de D1, puesto que sgARNs truncados ya habían sido previstos en dicho documento, los cuales permiten delecciones e inserciones en la secuencia blanco (Fig. 55, Párr. [0154]) y donde ese blanco podría ser el gen *pcsk9* (Párrs. [0018] y [0407]). Además, como se explicó previamente, D2 ya enseña incluir un vástago 2 truncado en una secuencia de sgARN (Figs. 7A y 7B, Págs. 10 y 11, sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides). Por lo cual, a la luz de las enseñanzas de D1 y D2, una persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir un truncamiento del vástago 2 de la secuencia de sgARN como lo sugiere D2 en el plásmido de D1, para así llegar al objeto de la reivindicación 5. Por lo que carece de nivel inventivo.

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de 2000, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Si como respuesta a este requerimiento, el solicitante modifica el capítulo reivindicatorio, deberá observar las instrucciones contenidas en el numeral 1.2.2.1.1., del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única de esta Superintendencia. De igual forma, deberá tener presente que de conformidad con el literal a) del numeral 1.2.2.5.1. de la norma ibidem, será necesario acreditar el pago de la tasa por concepto de modificación a solicitudes en trámites, de conformidad con el valor establecido en la resolución de tasas vigentes.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 6.2 del Capítulo Sexto del Título I de la Circular Única, informándoles que contra el mismo no procede recurso alguno en actuación administrativa.



Edna Marcela Ramirez Orozco
DIRECTORA DE NUEVAS CREACIONES

Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

INFORME DE BÚSQUEDA
EXAMEN DE PATENTABILIDAD

Solicitud No.		Examen de patentabilidad							
NC2020/0007046		1°		2°		3°	X	Revoca	
Solicitud Internacional No.		Fecha solicitud internacional: (DD/MM/AÑO)							
PCT/US2018/060126		9 de noviembre de 2018							
Fecha de determinación estado de la técnica (DD/MM/AÑO)				Prioridad		Presentación			
10/11/2017				X					
Solicitante									
UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS									
Reivindicaciones que no son objeto de búsqueda por:									
Art. 14	-	Art. 15	-	Art. 20	-	Art. 25 (Falta de unidad de invención)		-	
CRITERIOS DE BÚSQUEDA									
Reivindicaciones objeto de búsqueda				1 a 12					
Palabras clave utilizadas				CRISPR CAS9 platform, <i>Neisseria meningitidis</i> , anti-repeat region, ribonucleic acid, single leader, sgRNA two stem, stem loop, crRNA, tracrRNA truncated repeat, deletion, PCSK9 gene, ROSA26 gene, adeno-associated virus plasmid, PAMs, Type II-C CRISPR-Cas system, , LDL, AVV8.					
Clasificaciones utilizadas para la búsqueda				CIP:	C12N 9/22, C12N 15/79, C12N 15/86, A61K 39/12, A61P 3/06				
DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES (Documentos patente, Literatura no patente (LNP): Artículos, catálogos, etc.)									
Informes de búsqueda / Bases de datos consultadas	N° de solicitud de patente / N° de patente / Autor LNP ⁽¹⁾	Fecha de Publicación /Presentación (DD/MM/AAAA)	Reivindicaciones /Secuencias afectadas	Citas relevantes del estado de la técnica			Categoría del documento citado ⁽²⁾		
ISA	US20160177278A1	23/06/2016	5 a 12	Reivs. 8, Párrs. [0018] – [0019] y [0184] – [0187], Fig. 52A.			Y		
	Zhang, Y., <i>et al.</i>	15/10/2015	1 a 12	Págs. 10 y 11, Sección - Functional anatomy of NmeCas9's RNA guides, Fig. 7-			Y		
	Amrani, N., <i>et al.</i>	05/12/2018	-	-			T		
PATBASE/ISA	US2016346359 AA	01/12/2016	-	-			A		
PATBASE	US2016201089AA	14/07/2016	-	-			A		
	US2017145394AA	25/05/2017	-	-			A		
	US2016046724 AA	18/02/2016	-	-			A		
	US2017159073 AA	08/06/2017	-	-			A		
	US2017354745 AA	14/12/2017	-	-			A		
	WO17160689 A1	21/09/2017	-	-			A		
	US2017049909 AA	23/02/2017	-	-			A		
	CN105331608 A	17/02/2016	-	-			A		
	CN105331609 A	17/02/2016	-	-			A		
	US2017198277 AA	13/07/2017	-	-			A		
	EP3129393 A1	15/02/2017	-	-			A		
	US2014315985 AA	23/10/2014	-	-			A		
US2016340660 AA	24/11/2016	-	-			A			



Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

	US2014295556 AA	02/10/2014	-	-	A
	US2015284727 AA	08/10/2015	-	-	A
	US2016333377 AA	17/11/2016	-	-	A
	US2014273230 AA	18/09/2014	-	-	A
	US9512446 BA	06/12/2016	-	-	A
	US2017101641 AA	13/04/2017	-	-	A
	US2014271635 AA	18/09/2014	-	-	A
	WO16196388 A1	08/12/2016	-	-	A
	WO17013252 A1	26/01/2017	-	-	A
	US2016298099 AA	13/10/2016	-	-	A
	US2016058889 AA	03/03/2016	-	-	A
	WO17044419 A1	16/03/2017	-	-	A
	CN107267516 A	20/10/2017	-	-	A
	CN105316322 A	10/02/2016	-	-	A
	WO17123697 A1	20/07/2017	-	-	A
	US2016289637 AA	06/10/2016	-	-	A
	WO17077386 A1	11/05/2017	-	-	A
	US2016340660AA	24/11/2016	-	-	A
	WO16205759A1	22/12/2016	-	-	A
	US2017145425AA	25/05/2017	-	-	A
	GB201701180A0	08/03/2017	-	-	A
	AU2015101792 AD	28/01/2016	-	-	A
	US2015165054AA	18/06/2015	-	-	A
	WO17004279A	23/02/2017	-	-	A
	US2016346359 AA	01/12/2016	-	-	A
	US2016177278AA	23/06/2016	-	-	A
PUBMED	Lee, C. M., <i>et al</i>	03/2016	-	-	A
	Hou, Z., <i>et al.</i>	24/09/2013	-	-	A
	Walsh, R. M., & Hochedlinger, K	24/09/2013	-	-	A
GOOGLE	Dang, Y., <i>et al.</i>	15/12/2015	-	-	A
	Murovec, J., <i>et al.</i>	08/2017	-	-	A
	Fu, Y., <i>et al.</i>	03/2014	-	-	A
	Zhang, J. H., <i>et al.</i>	04/2016	-	-	A
GOOGLE/ PUBMED	Ding, Q., <i>et al.</i>	15/08/2014	-	-	A
	Zhu, Z., <i>et al.</i>	2014	-	-	A
	Fazio, S., & Tavori, H.	15/08/2014	-	-	A
	Gupta R. M.	12/2014	-	-	A
	Chadwick, A. C., <i>et al.</i>	09/2017	-	-	A
	Wang, X., <i>et al.</i>	05/2016	-	-	A
	Chadwick, A. C., & Musunuru, K.	07/2017	-	-	A
SCIENCE DIRECT	Wassef, M., <i>et al.</i>	15/05/2017	-	-	A
GOOGLE	WO2016176191A1	03/11/2016	-	-	A



Oficio N° 17699 de 25 de octubre de 2023

Ref. Expediente N° NC2020/0007046

PATENTS/ PATBASE	CN105886498 A	24/08/2016	-	-	A
	CN103923911B	08/06/2016	-	-	A
	CN107022572A	08/08/2017	-	-	A
	WO2014190181A1	27/11/2014	-	-	A
	WO2017044419A1	16/03/2017	-	-	A
	WO2017160689A1	21/09/2017	-	-	A
(¹) Cita completa literatura no patente (LNP) Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Volumen(Número), pp-pp. O Apellido, A. A. (Fecha). Título del artículo. Nombre de la revista. Recuperado de http://xxxxxxx.			Amrani, N., <i>et al.</i> (2018). NmeCas9 is an intrinsically high-fidelity genome-editing platform. <i>Genome biology</i> , 19(1), 214.		
			Zhang, Y., <i>et al.</i> (2015). DNase H Activity of Neisseria meningitidis Cas9. <i>Molecular cell</i> , 60(2), 242–255.		
			Lee, C. M., <i>et al</i> (2016). The <i>Neisseria meningitidis</i> CRISPR-Cas9 System Enables Specific Genome Editing in Mammalian Cells. <i>Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy</i> , 24(3), 645–654.		
			Hou, Z., <i>et al.</i> (2013). Efficient genome engineering in human pluripotent stem cells using Cas9 from <i>Neisseria meningitidis</i> . <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> , 110(39), 15644–15649.		
			Dang, Y., <i>et al.</i> (2015). Optimizing sgRNA structure to improve CRISPR-Cas9 knockout efficiency. <i>Genome biology</i> , 16, 280.		
			Ding, Q., <i>et al.</i> (2014). Permanent alteration of PCSK9 with <i>in vivo</i> CRISPR-Cas9 genome editing. <i>Circulation research</i> , 115(5), 488–492.		
			Walsh, R. M., & Hochedlinger, K. (2013). A variant CRISPR-Cas9 system adds versatility to genome engineering. <i>Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America</i> , 110(39), 15514–15515.		
			Zhu, Z., <i>et al.</i> (2014). The iCRISPR platform for rapid genome editing in human pluripotent stem cells. <i>Methods in enzymology</i> , 546, 215–250.		
			Fazio, S., & Tavori, H. (2014). Peeking into a cool future: genome editing to delete PCSK9 and control hypercholesterolemia in a single shot. <i>Circulation research</i> , 115(5), 472–474.		
			Gupta R. M. (2014). One-shot, one cure with genome editing for dyslipidemia. <i>Circulation. Cardiovascular genetics</i> , 7(6), 967–968.		
			Chadwick, A. C., <i>et al.</i> (2017). <i>In Vivo</i> Base Editing of PCSK9 (Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9) as a Therapeutic Alternative to Genome Editing. <i>Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology</i> , 37(9), 1741–1747.		
			Wang, X., <i>et al.</i> (2016). CRISPR-Cas9 Targeting of PCSK9 in Human Hepatocytes <i>In Vivo</i> -Brief Report. <i>Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology</i> , 36(5), 783–786.		
			Chadwick, A. C., & Musunuru, K. (2017). Treatment of Dyslipidemia Using CRISPR/Cas9 Genome Editing. <i>Current atherosclerosis reports</i> , 19(7), 32.		
			Murovec, J., <i>et al.</i> (2017). New variants of CRISPR RNA-guided genome editing enzymes. <i>Plant biotechnology journal</i> , 15(8), 917–926.		
			Fu, Y., <i>et al.</i> (2014). Improving CRISPR-Cas nuclease specificity using truncated guide RNAs. <i>Nature biotechnology</i> , 32(3), 279–284.		
Zhang, J. H., <i>et al.</i> (2016). Optimization of genome editing through CRISPR-Cas9 engineering. <i>Bioengineered</i> , 7(3), 166–174.					
Wassef, M., <i>et al.</i> (2017). Versatile and precise gene-targeting strategies for functional studies in mammalian cell lines. <i>Methods</i> , 121-122, 45–54.					
(²) Categorías de documentos citados “A” Documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante. “E” Solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior. “L” Documento citado para llamar la atención sobre por ejemplo, dudas acerca de una reivindicación de prioridad o para determinar la fecha de publicación de otra cita, siempre van acompañados de una explicación, por la cual se citan. “O” Documento del tipo actas de conferencia, este tipo de documentos siempre estará acompañado por otra letra que indique la pertinencia del documento, por ejemplo, O,X, O,Y o bien O,A. “P” Documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada. “T” Documento publicado en fecha posterior a la de presentación o la de prioridad de la solicitud internacional y no entra en conflicto con dicha solicitud, pero puede ser útil para la mejor comprensión del principio o teoría en que se basa la invención, o para demostrar que el razonamiento o los hechos en los que se basa dicha invención son incorrectos. “X” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado. “Y” Documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.					
Fecha del reporte de búsqueda: (11/10/2023)					

