

P-2022/18738

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

Re: Solicitud de patente No. **NC2020/0015994** a nombre de **INSTITUTO DISTRITAL DE CIENCIA BIOTECNOLOGIA E INNOVACIÓN EN SALUD - IDCBIS**.

Yo, CAROLINA DAZA MONTALVO identificada como aparece al pie de mi firma, domiciliada en la Carrera 11 No. 86-53, obrando como apoderada de la sociedad **INSTITUTO DISTRITAL DE CIENCIA BIOTECNOLOGIA E INNOVACIÓN EN SALUD -IDCBIS**, domiciliada en Bogotá D.C., Colombia, solicitante de la patente de la referencia, en respuesta al Oficio No. 1536 notificado electrónicamente el 31 de enero de 2024, relacionado con el requerimiento de fondo de la solicitud, atentamente me permito presentar la siguiente información:

1. Modificación a las Reivindicaciones

Con fundamento en la facultad que confiere el Artículo 34 de la Decisión 486 al solicitante para modificar la solicitud de patente en cualquier momento del trámite, presento junto con este memorial un nuevo capítulo reivindicatorio, el cual consta de nueve (9) reivindicaciones y reemplaza completamente el capítulo presentado el 18 de diciembre de 2020. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

- 1.1** Se modificó el encabezado de la reivindicación 1 de modo que ahora indica que el método reclamado también permite separar las células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Esta modificación encuentra soporte en la descripción como fue originalmente presentada, por ejemplo, en la página 7, en donde se señala que el método de la invención puede ser de utilidad separar y recolectar las células precursoras hematopoyéticas (CPH):

"De hecho, la capacidad migratoria de las CPH puede usarse con fines de separar CPH de mezclas celulares y recolectarlas para su uso en terapia celular, de tal manera que el método aquí descrito puede emplearse para purificar CPH de distintas fuentes para su uso clínico" (Énfasis fuera del texto).

1.2 Además, se modificó la reivindicación 1 de modo que:

- Se estableció que la incubación de la etapa a) se da por entre 12 a 24 horas en una superficie o compartimiento haptotáctico. Esta modificación se encuentra sustentada en la descripción como fue originalmente presentada, por ejemplo, en el tercer párrafo de la página 10, que menciona que un sustrato haptotáctico está fijado en el compartimiento o superficie de adhesión:

"En cualquier caso, en el dispositivo, el compartimiento celular y el compartimiento quimiotáctico están separados a través del compartimiento/superficie de adhesión, que permite fijar el sustrato adherente (haptotáctico) y permite el paso de las células a través del mismo" (Énfasis fuera del texto)

Por lo tanto, la descripción de la solicitud permite comprender que el compartimiento de adhesión es, de hecho, un compartimiento haptotáctico. Asimismo, en el tercer párrafo de la página 11, que indica que:

"Así, la etapa de incubación de la solución de adhesión consiste en preparar el compartimiento de adhesión adicionando la solución de adhesión e incubar durante 12 a 24 horas..." (Énfasis fuera del texto)

- Se estableció que el buffer de migración de la etapa b comprende un agente quimiotáctico que incluye un medio de cultivo condicionado obtenido de un cultivo de hasta 24 horas de células estromales mesenquimales expandidas en tercer y hasta sexto pase. Esta modificación se encuentra sustentada en la descripción como fue originalmente presentada, por ejemplo, en el párrafo entre las páginas 9 y 10, que menciona las características del buffer de migración:

"Para efectos de la presente invención, el "buffer de migración" es una composición en la cual se suspenden las células para llevar a cabo el proceso de migración... En una modalidad particular, el buffer de migración comprende un agente quimiotáctico. Un "agente quimiotáctico" corresponde a una sustancia que induce a las CPH a migrar hacia el NH... Así, el agente quimiotáctico se selecciona entre,

sin limitarse a ... medios condicionados de células estromales mesenquimales (MeCoCEM), o mezclas de los mismos"

Los resultados de los ejemplos 1 a 7, así como las figuras 4 y 7, respaldan las modificaciones antes mencionadas, pues demuestran el efecto de migración diferencial logrado por los medios de cultivo de acuerdo con lo mencionado en la nueva reivindicación.

- Se indicó que la incubación de la etapa c se lleva a cabo por entre 2 y 5 horas a 37°C con una atmosfera de entre 3 y 5% de CO₂. Esta modificación se encuentra sustentada en la descripción como fue originalmente presentada, por ejemplo, en el cuarto párrafo de la página 11, que menciona las características de la incubación en el buffer de migración:

"Adicionalmente, la incubación de la fase celular de una fuente de CPH en el buffer de migración en el compartimento celular ocurre de 2 a 5 horas a 37°C con una atmósfera entre 3 y 5% de CO₂"

- Se estableció que la técnica empleada para la contabilización de las células en la etapa d) es la citometría de flujo, de acuerdo con lo mencionado en el cuarto párrafo de la página 11:

"Finalmente, de acuerdo con el método de la presente invención, las células que migran desde el compartimento celular hacia el compartimento quimiotáctico y que se recolectan en el compartimento quimiotáctico se pueden contabilizar por cualquier método conocido en la técnica, tales como citometría de flujo..."

- Además, se introdujo un nuevo paso e) que define la manera en la que se calcula la migración celular, tal como se describe en los ejemplos 2 y 3 de la solicitud.

- 1.3** Se incluyó una nueva reivindicación 2 en la que se mencionan los agentes presentes en los medios condicionados de cultivo incluidos en el buffer de migración, de acuerdo con la divulgación del primer párrafo de la página 12.

- 1.4** Se modificó la antigua reivindicación 3 (nueva reivindicación 4) para indicar que la concentración de las moléculas de adhesión está en el orden de $\mu\text{g/ml}$, de acuerdo con la divulgación del segundo párrafo de la página 9.
- 1.5** Se introdujo una nueva reivindicación 5 relacionada con las características del medio condicionado. Esta reivindicación encuentra soporte en el segundo párrafo de la página 10, mencionado previamente, y en el cuarto párrafo de la página 14 (Ejemplo 3).
- 1.6** Se ajustó la redacción de la antigua reivindicación 7 (nueva reivindicación 7) de acuerdo con las limitaciones de la nueva reivindicación 1.
- 1.7** Se ajustó la numeración y la dependencia de la antigua reivindicación 5 (nueva reivindicación 8) de acuerdo con las modificaciones introducidas en la reivindicación 1.
- 1.8** Se ajustó la numeración y la dependencia de la antigua reivindicación 6 (nueva reivindicación 9) de acuerdo con las modificaciones antes mencionadas.
- 1.9** Se eliminó la antigua reivindicación 8.
- 1.10** Se ajustó la numeración, la dependencia y el lenguaje de las reivindicaciones de acuerdo a los cambios antes mencionados.

Visto lo anterior, me permito señalar que las modificaciones realizadas no amplían de ninguna manera la materia objeto de la presente solicitud y se realizan con el ánimo de superar las objeciones de claridad y patentabilidad planteadas por el examinador en su concepto técnico.

2. Sobre la claridad y la concisión de las Reivindicaciones

El solicitante desea manifestar que mediante el nuevo capítulo reivindicatorio quedan subsanadas la totalidad de las objeciones, ya que las nuevas reivindicaciones definen la invención de manera clara y concisa, cuentan con pleno soporte en la descripción de la solicitud en estudio, y además siguen las recomendaciones realizadas por el examinador en su concepto técnico. En particular, frente a cada objeción, me permito señalar lo siguiente:

- 2.1** El examinador señala que la reivindicación 1 no sería clara, toda vez que no define las características técnicas esenciales necesarias para que la persona normalmente versada en la materia pueda implementar el método reclamado. En este sentido, el examinador considera necesario que la reivindicación sea modificada a fin de definir de manera concreta las condiciones específicas para desarrollar el método de la invención.

En vista de esta observación, el solicitante ha decidido modificar la reivindicación 1 para definir de manera más concreta las condiciones en las que se lleva a cabo la incubación de las etapas a) y c), las características del buffer de migración de la etapa b) y la metodología empleada para la recolección y el conteo de las células de la etapa d). Además, la reivindicación fue modificada a fin de incluir una etapa e), en la que se explica la forma en la que se calcula la migración celular.

De esta manera, en la nueva reivindicación 1 se establecen los tiempos de incubación y las condiciones de este, y se indica que el buffer de migración comprende un agente quimiotáctico que incluye un medio condicionado obtenido de un cultivo de hasta 24 h de células estromales mesenquimales expandidas en tercer y hasta sexto pase.

Ahora bien, en relación con las afirmaciones del examinador sobre la necesidad de incluir la composición específica de la solución de adhesión de la etapa a), la concentración específica del buffer de migración de la etapa b), así como las temperaturas y composición de la atmósfera en la etapa de incubación, el solicitante desea manifestar su desacuerdo.

En este sentido, me permito llamar la atención del examinador a las disposiciones del numeral 4.3.1 de la Guía Para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad emitida por la Superintendencia de Industria y Comercio, que señala:

"4.3.1. Contenido de las reivindicaciones

Las reivindicaciones deben contener todas las características técnicas esenciales de la invención

Las características técnicas esenciales son:

- *las que definen la invención,*

- *las que la hacen (o deberían hacerla) diferente del estado de la técnica, y*
- *las que constituyen la solución al problema técnico que intenta resolver la invención.*

Si una reivindicación independiente contiene todas las características técnicas esenciales de la invención, no se deberá requerir que mencione también otras características estructurales” (énfasis añadido)

Tal como se mencionó previamente, la presente invención se relaciona con una metodología que permite cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables, y separar dichas células. Esta metodología se caracteriza por:

- la medición de la capacidad de migración celular lograda por un gradiente de concentración de un estímulo quimiotáctico desde una concentración menor (en el compartimento celular), hacia una concentración mayor (en el compartimento quimiotáctico), y
- la aplicación de los medios condicionados de células estromales mesenquimales (MeCoCEM) como estímulos quimiotácticos que inducen las CPH a migrar,

Estas características se definen en la nueva reivindicación 1, proporcionando así la información necesaria para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención y para diferenciar la materia reclamada del estado de la técnica (como se verá a continuación).

Con respecto a la sugerencia del examinador sobre la necesidad de incluir la concentración del buffer de migración, es importante tener en cuenta que los medios de cultivo condicionados son mezclas complejas que comprenden múltiples componentes en un rango amplio de concentraciones, por lo tanto, no es posible establecer una composición específica estándar para los mismos.

Los inventores buscaron aproximarse a este asunto por medio de la identificación de algunos de los factores comunes presentes, de esta forma, en el ejemplo 1 de la solicitud se realizó una caracterización de los condicionados de células mesenquimales estromales en los pases 3 y 6 (Ver Figuras 3A y 3B) con base en un kit comercial que permite detectar la presencia de algunas citoquinas. Estos resultados sirven como base para la nueva reivindicación 2. No obstante, tal como lo comprendería una persona normalmente versada en la materia, esta caracterización dista mucho de ser una cuantificación de las citoquinas (mucho menos de todos los componentes) presentes en

los medios condicionados, por lo que no sería adecuado limitar el alcance de la reivindicación 1 a los resultados del ejemplo 1.

Sin embargo, con la intención de facilitar el trámite de la solicitud, el solicitante ha decidido limitar el alcance de la reivindicación estableciendo un límite temporal para el cultivo celular de las células estromales mesenquimales (hasta 24 horas) necesario para la obtención de un medio de cultivo condicionado adecuado para la realización del método de la invención. Esta selección se basa en los resultados mostrados en los ejemplos 4 y 7 de la solicitud, que se discutirán en detalle más adelante.

Ahora bien, tal como lo sabe la persona normalmente versada en la materia, las condiciones específicas de un cultivo celular (tales como las composiciones específicas de los medios de cultivo, e incluso, las temperaturas y concentración de CO₂, etc.) deben ser optimizadas al momento de establecer un cultivo celular funcional, pues dependen de las células y las condiciones experimentales disponibles.

Por otra parte, el solicitante desea resaltar que las moléculas de adhesión celular han sido plenamente descritas en el estado de la técnica, y las composiciones que las comprenden son comercializadas de forma habitual para su uso en ensayos de adhesión. Por lo tanto, la persona normalmente versada en la materia también comprendería que existen diversas alternativas disponibles en el mercado que permitirían la adhesión de células *in vitro*.

Esto se demuestra en las páginas 8 y 9 de la descripción, en donde se señala que:

De acuerdo con la presente invención, una "solución de adhesión" se entiende como una solución que contiene moléculas de adhesión celular, es decir, aquéllas que median la adhesión célula a célula o la adhesión de la célula con la matriz extracelular. Como es sabido por cualquier persona medianamente versada en la materia, las moléculas de adhesión comprenden cuatro grandes familias, a saber, familia de integrinas, de inmunoglobulinas, de selectinas y de cadherinas.

Por lo tanto, la persona normalmente versada estaría en capacidad de seleccionar una alternativa de solución de adhesión que pueda ser empleada en el método de la invención. Además, el solicitante desea resaltar que la invención no se relaciona con proporcionar soluciones específicas para la adhesión celular, sino con metodologías para

seleccionar células a partir de la migración inducida por un estímulo contenido en un medio de cultivo condicionado de células estromales mesenquimales.

Por lo tanto, ni el tipo de moléculas de adhesión empleadas, ni la concentración de las mismas, son características esenciales de la invención, y, por lo tanto, no es necesario limitar la reivindicación independiente estableciendo particularidades relacionadas con estas.

En vista de lo anterior, respetuosamente solicito que la objeción al respecto sea retirada.

- 2.2** Del mismo modo, el examinador señala que la reivindicación 1 no tendría sustento en la descripción, pues el lenguaje empleado es muy general y abarcaría múltiples opciones no exploradas en la solicitud. En este sentido, el examinador sugiere limitar el objeto reclamado a una razonable generalización de los métodos divulgados en la descripción de la solicitud.

Al respecto me permito resaltar que, aun cuando el solicitante no comparte la opinión del examinador, pues el método reclamado encuentra pleno sustento en los ejemplos de la solicitud, ha realizado una drástica limitación en la nueva reivindicación 1, de forma que ahora se menciona que el buffer de migración comprende un medio de cultivo condicionado de células estromales, de acuerdo con lo divulgado en los ejemplos 1 y 4, y la forma en la que se realiza el conteo y la recolección de las células por medio de citometría de flujo (como se describe en los ejemplos 2 y 3).

Por lo tanto, respetuosamente solicito que la objeción con respecto al sustento en la descripción se dé por superada.

- 2.3** Por último, el examinador señala que la reivindicación 3 tampoco estaría sustentada en la descripción porque el rango de concentración mencionado para las moléculas de adhesión en la solución de adhesión no se correlaciona con la divulgación de la solicitud.

Al respecto me permito resaltar las modificaciones realizadas en la nueva reivindicación 4, en donde se establece que la concentración de las moléculas de adhesión es del orden de $\mu\text{g/ml}$, tal como se menciona en las líneas 7 y 8 de la página 9 de la solicitud. Por lo tanto, la objeción ha sido superada.

En consecuencia, me permito indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye ocho (8) reivindicaciones, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

4 Descripción

El examinador indica que la descripción no divulga la materia reclamada de manera suficiente para que una persona normalmente versada en la materia pueda ejecutarla o reproducirla, y señala que la descripción únicamente proporciona soporte para un método específico caracterizado por una serie de pasos y condiciones particulares, como se describe en los ejemplos 2 y 3. Por lo tanto, el examinador considera que la descripción de la solicitud no cumpliría con las disposiciones del Art. 28 de la Decisión Andina 486.

Al respecto, me permito manifestar mi desacuerdo con la opinión del examinador, pues las reivindicaciones presentadas junto a este escrito corresponden a una adecuada generalización de los ejemplos presentados en la solicitud. En este sentido, es pertinente tener en cuenta que el capítulo reivindicatorio fue drásticamente limitado, y ahora se refiere a metodologías para cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables, y separar dichas células, con base en la migración inducida por un estímulo contenido en un medio condicionado obtenido de un cultivo de células estromales mesenquimales (de hasta 24 h) expandidas en tercer, y hasta sexto pase. En donde la recolección y el conteo de las células se hace a través de citometría de flujo.

Además, me permito referirme a lo mencionado en el numeral 3.1.2 del *Manual Andino para el Examen de Patentes* con respecto a la suficiencia en la descripción, en donde se menciona:

"El propósito de la descripción es asegurar que, por un lado, la solicitud se encuentre descrita con la suficiente información técnica a detalle para que una persona capacitada en el campo técnico respectivo pueda ponerla en práctica o reproducirla, y por el otro lado, que la descripción de a conocer el aporte o el avance tecnológico en el campo técnico respectivo. La descripción debe indicar la manera en que la invención satisface la condición de ser susceptible de aplicación industrial, si ello no fuese evidente de la descripción o de la naturaleza de la invención.

La invención puede considerarse suficientemente descrita si se aporta uno o más ejemplos, modos de realización alternativos o variaciones que habilitan a la persona versada en la materia técnica para que, aplicando sus conocimientos técnicos generales, pueda poner en práctica la invención en toda el área reivindicada y no solo algunas modalidades particulares reivindicadas, sin que para ello requiera desplegar un esfuerzo inventivo. Sin embargo, la presentación de ejemplos relativos a todas las especies particulares de la invención o a cada alternativa reivindicada no será necesaria para encontrar una suficiencia de la descripción, siempre y cuando dichas especies se mencionen en esta." (énfasis añadido).

Visto lo anterior, es claro que el objetivo de las directrices actuales no es el de buscar que las reivindicaciones estén limitadas únicamente a las condiciones o características de los ejemplos presentados. Por el contrario, las pautas comunitarias de examen claramente establecen que los ejemplos deben servir como una guía para que la persona normalmente versada en el campo técnico esté en capacidad de reproducir la invención, pero que no es necesario ejemplificar cada alternativa al alcance de la reivindicación.

De esta manera, aun cuando los ejemplos de la descripción a los que hace referencia el examinador en su objeción se relacionan con una selección de elementos y condiciones específicas, esto no implica que la invención únicamente pueda ser llevada a cabo mediante la reproducción de dichas condiciones. Además, restringir el alcance de la materia reclamada únicamente a las condiciones particulares de los ejemplos resultaría en una limitación indebida, pues permitiría que terceros interesados pudieran hacer uso de la invención desarrollada por mi mandante por medio de modificaciones sencillas, por ejemplo, mediante la selección de soluciones de adhesión distintas a las establecidas en las reivindicaciones independientes.

Por lo tanto, dado que la descripción sí presenta la información necesaria para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención, y los ejemplos de la solicitud permiten establecer la generalización de las reivindicaciones, es claro que la descripción sí cumple con las disposiciones del Art. 28 de la decisión 486.

5 Novedad

El examinador establece en su concepto técnico que las antiguas reivindicaciones 1 a 3, 5, 7 y 8 carecerían de novedad a la luz de las enseñanzas técnicas descritas en el documento **D1** (Gur-Cohen S. *et al.*, Chapter 2. Stem Cell Mobilization: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology).

En este sentido, me permito resaltar que el artículo 16 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina establece que la invención se considera nueva cuando no está comprendida en el estado de la técnica. Es decir, de acuerdo con el espíritu de la norma legal indicada, la invención no se considera como nueva si está "*comprendida*" en el estado de la técnica, dicha norma se está refiriendo, naturalmente, al invento en su totalidad y no a sus componentes de manera aislada.

Por lo tanto, para considerar que el objeto de la solicitud carece de novedad, se debe contemplar como mínimo los siguientes aspectos:

- El objeto de la invención en estudio debe estar contenida de forma TOTAL y ABSOLUTA en el documento que se menciona como anterioridad; y
- La comparación del objeto de la invención en cuestión y el estado del arte no debe centrarse o limitarse a los elementos de esta que son previamente conocidos, sino de lo inédito y novedoso que la caracteriza. Esto quiere decir que debe analizarse el valor agregado que aporta la invención con sus nuevas características al campo técnico al cual pertenece la solicitud en estudio.

Lo anterior significa que para que un documento del estado de la técnica pueda afectar la novedad de una solicitud, debe revelar todas y cada una de las características técnicas que la definen.

Aplicando lo anterior al caso concreto, para que las razones que aduce ese Despacho para desvirtuar la novedad fuesen ciertas, sería forzoso que se demostrara que la invención está totalmente comprendida en el estado de la técnica, es decir, de forma individual en el documento D1, lo cual no sucede en este caso.

En particular, se hace notar que las características del medio de migración del ensayo de D1 no corresponden a las mencionadas en la etapa b) de la nueva reivindicación 1. De hecho, el documento D1 no describe los componentes de dicho medio, y parece sugerir que el estímulo utilizado es únicamente SDF-1:

"La capacidad migratoria in vitro de las células CD34 + está relacionada con la recuperación hematopoyética tras el trasplante autólogo de células madre (44). Un ensayo de trans migración inducida por SDF-1 evalúa las propiedades de motilidad de las HSPC movilizadas. El reclutamiento de HSPC del microambiente de la BM al torrente sanguíneo y viceversa, es un proceso de múltiples pasos que implica adhesión, migración dirigida y enzimas proteolíticas, que degradan la barrera de la matriz extracelular. El recubrimiento del filtro transwell con la barrera de interés, como fibronectina, células endoteliales o matrigel (que contiene proteínas de matriz extracelular que imitan parcialmente la membrana basal extracelular), puede aplicarse para evaluar la capacidad de las células para penetrar a través de una barrera artificial en condiciones semifisiológicas" (Traducción simple del primer párrafo de la página 25 de D1, énfasis añadido).

De este modo, el documento D1 no menciona que el buffer de migración comprenda un medio condicionado de células estromales mesenquimales, ni mucho menos que sea un medio obtenido por un cultivo de hasta 24 horas de células estromales mesenquimales expandidas en tercer, y hasta sexto pase.

Por lo tanto, dado el documento D1 no divulga de forma TOTAL Y ABSOLUTA las características técnicas esenciales de la materia definida en las reivindicaciones independientes de la presente solicitud, es posible manifestar que la presente solicitud cumple con el requisito de novedad estipulado en el artículo 16 de la Decisión 486.

6 Nivel inventivo

El examinador establece en su concepto técnico que las antiguas reivindicaciones 4 y 6 carecerían de nivel inventivo a la luz de la combinación de las enseñanzas descritas en los documentos **D1** (Gur-Cohen S. et al., Chapter 2. Stem Cell Mobilization: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology) y **D2** (Foguenne J. et al., Haematologica)

Con respecto a lo anterior, me permito resaltar las disposiciones del artículo 18 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, que establecen que *"se considerará que la 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"*.

Lo anterior significa que el análisis de nivel inventivo **NO** es una comparación de los objetos de las anterioridades y la solicitud en estudio. Por el contrario, el análisis de

nivel inventivo **debe demostrar** la obviedad de la invención y establecer cómo ésta no contiene un salto cualitativo, que demuestre su altura inventiva, teniendo en cuenta que se hace **necesario demostrar** que la invención analizada carece de nivel inventivo y hubiese sido obvia para una persona versada en la materia.

Ahora bien, dichas condiciones no se cumplen para el caso en cuestión, pues, tal como se mostrará más adelante, las características técnicas mencionadas en las nuevas reivindicaciones no pueden derivarse de manera obvia o evidente a partir de las enseñanzas del estado de la técnica representadas en los documentos D1 y D2, y, por lo tanto, la materia reclamada es inventiva a la luz del arte previo.

Características de la materia reclamada

En primer lugar, el solicitante desea resaltar que la presente solicitud se refiere a un método *in vitro* para cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables, y separar dichas células, que comprende las etapas de:

- a) incubar durante 12 a 24 horas en una superficie o compartimento haptotáctico una solución de adhesión;
- b) agregar en un compartimiento quimiotáctico un buffer de migración que comprende un agente quimiotáctico que incluye un medio condicionado obtenido de un cultivo de hasta 24 horas, de células estromales mesenquimales expandidas en tercer, y hasta sexto pase,
- c) suspender la fase celular de una fuente de CPH en un buffer de migración e incubarla en un compartimiento celular por entre 2 y 5 horas a 37°C con una atmósfera entre 3 y 5% de CO₂;
- d) recolectar el contenido del compartimiento quimiotáctico y contabilizar las células registradas, mediante la técnica de citometría de flujo;
- e) calcular la migración celular como los eventos inducidos recolectados en el compartimiento quimiotáctico con medio condicionado de células estromales mesenquimales, en relación a los eventos de migración basal
en donde el compartimiento celular está separado del compartimiento quimiotáctico a través de la superficie o compartimento de haptotáctico; y
en donde el compartimiento celular y el compartimiento quimiotáctico están comunicados por medio de una solución de continuidad que comprende un gradiente quimiotáctico.

Ahora bien, la actividad como agente quimiotáctico de los medios condicionados se evaluó en los ejemplos 4 y 7 de la solicitud, y se enseña en las Figuras 4 y 7. Tal como se evidencia en dichas figuras, los medios de cultivo condicionados recolectados a 24 horas poseen actividad como agentes quimiotácticos y logran inducir diferencialmente la migración CPH en células mesenquimales estromales y células leucémicas.

Diferencias de la materia reclamada y el documento D1

Ahora bien, al realizar un análisis del contenido de D1, es posible notar que este describe un método *in vitro* para evaluar las propiedades funcionales de células madre y progenitoras hematopoyéticas (células CD34+) viables.

Sin embargo, el método divulgado en D1 se basa en la trans migración inducida por una quimioquina específica: SDF-1 (factor derivado de células estromales-1, *Stromal cell-derived factor-1*, o CXCL12). D1 no se refiere al cultivo de células mesenquimales estromales, ni mucho menos sugiere las sorprendentes características funcionales de los medios condicionados de cultivo de células mesenquimales estromales o su actividad como agentes quimiotácticos. Por lo tanto, D1 no proporciona ninguna enseñanza que indique como dichos medios condicionados podrían ser aplicados en los métodos para la evaluación de migración divulgados en dicho documento.

Por el contrario, los inventores de la presente solicitud identificaron las novedosas características funcionales de los medios de cultivo condicionados de células mesenquimales estromales, y en particular, la actividad como agentes quimiotácticos de los de los medios condicionados de cultivo obtenidos a las 24 h de cultivo en los pases 3 y 6.

Efecto técnico relacionado con la diferencia con el documento D1

Ahora bien, al momento de la presentación de la solicitud, los inventores habían logrado demostrar que los medios de cultivo con dichas características inducen diferencialmente la migración de CHP en niveles comparables, e incluso mejores que los logrados con el agente quimiotáctico empleado en D1 (CXCL12, también llamado SDF-1), tanto en células mesenquimales estromales como en células leucémicas:

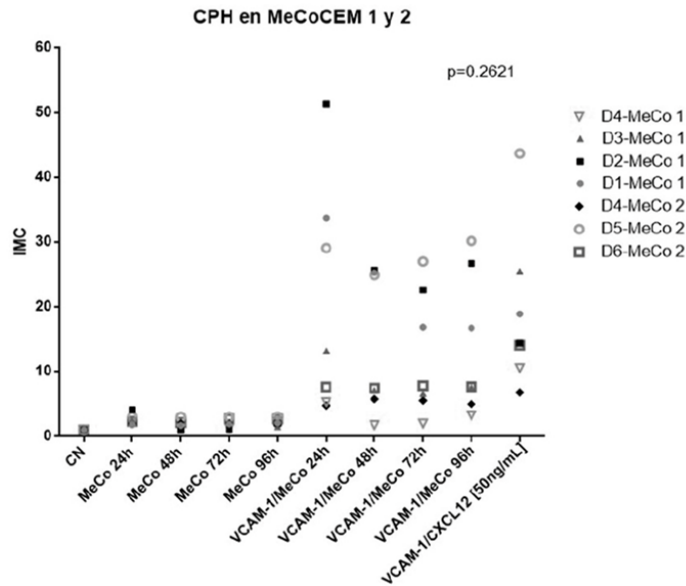


Figura 4 de la solicitud

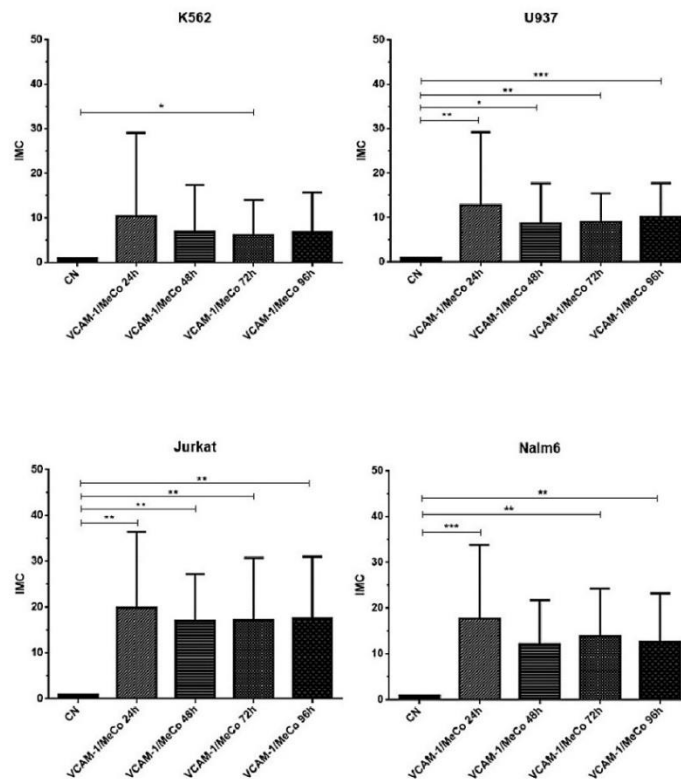


Figura 7 de la solicitud

Análisis posteriores realizados por los inventores permitieron demostrar dicho efecto en distintos donantes de sangre de cordón umbilical (SCU). Como se observa a continuación, la migración inducida por los medios condicionados de cultivo de células

mesenquimales estromales es superior a la lograda por el agente empleado en D1 (SDF-1, o CXCL12):

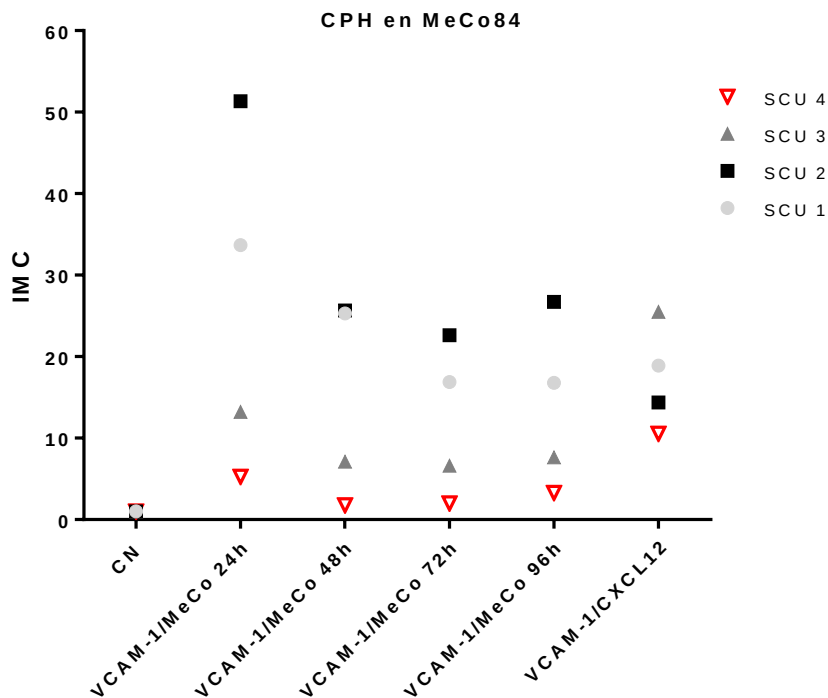


Figura A. Migración de células progenitoras hematopoyéticas de cuatro donantes de sangre de cordón umbilical (SCU), estimuladas con medios condicionados de células estromales mesenquimales de tercer pase, del donante 84, tomados en 24, 48, 72 y 96 h.

La diferencia entre D1 y la invención no es anticipada por D2

Ahora bien, de una revisión del documento D2 se puede observar que, si bien dicho documento se relaciona con un método *in vitro* para evaluar la capacidad de migración, la actividad proliferativa y la diferenciación del cultivo de células progenitoras hematopoyéticas (células CD34+) antes del trasplante, dichos métodos también se basan en la actividad de SDF-1 (CXCL-12) como estímulo quimiotáctico para lograr la migración.

D2 tampoco se relaciona con el cultivo de células estromales mesenquimales, ni mucho menos con la actividad como agente quimiotáctico de los medios condicionados obtenidos del cultivo de dichas células. En claro contraste con la presente invención, el

documento D2 no menciona que el buffer de migración comprenda un medio de cultivo condicionado, como se establece en la nueva reivindicación 1.

Por lo tanto, D2 no logra suplir las diferencias de D1, ya que no enseña ni sugiere las propiedades como agentes quimiotácticos de los medios condicionados obtenidos por el cultivo por 24 horas de células estromales mesenquimales.

Dado que, tanto D1 como D2 presentan diferencias drásticas con la presente invención, y dichas diferencias conllevan a un efecto técnico sorprendente que no podría ser anticipado por ellos, y teniendo en cuenta que D1 y D2 no proporcionan sugerencias o indicios que pudieran guiar a la persona normalmente versada en la materia hacia la presente invención, ni mucho menos al efecto técnico demostrado por los inventores, no puede considerarse que dichos documentos afecten el nivel inventivo del objeto descrito en las reivindicaciones anexas.

En vista de lo anterior, es claro que D1 y D2 no proporcionan indicaciones que conduzcan efectivamente a la persona normalmente versada en la materia a la invención como se reivindica, pues no contienen ninguna enseñanza sobre la inducción de la migración por medio de la incubación con medios condicionados de células estromales mesenquimales, es evidente que el objeto reivindicado no puede considerarse obvio y, por lo tanto, cumple con los requisitos de los artículos 14, 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

7 Conclusiones

Con las modificaciones introducidas y los argumentos presentados puede concluirse que:

- i) El nuevo pliego reivindicatorio se ajusta a las disposiciones del Artículo 34 de la Decisión 486/00;
- i) La invención de la presente solicitud es clara y cuenta con el debido sustento en el capítulo descriptivo, a la vez que se encuentra divulgada de manera suficientemente completa, cumpliendo así con los requerimientos de los Artículos 30 y 28 de la Decisión 486;
- ii) La invención de la presente solicitud no había sido divulgada previamente en el estado de la técnica cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 16 de la Decisión 486, y

- iii) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se derivada de manera evidente del estado de la técnica, cumpliendo así con los requerimientos del Artículo 18 de la Decisión 486.

Por tanto, atentamente me permito solicitar a ese Despacho otorgar el privilegio de patente solicitado a la solicitud en estudio, toda vez que cumple a cabalidad con los requerimientos de la Decisión 486/00.

En consecuencia, solicitamos a ese Despacho pronunciarse en relación con todos los argumentos presentados en este memorial dando estricta aplicación al principio del debido proceso consagrado en el artículo 29 de la Constitución Nacional.

8 Pago de tasas

En primer lugar, teniendo en cuenta que se presenta un nuevo capítulo reivindicatorio, me permito adjuntar recibo por concepto de pago de tasa de modificación a la solicitud, según lo establecido en la **Resolución No. 59669 de 2020**.

Por otra parte, en relación con el número de reivindicaciones, atentamente me permito decir que no se adjunta pago de tasa por concepto reivindicaciones adicionales, toda vez que el nuevo capítulo reivindicatorio presenta menos de 10 reivindicaciones.

9 Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por nueve (9) reivindicaciones.
- Comprobante de pago de la tasa por modificación de la solicitud.

Señora Directora,


CAROLINA DAZA MONTALVO
C.C. 66.783.790 de Palmira Valle
TP-141563 CSJ
notificaciones@clarkemodet.com.co

REIVINDICACIONES

1. Un método *in vitro* para cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables, y separar dichas células, que comprende las etapas de:
 - a) incubar durante 12 a 24 horas en una superficie o compartimento haptotáctico una solución de adhesión;
 - b) agregar en un compartimiento quimiotáctico un buffer de migración que comprende un agente quimiotáctico que incluye un medio condicionado obtenido de un cultivo de hasta 24 horas, de células estromales mesenquimales expandidas en tercer, y hasta sexto pase,
 - c) suspender la fase celular de una fuente de CPH en un buffer de migración e incubarla en un compartimiento celular por entre 2 y 5 horas a 37°C con una atmósfera entre 3 y 5% de CO₂;
 - d) recolectar el contenido del compartimiento quimiotáctico y contabilizar las células registradas, mediante la técnica de citometría de flujo;
 - e) calcular la migración celular como los eventos inducidos recolectados en el compartimiento quimiotáctico con medio condicionado de células estromales mesenquimales, en relación a los eventos de migración basal;en donde el compartimiento celular está separado del compartimiento quimiotáctico a través de la superficie o compartimiento de haptotáctico; y
en donde el compartimiento celular y el compartimiento quimiotáctico están comunicados por medio de una solución de continuidad que comprende un gradiente quimiotáctico.
2. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio condicionado de cultivo de células estromales mesenquimales comprende una mezcla de agentes que incluye Eotaxina, HGF, IL-6, IL8, MCP-1, VEGF-1 y G-CSF.
3. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde la solución de adhesión comprende moléculas de adhesión seleccionadas entre molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1), laminina, fibronectina, colágeno y mezclas de las mismas.
4. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en donde la concentración de las moléculas

de adhesión es del orden de $\mu\text{g/ml}$.

5. El método de acuerdo con la Reivindicación 3, en donde la solución de adhesión comprende además buffer fosfato salino (PBS) 1X.
6. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el medio condicionado se produce del cultivo de células estromales mesenquimales expandidas durante 24 h en medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) o Roswell Park Memorial Institute (RPMI) libre de suero.
7. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el buffer de migración comprende agentes quimiotácticos adicionales seleccionados de: factor derivado de células estromales-1 (CXCL12 o SDF-1), factor de células madre (SCF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), ligando de tirosina quinasa 3 tipo FMS (FLT3L), ligando de quimiocina 2 (CCL-2), trombopoyetina (TPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).
8. El método de acuerdo con la Reivindicación 1, en donde el buffer de migración comprende medio Roswell Park Memorial Institute (RPMI) y albúmina sérica bovina (BSA) o albúmina sérica humana (HSA).
9. El método de acuerdo con la Reivindicación 8, en donde el BSA o HSA están en una concentración entre 1 y 3 % en el medio RPMI.



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0015994
Recibo: 24-46468
Fecha: 14/06/2024

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Pago PSE No: 978151
CUS: 705152279

Patente de Invención Nacional
MÉTODO IN VITRO PARA EVALUACIÓN FUNCIONAL DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

Detalle del pago

Id.	Rentístico	Concepto y Servicio	Cant.	Val. Unit.	Subtotal
1	50005-01-03	Modificaciones / Correcciones al registro Patente PCT (DESCUENTO INTERNET)	1	\$ 214,000	\$ 214,000
TOTAL					\$ 214,000