

Doctora
Edna Marcela Ramírez Orozco
Directora de Nuevas Creaciones
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO -SIC-
E. S. D.

TOBOS ABOGADOS S.A.S.
Carrera 7C No. 138-19
Oficina 901 Bogotá D.C.
Colombia
NIT 900.367.556-3
Cel: +57 320 3340887
Tel: +57 60 1 309 9955
Tel: +57 60 1 805 1166
www.tobos.com.co
tobos@tobos.com.co

Referencia: Solicitud de patente de invención No. NC2020/0016586
Solicitante: UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA
Título Anterior: “DIVERSOS DOMINIOS DE ENLACE DE ANTÍGENOS,
NUEVAS PLATAFORMAS Y OTRAS MEJORAS PARA TERAPIA CELULAR”
Nuevo Título: “RECEPTORES DE ANTÍGENO QUIMÉRICOS QUE COMPRENDEN DOS
CADENAS CD3Z Y COMPOSICIONES DE LOS MISMOS”

RESPUESTA AL EXAMEN DE FONDO NOTIFICADO CORREO ELECTRÓNICO OFICIO No. 11052

ANDREA TOBOS MATEUS, mayor de edad y vecina de Bogotá D.C., identificada como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderada de la sociedad UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA, respetuosamente me dirijo a usted con el fin de dar respuesta al examen de fondo dentro del término de plazo.

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

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

1. EXCEPCIÓN DE PATENTABILIDAD

En respuesta a la objeción planteada por la Examinadora acerca de que las reivindicaciones 39 a 41 no son patentables, la solicitante indica que las reivindicaciones objetadas fueron eliminadas.

2. DE LA SOLICITUD DE PATENTE

2.1. Título

En respuesta a la observación de la Examinadora respecto a que el título de la solicitud no refleja el objeto divulgado en la descripción y las reivindicaciones, la solicitante acepta el título sugerido por la

Examinadora: *“RECEPTORES DE ANTÍGENO QUIMÉRICOS QUE COMPRENDEN DOS CADENAS CD3Z Y COMPOSICIONES DE LOS MISMOS”*.

2.2. Reivindicaciones

En respuesta a las observaciones de la Examinadora respecto al número excesivo de reivindicaciones independientes, falta de sustento, alcance, referencias a la descripción, uso de términos imprecisos y de las expresiones: *“dominios de unión al antígeno TCR no naturales”*, *“codifica parcial o totalmente al menos una cadena”*, *“una cadena constante del receptor de células T (TCR) parcial”*, *“un dominio transmembrana y / o citoplasmático parcial”*, porcentajes de identidad, identificación de SEQ ID NO: 4117, estructura del receptor, coherencia, errores de dependencia, errores de redacción, tipográficos y de traducción; la solicitante presenta un nuevo capítulo reivindicatorio con los siguientes cambios:

- Se ha reducido el número de reivindicaciones independientes, que ahora se limita a cuatro.
- Se limita el polinucleótido reclamado a aquellos que codifican un receptor inmunitario sintético-CD3z (zSIR). El soporte de este cambio se encuentra en la descripción (Página 2, líneas 8-10). Así mismo, se adiciona la SEQ ID No del respectivo polipéptido y del enlazador, de forma que dicho receptor se caracteriza de forma adecuada.
- Se eliminan las referencias a las tablas de la descripción.
- Se elimina el término *“al menos”* y las expresiones *“dominios de unión al antígeno TCR no naturales”*, *“codifica parcial o totalmente al menos una cadena”*, *“una cadena constante del receptor de células T (TCR) parcial”*.
- Se corrigen los errores de redacción, tipográficos y de traducción en las expresiones: *“proliferación de la linfocito”*, *“un polinucleótido un enlazador”*, *“consitmulador”*, *“un módulo de acceso”* y *“celda”*.
- Se aumenta el porcentaje de identidad a 95% respecto a la secuencia del polinucleótido de referencia en las reivindicaciones.
- Se elimina la referencia a la secuencia SEQ ID NO: 4117.
- Se eliminan errores de dependencia y redacción relacionadas con reivindicaciones del polipéptido y/o receptor.

2.3. Descripción

2.3.1. La Examinadora considera que la descripción no divulga la invención de manera suficientemente completa para que la persona normalmente versada en la materia técnica correspondiente pueda ejecutarla porque se reclaman polinucleótidos que codifican receptores de antígeno quiméricos (CAR) que comprenden cualquier dominio transmembrana, citoplasmático y extracelular de cualquier proteína endógena que se expresa en la superficie de los linfocitos enlazado a cualquier dominio de unión, sin

embargo, la descripción solamente da cuenta de polinucleótidos que codifican receptores de antígeno quiméricos que comprenden secuencias particulares (ej. SEQ ID NO: 16318, 14056, 12890, 12943, 16316, 16330, entre otros) y que comprenden dos cadenas de CD3z unidas a cada dominio de unión a antígeno.

2.3.2. En respuesta a esta observación, la solicitante considera que el nuevo capítulo reivindicatorio presentado se encuentra adecuadamente limitado y soportado en la descripción.

2.4. Dibujos

2.4.1. En respuesta a la observación de la Examinadora sobre la falta de numeración de los dibujos de la solicitud, la solicitante adjunta de nuevo los dibujos con su respectiva numeración.

3. EXAMEN DE PATENTABILIDAD

3.1. La Examinadora informa que después de realizada la búsqueda de anterioridades en este caso, la novedad y el nivel inventivo de las reivindicaciones 1 a 13, 147 a 17, 18 a 38, 42 y 43 se encuentra afectada por lo divulgado en los siguientes documentos:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación	Fecha de prioridad
D1	CONC2019/0007092	“Receptores inmunes sintéticos y métodos de uso de los mismos”	07 de junio de 2018	2 de diciembre de 2016
D2	WO2017/070608	“Antibody/T-cell receptor chimeric constructs and uses thereof”	27 de abril de 2017	
D3	Bridgeman, J. S., et al., The Journal of Immunology	“The Optimal Antigen Response of Chimeric Antigen Receptors Harboring the CD3z Transmembrane Domain Is Dependent upon Incorporation of the Receptor into the Endogenous TCR/CD3 Complex”	15 de junio de 2010	

3.2. Novedad – Reivindicación 1

3.2.1. La Examinadora considera que la reivindicación 1 no es nueva de acuerdo con lo divulgado en el documento D1, como muestra la siguiente comparación:

Tabla 1. Comparación de las características técnicas esenciales de la reivindicación 1, con las del documento D1

Características esenciales	D1
Al menos un polinucleótido recombinante que codifica al menos un receptor de antígeno quimérico (CAR) de primera o próxima generación, comprendiendo el al menos un polinucleótido recombinante:	Un polinucleótido recombinante que codifica un receptor inmune sintético (SIR) que comprende: (Pág. 217, líneas 7 a 24, Pág. 220, líneas 1 a 25, Pág. 603, líneas 23 a 25, Pág. 604, líneas 1 a 25, Tabla 10A)
(a) un primer dominio de ácido nucleico que codifica un dominio transmembrana y / o citoplasmático	La secuencia de ácidos nucleicos de dominio extracelular de cadena constante TCRA humano en fusión con el

parcial o completo de una proteína endógena, donde la proteína endógena se expresa en la superficie de los linfocitos	dominio extracelular, dominio de transmembrana y dominio citosólico de cadena CD3 zeta humana (Pág. 217, líneas 7 a 24, Pág. 603, líneas 23 a 25, Pág. 604, líneas 1 a 25, Tabla 10A)
(c) un segundo dominio de ácido nucleico unido operativamente al primer dominio de ácido nucleico, en el que el segundo dominio de ácido nucleico codifica uno o más dominios de unión al antígeno TCR no naturales	El dominio de TCR unido a un dominio de unión al antígeno (Pág. 220, líneas 1 a 25, Pág. 603, líneas 23 a 25, Pág. 604, líneas 1 a 25, Tabla 10A)

3.2.2. La Examinadora además señala que las SEQ ID NO: 48 (que codifica la SEQ ID NO: 4047), SEQ ID NO: 4064, SEQ ID NO: 4065 y 4066, SEQ ID NO: 4039, SEQ ID NO: 12662, SEQ ID NO: 67 y SEQ ID NO: 4103, reclamadas en la presente solicitud, son 100% idénticas a la SEQ ID NO: 741, SEQ ID NO: 12415, SEQ ID NO: 12417, SEQ ID NO: 3011, SEQ ID NO: 10110, SEQ ID NO: 11167 y SEQ ID NO: 3214, divulgadas en D1, respectivamente.

3.2.3. Adicionalmente, la Examinadora afirma que el documento D1 divulga una célula recombinante que expresa el polinucleótido y puede ser una célula T o NK (Pág. 43, líneas 6 a 8, Pág. 438, líneas 19 a 24), un vector que comprende el polinucleótido, donde el vector se selecciona de un vector de lentivirus, adenoviral, retrovirus o baculovirus (Pág. 42, líneas 9 a 24); una composición que comprende el polinucleótido, una molécula de polipéptido de SIR, un vector o la célula y un excipiente farmacéuticamente aceptable (Pág. 93, líneas 4 a 8). También menciona que el receptor de antígeno quimérico comprende un dominio de señalización intracelular seleccionado de 41BB, CD27, OX40, CD28, Dap10, CD2, CD5, ICAM-1, LFA-1, Lck, TNFR-1, TNFR-II, Fas, CD30, CD40 o combinaciones de los mismos (Pág. 437, líneas 11 a 16).). De manera que las reivindicaciones dependientes 2 a 13, 18 a 38, 42 y 43 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

3.3. NOVEDAD – Reivindicación 1

3.3.1. La Examinadora considera que la reivindicación 1 no es nueva de acuerdo con lo divulgado en el documento D2, como muestra la siguiente comparación:

Tabla 2. Comparación de las características técnicas esenciales de la reivindicación 1, con las del documento D2

Características esenciales	D2
Al menos un polinucleótido recombinante que codifica al menos un receptor de antígeno quimérico (CAR) de primera o próxima generación, comprendiendo el al menos un polinucleótido recombinante:	Un polinucleótido recombinante que codifica un receptor de antígeno quimérico (abTCR) que comprende: (Pág. 79, Párr. [0210], Pág. 232, Reiv. 31)
(a) un primer dominio de ácido nucleico que codifica un dominio transmembrana y / o citoplasmático parcial o completo de una proteína endógena, donde la proteína endógena se expresa en la superficie de los linfocitos	Una primera cadena que comprende un primer dominio de unión a antígeno que contiene los dominios de anticuerpo VH y CH1 y un primer dominio receptor de células T (TCRD) que contiene un primer dominio transmembrana de una primera subunidad TCR (Pág. 229, Reiv. 1, Figs. 1A y 1B)
(c) un segundo dominio de ácido nucleico unido operativamente al primer dominio de ácido nucleico,	Una segunda cadena que comprende un segundo

en el que el segundo dominio de ácido nucleico codifica uno o más dominios de unión al antígeno TCR no naturales	dominio de unión a antígeno que contiene los dominios de anticuerpo VL y CL y un segundo dominio receptor de células T (TCRD) que contiene un segundo dominio transmembrana de una segunda subunidad TCR (Pág. 229, Reiv. 1, Figs.1A y 1B)
--	---

La Examinadora además señala que las SEQ D2 menciona que los dominios VH y CH1 del primer dominio de unión a antígeno y los dominios VL y CL del segundo dominio de unión a antígeno forman un módulo que se une al antígeno diana y que el primer dominio receptor de células T (TCRD) y el segundo TCRD forman un módulo receptor de células T (TCRM) que es capaz de reclutar al menos un módulo de señalización asociado a TCR (Pág. 229, Reiv. 1). También menciona que el primer y segundo TCRD comprenden un dominio intracelular que contiene una secuencia de señalización intracelular coestimuladora y que el módulo de señalización asociado a TCR puede ser CD3 zeta (Pág. 7, Párrs. [0019] – [0020]). De igual manera, divulga que la secuencia de señalización coestimuladora puede derivarse de CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, ICOS, el antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1), CD2, CD7, LIGHT, NKG2C o B7-H3 (Pág. 31, Párr. [0140]).

Adicionalmente, el documento D2 divulga la SEQ ID NO: 48 que es 100% idéntica a la SEQ ID NO: 12638 reclamada en la solicitud. De manera que las reivindicaciones dependientes 2 a 5, 7 a 11, 13, 18, 19, 21, 23 a 27, 29 a 38, 42 y 43 tampoco cumplen con el requisito de novedad.

3.4. ARGUMENTOS A FAVOR DE LA NOVEDAD DE LA INVENCIÓN

3.4.1. La novedad se define mediante el artículo 16 de la Decisión 486 de la siguiente manera:

“Artículo 16.- Una invención se considerará nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica. El estado de la técnica comprenderá todo lo que haya sido accesible al público por una descripción escrita u oral, utilización, comercialización o cualquier otro medio antes de la fecha de presentación de la solicitud de patente o, en su caso, de la prioridad reconocida. (...)”

3.4.2. La solicitante señala que, tras el cambio realizados del capítulo reivindicatorio, la presente invención es novedosa frente a los documentos D1 y D2 ya que ninguno de los documentos describe un receptor inmunitario sintético-CD3z (zSIR) que comprende dos cadenas CD3z, en dónde un fragmento vL de un anticuerpo está operativamente unido a una de las dos cadenas CD3z y un fragmento vH complementario del anticuerpo está operativamente unido a la otra de las dos cadenas CD3z.

3.4.3. Específicamente, D1 enseña un receptor inmune sintético (SIR) que comprende una cadena constante TCRa humana en fusión con el dominio extracelular, el dominio transmembrana y el dominio citosólico de una primera cadena zeta CD3 humana y una cadena constante TCRb humana en fusión con el dominio extracelular, el dominio transmembrana y el dominio citosólico de la segunda cadena zeta CD3

humana, mientras que la nueva reivindicación 1 describe un zSIR que carece de las cadenas constantes TCRA o TCRb. Adicionalmente, la fecha de publicación de D1 (07 de junio de 2018) es **posterior** a la fecha de prioridad de la presente invención (01 de junio de 2018), aunque entendemos que por ser una solicitud colombiana se tiene en cuenta que *“la fecha de presentación o de prioridad fuese anterior a la fecha de presentación o de prioridad de la solicitud de patente que se estuviese examinando”*, pero la realidad es que la solicitante no habría tenido acceso a este documento hasta que se publicó el 07 de junio de 2018.

3.4.4. En el caso de D2, este documento enseña un Ab-TCR en el que los fragmentos vL y vH de un anticuerpo están unidos a las regiones de cadena constante truncada TCRα/TCRβ o TCRγ/TCRδ. La construcción Ab-TCR de D2 es estructural y funcionalmente distinta del zSIR de la presente invención y carece de cualquier cadena CD3z. El Ab-TCR de D2 es un heterodímero que comprende TCRα/TCRβ o TCRγ/TCRδ dominios transmembrana. Así, los dos dominios transmembrana de un Ab-TCR derivan de proteínas diferentes y son estructural y funcionalmente distintos. Es decir que D2 no proporciona un constructo en el que los fragmentos vL y vH de un anticuerpo estén unidos a dos cadenas CD3z. Por el contrario, el zSIR de la presente invención es un homodímero de dos cadenas CD3z, es decir, ambos dominios transmembrana de un zSIR derivan de CD3z.

3.4.5. Además, el Ab-TCR divulgado en D2 carece de un dominio de activación que contenga ITAM y depende del reclutamiento de proteínas adaptadoras (por ejemplo, CD3ε,CD3γ, CD3δ and CD3ζ) para su actividad de señalización. En cambio, el zSIR de la presente invención comprende dos cadenas CD3ζ (o CD3z), cada una de las cuales contiene 3 motivos ITAM. Se ha demostrado que los dominios coestimuladores son esenciales para la supervivencia, proliferación y persistencia de las células CAR-T. Finalmente, el Ab-TCR de D2 carece de un dominio coestimulador, mientras que, algunas modalidades de la presente invención, pueden comprenden incorporarse un dominio coestimulador en una o ambas cadenas de un zSIR.

3.5. NIVEL INVENTIVO - Reivindicación 14

3.5.1. La Examinadora considera que D2 es el estado de la técnica más cercano a la invención definida en la reivindicación 14, como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 3. Comparación de las características técnicas esenciales de la reivindicación 14 con las del documento D2 y D3

Características esenciales	D2	D3
Al menos un polinucleótido recombinante que codifica al menos un receptor de antígeno quimérico (CAR) de primera o próxima generación, comprendiendo el al menos un polinucleótido recombinante	Un polinucleótido recombinante que codifica un receptor de antígeno quimérico (abTCR) que comprende: (Pág. 79, Párr. [0210], Pág. 232, Reiv. 31)	Un receptor de antígeno quimérico que comprende (Pág. 6939, Col. Izq., Párr. 2, Pág. 6941, Fig. 1A)

(a) un primer dominio de ácido nucleico que codifica un dominio transmembrana y/o citoplasmático parcial o completo de una proteína CD3z endógena donde la proteína endógena se expresa en la superficie de los linfocitos.	Una primera cadena que comprende un primer dominio de unión a antígeno que contiene los dominios de anticuerpo VH y CH1 y un primer dominio receptor de células T (TCRD) que contiene un primer dominio transmembrana de una primera subunidad TCR (Pág. 229, Reiv. 1, Figs. 1A y 1B)	Un dímero que comprende cada uno: un anticuerpo de cadena sencilla anti-CEA MFE23 unido a la cadena CD3 zeta (Pág. 6939, Col. Izq., Párr. 2, Pág. 6940, Col. Der., Párr. 2, Pág. 6941, Fig. 1A)
(c) un segundo dominio de ácido nucleico unido operativamente al primer dominio de ácido nucleico, en el que el segundo dominio de ácido nucleico codifica uno o más dominios de unión al antígeno TCR no naturales	Una segunda cadena que comprende un segundo dominio de unión a antígeno que contiene los dominios de anticuerpo VL y CL y un segundo dominio receptor de células T (TCRD) que contiene un segundo dominio transmembrana de una segunda subunidad TCR (Pág. 229, Reiv. 1, Figs.1A y 1B)	
en el que un fragmento vL de un anticuerpo está operativamente unido a una de las dos cadenas CD3z y un fragmento vH del anticuerpo está operativamente unido a la otra cadena CD3z.	No se menciona	

3.5.2. La Examinadora señala que la diferencia entre la invención definida en la reivindicación 14 y el polinucleótido que codifica un receptor de antígeno quimérico divulgado en D2, consiste en que el CAR reclamado comprende un fragmento VL de un anticuerpo unido a una cadena CD3z y un VH unido a otra cadena CD3z. Sin embargo, el incluir dos cadenas CD3z unidas a dominios de unión a antígeno en un receptor de antígeno quimérico, ya está divulgado en D3 que se refiere a un receptor de antígeno quimérico que comprende un dímero, donde cada dímero contiene un anticuerpo de cadena sencilla anti-CEA MFE23 unido a la cadena CD3 zeta. En consecuencia, la persona normalmente versada en la materia estaría motivada a incluir las cadenas CD3z unidas a dominios de unión a antígeno del D3 en el receptor de antígeno quimérico de D2, para así llegar al objeto de la reivindicación 14, y las reivindicaciones dependientes 15 a 17 no mencionan alguna característica que, junto con las características de la reivindicación independiente, aporte nivel inventivo al polinucleótido que codifica un receptor de antígeno quimérico de la reivindicación 14, por lo cual se considera que carecen de nivel inventivo.

3.6. ARGUMENTOS A FAVOR DEL NIVEL INVENTIVO DE LA INVENCIÓN

3.6.1. El nivel inventivo de una solicitud se define en la Decisión 486 como:

“Artículo 18. Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica.”

3.6.2. La Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad elaborada por la Delegatura de Propiedad Industrial de la SIC establece los siguientes indicios de la existencia de nivel

inventivo:

"2.13.5.3.1 Indicios de la existencia de nivel inventivo

En las siguientes situaciones se considera que hay indicios de nivel inventivo:

- *Problema técnico sin resolver antes de la invención*
- *Si la invención reivindicada resuelve un problema técnico que se ha intentado resolver desde mucho tiempo atrás pero no se había logrado con éxito, la invención tiene nivel inventivo porque representa un avance tecnológico.*
- *Superación de un prejuicio técnico (...).*
- *Simplicidad: reemplazo de máquinas o procedimientos complicados por versiones más simples.*
- *Efecto técnico sorprendente.*
- *Superación de dificultades no resueltas por las técnicas rutinarias (...)."¹*

3.6.3. Precisamente, las enseñanzas contenidas en D2 y D3 no llevan de forma inmediata a la invención propuesta en las reivindicaciones de la presente solicitud por cuanto los documentos D2 y D3, a pesar de que se refieren a invenciones relacionadas con la presente invención, no proporcionan una solución al problema que se pretende resolver con el polinucleótido recombinante de la presente solicitud, considerando que, después de las modificaciones presentadas como respuesta al presente Oficio, a partir ninguno de los documentos del estado de la técnica se puede llegar a la invención definida en la presente solicitud.

3.6.4. La solicitante señala que los zSIR de la presente invención tiene una ventaja comercial sobre Ab-TCR de D2 ya que se sabe que las células T causan la enfermedad injerto contra huésped (EICH) y, por tanto, no pueden utilizarse para la terapia CAR-T alogénica a menos que se eliminen sus cadenas TCR. De hecho, está aumentando el interés comercial en el uso de células distintas de las células T para la terapia celular. Por ejemplo, existe un interés creciente en el uso de células NK y macrófagos que expresan receptores de antígenos quiméricos (CAR) para la terapia celular. Sin embargo, el Ab-TCR de D2 depende de las cadenas CD3ε,CD3γ, CD3δ, CD3ζ para su expresión. Como tal, el Ab-TCR sólo puede expresarse en células (por ejemplo, células T) que expresen las cadenas CD3ε,CD3γ, CD3δ, CD3ζ de forma endógena o que estén diseñadas para expresar las cadenas CD3ε,CD3γ, CD3δ, CD3ζ . Así, los Ab-TCR muestran una expresión o actividad limitada o nula en células, como las células NK o los monocitos/macrófagos, que carecen de la expresión de las cadenas CD3ε,CD3γ, CD3δ, CD3ζ. Como tal, el diseño Ab-TCR no es adecuado para la generación de NK-CAR o CAR de macrófagos. Por el contrario, el zSIR de la presente invención no requiere la presencia de las cadenas CD3ε,CD3γ, CD3δ, CD3ζ para su expresión y puede expresarse y mostrar actividad funcional en cualquier tipo celular, incluyendo células NK o monocitos/macrófagos. Esto se demostró en la sección [00904] de la solicitud de patente PCT/US2022/017177 en la que un constructo zSIR (CD8SP-hCD19-EUK-5-13-vL-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK-5-13-vH-IgG1-

¹ Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitido por la Superintendencia de Industria y Comercio, Delegatura para la Propiedad Industrial, Dirección de Nuevas Creaciones. Año 2014. Página 134.

CH1-KPN-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-Xba-PAC (SEQ ID (ADN): 2277y SEQ ID NO (PRT): 4671) se expresó en líneas celulares NK92MI, una línea celular derivada de células NK. Este constructo mostró una expresión muy alta, actividad citotóxica y activación de NF-κB como se describe a continuación en las siguientes secciones del PCT/US2022/017177:

3.6.4.1. [00904] El experimento se repite con células NK92MI que expresan diferentes SAR de nueva generación. Como se muestra en la siguiente tabla, las células NK92MI que expresan el SAR (SEQ ID NO: 2277) mostraron una unión muy alta a la proteína de fusión CD19-Nluc en el ensayo Topanga. Las células NK92MI que expresan DAP10-SAR (SEQ ID NO: 2275) también mostraron una modesta unión a CD19.3.

TABLA 51	Promedio	SD
Parental	108	7
SEQ ID NO: 2275	648	189
SEQ ID NO: 2278	145	2.8284
SEQ ID NO: 2277	49100	5081
SEQ ID NO: 5141	1274	349

3.6.4.2. [00905] Ensayo de actividad citotóxica in vitro. Las células NK92 o T no infectadas o aquellas que expresan un vector de control o SAR se cocultivan con las líneas celulares diana que expresan una forma no secretora de una luciferasa (como GLuc, NLuc, Turboluc 16, etc.) durante 4-96 horas y se examina la inducción de lisis celular midiendo la actividad de la luciferasa como se describe en PCT/US17/52344. Como se muestra en la siguiente tabla, las células NK92MI que expresan el SAR (SEQ ID NO: 2277) mostraron la citotoxicidad más alta medida por el ensayo Matador. Las células NK92MI que expresan DAP10-SAR (SEQ ID NO: 2275) también mostraron una citotoxicidad modesta.

[00906] **TABLA 52**

Ensayo RAJI-MATADOR ASSAY	Promedio	SD
Medium	9308	634
Parental	39075	3842
SEQ ID NO: 2278	39424	366
SEQ ID NO: 2275	53450	2739
SEQ ID NO: 2277	89496	2318
SEQ ID NO: 5141	37447	981

3.6.4.3. [00907] Ensayo de activación de NF-κB. Las células Jurkat se modificaron para expresar ADNc de luciferasa de luciérnaga (Luc) bajo un promotor sensible a NF-κB. Las células se infectaron posteriormente con vectores lentivirales que codifican las siguientes construcciones de SRA para generar células que expresan de forma estable las diferentes SRA. Las células Jurkat-NF-κB que expresaban los diferentes SRA se co-cultivaron con células RAJI-wt (CD19+ve) o RAJI-CD19-KO (CD19-null) durante 24 horas y se midió la

actividad luciferasa. La Tabla 53 adjunta muestra la inducción de la actividad NF-κB por células Jurkat que expresan los SAR con SEQ ID NO: 2275 y 2277. No hubo inducción de NF-κB por el SAR NKp46 con SEQ ID NO: 1860.

TABLA 53

SAR NAME	Promedio		Raji		Std Dev		Raji
	alone	Raji-CD19-KO			alone	Raji-CD19-KO	
SEQ ID NO: 2275	448	681	991		79	113	91
(SEQ ID NO: 2277)	670	995	1602		137	118	224
SEQ ID NO: 1860	572	1337	843		20	88	647
SEQ ID NO: 5141	572	853	2104		74	4	952

3.6.4.4. Se observaron resultados esencialmente similares con dos constructos zSIR adicionales CD8SP-hu-mROO5-1-vL-xho-IgCL-Bam-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-SP-hu-mROO5-1-vH-Mlu-IgG1-CH1-Kpn-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC (SEQ ID NO (ADN): 2289 y SEQ ID NO(PRT): 4683) y CD8-hCD19-EUK5-13-vL-IgCL-Xho-CD3zECDTMCP-opt-F-P2A-Spe-SP-Bst-hCD19-EUK5-13-vH-IgG1-CH1-Mlu-CD3zECDTMCP-opt2-F-F2A-PAC (SEQ ID NO(ADN): 2291 y SEQ ID NO(PRT): 4685). Como se muestra en la Tabla 58 del documento PCT/US2022/017177, estas dos construcciones mostraron una citotoxicidad significativa contra las células RAJI y NALM6 que expresaban CD19, mientras que las líneas celulares negativas para CD19 (por ejemplo, RAJI-CD19-KO, THP1 y U937) fueron relativamente menos afectadas.

3.7. Finalmente, D3 describe un receptor de antígeno quimérico en el que un fragmento variable de cadena única (scFv) está unido a un dominio transmembrana y citosólico CD3z, es decir que D3 no describe un receptor en el que el fragmento vL de un anticuerpo está unido a una cadena CD3z y un fragmento vH complementario de ese anticuerpo está unido a una segunda cadena CD3z como si lo hace la presente invención, Además, el zSIR de la nueva reivindicación 1 comprende dos cadenas de polinucleótidos mientras que el CAR de D3 comprende una única cadena de polinucleótidos.

3.8. Adicionalmente, el zSIR de la nueva reivindicación 1 no comprende un scFv, ya que se sabe que el fragmento scFv de las construcciones CAR conduce a la autoagregación y a la señalización tónica, lo que da lugar al agotamiento temprano de las células T. Es decir que los zSIR de la presente invención ofrecen una ventaja comercial sobre los CAR de D3 ya que son menos propensos a la señalización tónica y al agotamiento temprano de las células T.

3.9. Teniendo en cuenta lo anterior, las nuevas reivindicaciones 1 a 13 son novedosas y tienen nivel inventivo frente a las invenciones reclamadas en los documentos D1, D2 y D3.

4. Se presenta junto con este escrito un capítulo reivindicatorio modificado en donde se incluyen los

cambios expuestos en el presente documento. Para facilidad de análisis, se incluye además una versión de las reivindicaciones con los cambios resaltados.

5. La solicitante, adicionalmente, presenta el pago de tasa por modificación de las reivindicaciones.

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

Atentamente,



ANDREA TOBOS MATEUS

C.C. 52.223.325 de Bogotá

T.P. 148648

tobos@tobos.com.co

15600210co_memorial10a_161123.docx