

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

E. _____ S. _____ D. _____

Re: Expediente No. NC2020/0007046

Solicitud de Patente de Invención Titulada: “PLATAFORMAS DE ENTREGA DE ARN DE GUÍA ÚNICA CRISPR TRUNCADO”

Solicitante: UNIVERSITY OF MASSACHUSETTS

Nuestra Ref.: P2020/000091

RESPUESTA AL OFICIO No. 6747, NOTIFICADO EL 09 DE ABRIL DE 2024
(CUARTO EXAMEN DE FONDO)

CARLOS R. OLARTE, mayor de edad y vecino de Bogotá, identificado tal como aparece al pie de mi firma, en mi carácter de apoderado de la sociedad solicitante, me permito manifestar lo siguiente ante el auto emanado por ese Despacho, dentro del plazo legal de prórroga previsto en el artículo 45 de la Decisión 486, en los siguientes términos:

1. En primer lugar, con el ánimo de brindar mayor claridad a la materia reivindicada, me permito presentar un **Capítulo Reivindicatorio Modificado**, que reemplaza en su totalidad al Capítulo Reivindicatorio presentado el 11 de marzo de 2024 junto con la respuesta al tercer examen de fondo. Así entonces, en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto se realizan las siguientes modificaciones:

- en las Reivindicaciones 1 y 3:
 - se eliminan las longitudes de secuencia de la región espaciadora, la región truncada de repetición:anti-repetición, las regiones del vástago 1 y vástago 2;
 - se reemplaza la frase “[...] *que comprende una región truncada de repetición:anti-repetición* [...]” por “[...] *que comprende una región repetición de crARN truncada : anti-repetición tracrARN* [...]” lo que encuentra soporte en las páginas 2, 3 y 39 del Capítulo Descriptivo;

- se limitan a: la región de vástago 2 comprende al menos ocho (8) nucleótidos 3'-terminal, lo que encuentra soporte en la página 67 del Capítulo Descriptivo;
- se introducen las nuevas Reivindicaciones 10 a 13 las cuales reclaman la longitud de la secuencia del ARNsg, lo que encuentra soporte en las antiguas Reivindicaciones 1 y 3, respectivamente, y en las Reivindicaciones 42 y 43 originalmente presentadas.

Valga anotar que las modificaciones efectuadas al Capítulo Reivindicatorio cumplen a cabalidad con lo estipulado en el Artículo 34 de la Decisión 486, ya que éstas de ninguna manera implican una ampliación de la protección correspondiente a la divulgación contenida en la solicitud original. Por el contrario, estas corresponden a una limitación drástica de la materia reclamada originalmente.

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

- la Reivindicación 1 no es clara ya que no menciona las características técnicas e la sgARN, como las secuencias. De esta manera cualquier sgARN de 99, 100, 101, 102, 103, 105 y 107 nucleótidos sin ninguna otra especificación dan lugar a un sinnúmero de sgARN que no han sido explorados en el Capítulo Descriptivo. Adicionalmente, no es clara porque menciona que el sgARN tiene 145 nucleótidos sin las regiones truncadas, pero indica que los nucleótidos 25 a 76 son la región repetición:anti-repetición y los nucleótidos 102 – 143 son la región de vástago 2, así las cosas, el sgARN si trunca tiene 143 nucleótidos no 145 de acuerdo con lo mencionado en la reivindicación, además, no se especifica la secuencia de los nucleótidos del sgARN ni cuáles son los nucleótidos que se truncan, puesto que, según el Capítulo Descriptivo los cortes se realizan sobre nucleótidos específicos. Tampoco cualquier secuencia de sgARN con cualquier truncamiento en las regiones mencionadas permite definir el sgARN reclamado;
- la Reivindicación 2 menciona características técnicas esenciales del sgARN que deberían ser incluidas en la reivindicación independiente;
- la Reivindicación 3 no es clara y carece de sustento porque no menciona todas las características técnicas esenciales del sgARN como la secuencia correspondiente de cada sgARN ni a donde se realizan específicamente los truncamientos. De esta manera, un sgARN con una longitud de 111, 107, 105,

103, 102, 101, 100 o 99 nucleótidos da lugar a un sinnúmero de sgARN que no son explorados en el Capítulo Descriptivo;

- la Reivindicación 9 no es clara porque aunque menciona la longitud de la región espaciadora truncada, no menciona la secuencia de dicha región espaciadora y esto daría lugar a sgARN carezca de soporte. Adicionalmente, carece de soporte porque el Capítulo Descriptivo solo presente sustento para longitudes de región espaciados de 22, 23 o 24 nucleótidos;

ii) Adicionalmente, el Despacho señala que el Capítulo Descriptivo no divulga la invención de manera suficientemente completa y clara para que la persona medianamente versada en la materia técnica sea capaz de reproducirla, ya que 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, particularmente los Constructos # 11 y 13.

b- i) Con respecto a la supuesta falta de claridad de las Reivindicaciones 1 y 3, en primer lugar con el único objetivo de facilitar el trámite, me permito llamar la atención a las modificaciones realizadas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto, en donde se han revertido estas longitudes de secuencia ejemplares al estado de reivindicación dependiente tal como se presentaron (por ejemplo, nuevas Reivindicaciones 10 a 13) y al mismo tiempo, esta característica se canceló en las Reivindicaciones 1 y 3, por lo que considera superada la objeción y le solicito respetuosamente al Examinador que esta sea retirada.

No obstante y sin perjuicio de lo anterior, respetuosamente discrepo de la opinión del Despacho y me permito señalar que las longitudes de secuencias citadas son meramente ejemplares y no elementos esenciales de la invención. Con lo cual, me permito señalar que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, y no únicamente para modalidades preferidas específicamente ilustradas en los ejemplos, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad. Es decir, una reivindicación puede ser tan amplia como se requiera para así poder enmarcar la totalidad del concepto inventivo desarrollado y no solamente las modalidades específicamente ejemplificadas en la solicitud.

ii) En relación con la sugerencia de adicionar la materia reclamada en la Reivindicación 2 en la Reivindicación 1, respetuosamente me permito señalar que el Despacho, no ha proporcionado motivos técnicos suficientes para alegar que la materia de la Reivindicación 2 sea considerada esencial. Particularmente, el Capítulo Descriptivo no proporciona ninguna enseñanza, o sugerencia que respalde la afirmación del Despacho. De hecho, la Reivindicación 1 abarca cualquier longitud de espaciador por el término de transición de "*que comprende*", ya sea truncado o no. En particular, las regiones espaciadoras son bien conocidas en la técnica por ser al menos parcialmente complementarias a una región genómica dirigida a Cas9 y se ha informado que tienen varias longitudes, particularmente en la página 39 líneas 5 a 10 del Capítulo Descriptivo se señala que:

“El sgARN Nme1Cas9 de longitud completa de 145 nt usado convencionalmente incluye un crARN de 48 nucleótidos (nt), un enlazador de 4 nt y un tracrARN de 93 nt. La región de crARN del sgARN se compone de una primera secuencia espaciadora de 24 nt, [...]” (énfasis fuera del texto).

Adicionalmente, en la página 9 líneas 26 a 31 y página 10 líneas 1 y 2 del Capítulo Descriptivo se señala que

“Como se usa en el presente documento, el término "CRISPR" o "Repeticiones Palindrómicas Cortas Agrupadas y Regularmente Espaciadas" se refiere a un acrónimo para loci de ADN que contiene repeticiones múltiples, cortas y directas de secuencias de base. Cada repetición contiene una serie de bases seguidas de aproximadamente 30 pares de bases conocidas como secuencia "espaciadora". Los espaciadores son segmentos cortos de ADN de un virus y pueden servir como "memoria" de exposiciones pasadas para facilitar una defensa adaptativa contra futuras invasiones. Doudna et al, Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9” *Science* 346(6213):1258096 (2014)”. (énfasis fuera del texto).

Finalmente, en la página 42, líneas 12 a 17 se señala que

“Además, se ha demostrado previamente que una región de crARN guía variable 5’ (ej., región espaciadora) de Nme1Cas9 también puede ser truncada por unos pocos nucleótidos sin pérdida de función. Amrani et al, “Nme1Cas9 is an intrinsically high-fidelity genome editing platform” *biorxiv.org/content/early/2017/08/04/172650* (2017); y Lee, “*The Neisseria meningitidis CRISPR-Cas9 system enables specific*

genome editing in mammalian cells” Molecular Therapy 24:645-654 (2016)” (énfasis fuera del texto).

En consecuencia, resultaría claro para cualquier persona medianamente versada en la materia a partir de los conocimientos aportados por el Capítulo Descriptivo, y sus conocimientos en al área técnica que un espaciador truncado no es esencial para la función del ARNsg. Por lo tanto, acoger la sugerencia del Despacho solamente resultaría en una limitación excesiva y arbitraria del alcance de protección al que el inventor tiene derecho.

iii) Finalmente, en relación con la supuesta falta de claridad de la Reivindicación 9, respetuosamente difiero, en tanto y como se argumentó anteriormente la persona medianamente versada en la materia sabe, una secuencia espaciadora es al menos parcialmente complementaria a una secuencia genómica diana, por ejemplo, una secuencia de inserción de ADN viral. En consecuencia, la secuencia específica del espaciador es muy variable. Además, el Capítulo Descriptivo brinda soporte suficientemente completo para un espaciador que abarca un rango entre 17 y 23 nucleótidos:

En una modalidad, la secuencia de sgARN comprende un espaciador que varía en longitud entre aproximadamente diecisiete (17) a veinticuatro (24) nucleótidos. (Página 7, líneas 2 y 3)

El Capítulo Descriptivo también proporciona evidencia de que se conocían en el área técnica, particularmente espaciadores de diecisiete (17) o dieciocho (18) nucleótidos:

“La longitud de la porción espaciadora del crARN difiere entre los diferentes ortólogos Cas9. La longitud óptima del espaciador de SpyCas9 es de veinte (20) nucleótidos, sin embargo, se toleran truncamientos de hasta diecisiete (17) nucleótidos. Fu et al, *Nature Biotechnology* 32, 279 (2014). En contraste, Nme1Cas9 comprende sgARN con veinticuatro (24) espaciadores de nucleótidos y tolera truncamientos de hasta dieciocho (18) nucleótidos. (Amrani, 2018). [...]” (Página 66, líneas 23 a 27, *énfasis fuera del texto*)

Adicionalmente, me permito nuevamente señalar que un inventor está en su derecho de reclamar protección para la totalidad del concepto inventivo desarrollado, sin importar la amplitud de éste, y no únicamente para modalidades preferidas específicamente ilustradas en los ejemplos, siempre y cuando se conserve el principio de unidad de invención y no haya arte previo que afecte su patentabilidad. Por tanto, limitar la Reivindicación 9 solamente a

la secuencia de la región espaciadora y una longitud específica, sería de nuevo una limitación excesiva e innecesaria, en vista de que el arte previo citado no es un arte previo cercano, tal como se demostrará más adelante.

vi) En vista de las modificaciones realizadas y los argumentos presentados, considero que el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto cumple con los requisitos de claridad, concisión y soporte establecidos en el Artículo 30 de la Decisión 486, permitiéndole a la persona medianamente versada en la materia entender clara e inequívocamente el alcance y los límites de la materia reclamada, así como reproducirla con base en sus conocimientos del campo técnico y la información contenida en el Capítulo Descriptivo, sin necesidad de recurrir a experimentación adicional exhaustiva.

vii) De manera similar, me permito señalar que el Capítulo Descriptivo proporciona suficiente soporte para el alcance reclamado en las reivindicaciones y es totalmente compatible con este, de tal manera que cumple con el requisito de suficiencia establecido en el Artículo 28 de la Decisión 486.

3. a- El Despacho insiste que la presente invención carece de nivel inventivo a la luz de las enseñanzas de US20160177278A1 (D1) y del documento “*DNase H Activity of Neisseria meningitidis Cas9*”¹ (D2).

i) El Despacho considera a D2 como como arte previo más cercano a 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. De esta forma, se logró confirmar que las deleciones y la eliminación completa de la región repetición: anti-repetición no afecta la funcionalidad del sgARN. Así mismo, la eliminación del tallo superior permite obtener sgARN completamente funcionales. D2 también divulga que el sgARN presenta una región espaciadora truncada y muestra que los sgARN guías tienen una longitud total de 145 nucleótidos. Adicionalmente, D2 enseña que el sgARN guía puede estar truncado en la región de vástago 2.

¹ Zhang, Y., *et al.* (2015). DNase H Activity of *Neisseria meningitidis* Cas9. *Molecular cell*, 60(2), 242–255. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4609032/pdf/nihms727268.pdf>

El Despacho afirma que la diferencia entre la Reivindicación 1 y el sARN de D2, consiste en que el sgARN está truncado simultáneamente en la región repetición: antirepetición y en el vástago 2. Sin embargo, el Despacho considera que no hay un efecto técnico asociado a esa diferencia, puesto que D2 ya hacía referencia a un sgARN truncado completamente funcional. Adicionalmente, no está probado que todos los sgARN reclamados sean funcionales, puesto que algunos no tienen actividad de escisión (Fig. 2, Constructo #3).

Así las cosas, el problema técnico es: *“¿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. 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 $\Delta 7\text{nt}$ no tiene defectos y los ARN $\Delta 14\text{nt}$ y $\Delta 22\text{nt}$ exhibieron defectos modestos, mientras que los sgARN $\Delta 45\text{nt}$, $\Delta 57\text{nt}$ y $\Delta 69\text{nt}$ fueron completamente defectuosos, lo que sugiere que los 7 nucleótidos del terminal 3' son prescindibles para escisión, interrupción parcial o total ($\Delta 14\text{nt}$, $\Delta 22\text{nt}$) 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. Además, D2 también menciona que la región espaciadora truncada puede tener una longitud de 24, 12, 8 o 4 nt.

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

ii) El Despacho considera a D1 como arte previo más cercano a la Reivindicación 3, porque 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. 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. 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 donde el sgARN está truncado y comprende 20 nucleótidos. Donde el plásmido vírico comprende un promotor específico del hígado y el AAV es un serotipo AAV8. El sgARN es complementario a una región del sitio diana del gen de interés y el gen de interés puede ser *pcsk9*.

El Despacho afirma que la diferencia entre la Reivindicación 3 y el vector de D1, consiste en que el vástago 2 de la secuencia de sgARN está truncado. Sin embargo, el Despacho señala que 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 deleciones o inserciones en la secuencia blanco. Adicionalmente, no está probado que cualquier sgARN de 99, 100, 101, 102, 103, 105, 107 o 111 nucleótidos es funcional, puesto que algunos no tienen actividad de escisión (Fig. 2, Constructo #3).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención es: “¿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. Además, D2 divulga que al introducir deleciones 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 $\Delta 14nt$ 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. Donde los truncamientos se realizan para la eliminación de 7, 14, 22, 45, 57 y 69 nucleótidos del extremo 3' obteniendo un sgARN con longitudes de 76, 88, 100, 123, 131 o 138 nucleótidos.

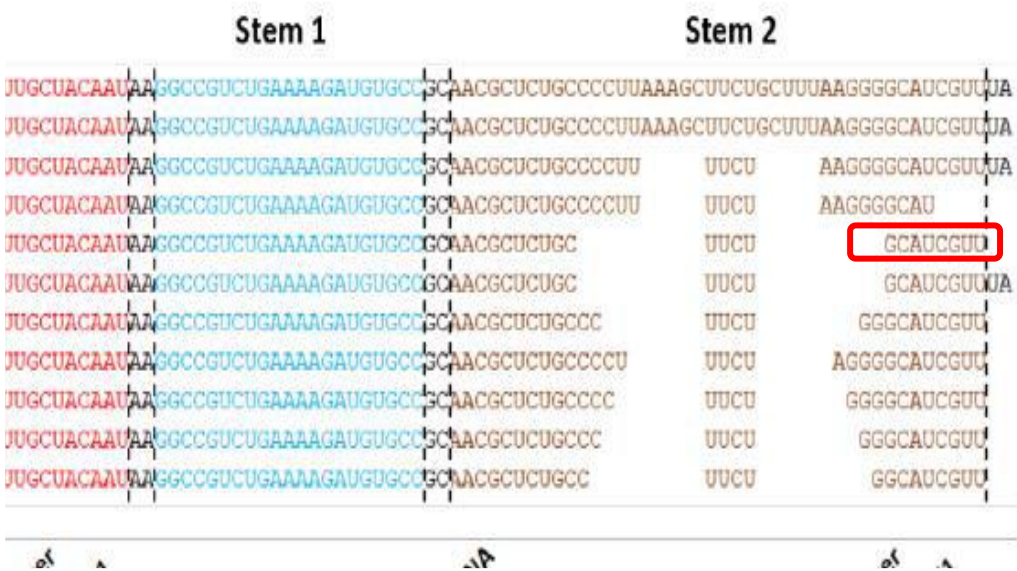
En consecuencia, el Despacho considera que la persona medianamente versada en la materia estaría motivada a incluir un truncamiento del vástago 2 de la secuencia de sgARN como lo

sugiere D2 en el vector de D1, para así llegar al objeto de la Reivindicación 3. Por lo cual se considera obvia.

b- i) En respuesta, llamo la atención a las modificaciones del Capítulo Reivindicatorio Modificado, particularmente, la Reivindicación 1 se modificó para ahora hacer referencia a una secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de Neisseria meningitidis (Nme) Cas9 que comprende una región repetición de crARN truncada : anti-repetición tracrARN y una región truncada de vástago 2 tracrARN, en donde la región de vástago 2 comprende al menos ocho (8) nucleótidos 3'- terminal.

Lo anterior encuentra soporte en el Capítulo Descriptivo, particularmente en “La región de crARN del sgARN se compone de una primera secuencia espaciadora de 24 nt, y una segunda secuencia de repetición de 24 nt que se empareja con una región 5’ de anti-repetición tracrARN de 24 nt, formando así una región repetición: anti-repetición. La región tracrARN restante de 69 nt incluye la región del vástago 1 y la región del vástago 2. Figura 1.” (Líneas 6 a 10 página 39 del Capítulo Descriptivo, énfasis fuera del texto)

De forma adicional, también se ha modificado la Reivindicación 1 para aclarar que la región del vástago 2 “retiene al menos ocho (8) nucleótidos terminales 3’”. Lo que se aprecia en la parte superior de la Figura 2.



Fracción superior derecha de la Figura 2

ii) Ahora bien, considerando las drásticas limitaciones introducidas en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto y las diferencias ya establecidas frente al arte

previo citado, me permito reiterar los argumentos presentados en respuesta al tercer examen de fondo. D2 enseña deleciones de regiones individuales en el sgARN, **no una combinación de diferentes deleciones** como se reclama en el Capítulo Reivindicatorio Modificado adjunto. De igual manera, D2 no proporciona motivación alguna para **combinar las deleciones duales de sgARN** como se describe en la presente solicitud.

Adicionalmente, contrario a la opinión del Despacho, la región truncada de vástago 2 de Nme sgARN de la presente solicitud tiene un efecto técnico relevante y muy significativo que es diferente de los sgARN divulgados en D2. En particular, el Despacho parece estar haciendo una interpretación incorrecta al comparar el sgARN de D2 que media la escisión del ADN monocatenario de Cas9 (lo que corresponde a una actividad similar a la ADNasa) con el del reclamado que media la escisión del ADN bicatenario de Cas9 (es decir, una actividad catalítica completa).

Como afirma el Despacho, D2 está relacionado con problemas relacionados con la actividad de la ADNasa H. Particularmente, D2 enseña que la actividad de la ADNasa H mediada por Nme Cas9 se limita a la escisión de ADN monocatenario y no requiere un ARNtracr: “En consecuencia, nos referimos a esta actividad de escisión de ADNss guiada por ARN, independiente de ARNtracr, como similar a ADNasa H”. (D2, Zhang et al. pág 245 col 1 (mi traducción - énfasis añadido).

Por el contrario, el ARNsg Nme truncado aquí reclamado se describe como escisión de ADN bicatenario: “Como se usa en el presente documento, el término “Cas9” se refiere a una nucleasa de sistemas CRISPR de tipo II, una enzima especializada para generar cortes de doble cadena en el ADN, con dos sitios de corte activos (los dominios HNH y RuvC), uno para cada hebra de la doble hélice.” (página 10 del Capítulo Descriptivo, énfasis añadido)

De forma similar, la página 21 de Capítulo Descriptivo señala que:

“La figura 2 presenta secuencias de sgARN Nme1Cas9 de ejemplo y una actividad de edición de genes asociada que tiene una repetición truncada: región anti-repetición o una región truncada del vástago 2. [...]”

Los sgARN Nme1Cas9 más cortos (# 10 - 101 nt; secuencia guía de 24 nt; y # 11 - 100 nt; secuencia guía de 23 nt) editan eficientemente tres sitios objetivo-distintos (NTS7, NTS27 y NTS55) en el genoma humano.” (énfasis añadido)

Además, D2 también enseña que la escisión de ADN bicatenario mediada por Nme Cas9 **requiere** un ARNtracr: “Los ensayos de escisión de plásmidos mostraron que NmeCas9 escinde el ADNbc que contiene el protoespaciador coincidente y la reacción requiere el ARNcr, el ARNtracr y el magnesio (Figura 1C).” (D2, Zhang et al. pág 243 col 1 - mi traducción - énfasis añadido).

Por tanto, me permito respetuosamente afirmar que el sgARN Nme reclamado requiere un ARNtracr funcional, aunque puede estar truncado, y funciona para escindir ADN bicatenario. Por otro lado, D2 proporciona enseñanzas y orientación de que un sgARN Nme **no requiere un tracrRNA para escindir el ARN monocatenario**. Así, dado que el objetivo de D2 de escindir ARN monocatenario difiere del aquí reclamado, una persona medianamente versada en la materia no tomaría este documento como punto de partida para lograr un objetivo diferente, como es escindir ARN bicatenario.

Adicionalmente, una comparación entre los datos de D2 y los de la presente solicitud muestran que el efecto de los truncamientos del vástago 2 no es mutuamente predecible entre la actividad de la ADNasa H de ADN monocatenario y la actividad de escisión del ADN de doble cadena. Por ejemplo, como señala el Despacho, el Constructo #3 de la solicitud, que tiene un truncamiento 3' de "GUCC" (por ejemplo, un truncamiento $\Delta 4$ 3' en el vástago 2) **carece** de actividad de escisión de ADN bicatenario. Sin embargo, D2 establece que un truncamiento $\Delta 7$ 3' del vástago 2 **tiene actividad de ADNasa H completa** y por tanto la persona medianamente versada entendería que se requieren truncamientos 3' más largos para inhibir la actividad de ADNasa H:

“Estos resultados sugieren que los 7nt terminales 3' son prescindibles para la escisión, la rotura parcial o total ($\Delta 14$ nt, $\Delta 22$ nt) de la horquilla terminal que impide modestamente la función y la eliminación completa ($\Delta 45$ nt, $\Delta 57$ nt y $\Delta 69$ nt) de la horquilla. o el anexo más cercano a la horquilla, suprime la escisión.” (D2, Zhang et al. pág 251 columna 2 – mi traducción - énfasis añadido).

Dado lo anterior, me permito señalar que **nada en D2 podría guiar** con alguna expectativa razonable de éxito de obtener la actividad biológica asociada a los sgARN reclamados, considerando que **D2 presenta y resuelve un problema técnico completamente diferente, particularmente porque dicho documento y la presente solicitud presentan tecnologías diferentes con respecto a los sgARN de Nme Cas9 truncados**. Es más, como una persona medianamente versada en la materia sabría, no es posible predecir las implicaciones que

podrían acarrear diferencias estructurales entre diferentes moléculas, incluso pequeñas diferencias, sobre la actividad biológica. De hecho, en el campo de la farmacia química, se sabe que existe un alto grado de imprevisibilidad, es decir, los efectos biológicos de los cambios estructurales son impredecibles, desde un cambio en la configuración tridimensional de la molécula hasta las interacciones moleculares de la diana biológica con la molécula específica. Por consiguiente, y contrario a lo que sostiene el Despacho, la persona medianamente versada en la materia no habría encontrado motivación **directa y puntual** de desarrollar los sgARN actualmente reclamados a partir de las enseñanzas de D2, haciendo que los mismos **no** resulten obvios

En continuidad con lo anterior, es evidente que el Despacho no parece haberse regido por lo estipulado en la Guía para Examen de Solicitudes de Patente de Invención y Modelo de Utilidad (en adelante, Guía de la SIC) en cuanto la evaluación de nivel inventivo, ya que ésta debe basarse únicamente en si existen sugerencias explícitas y suficientes en el arte previo que indicarían de manera clara cómo desarrollar de manera obvia los sgARN aquí reclamados, que, como se ha demostrado a lo largo del trámite, no existen. En consecuencia, no es aceptable a quien examina o a quién concede o deniega una patente desvirtuar el nivel inventivo de la misma por simplemente desglosar sus elementos separadamente y luego buscar referencias en el estado del arte que los incluyan, como si de armar un rompecabezas con piezas aisladas, o una colcha de retazos, se tratara. En este caso particular, y contrario al análisis del Despacho, como es evidente del análisis del arte previo realizado anteriormente, la única forma en que una persona medianamente versada en la materia podría llegar a los sgARN de la presente invención siguiendo los argumentos del Despacho, sería al realizar un análisis en retrospectiva una vez conoce la invención aquí reclamada.

Sin embargo, el estudio de solicitudes de patente que conduzca a ese tipo de conclusiones anticipadas corresponde abiertamente a un análisis conocido en el ámbito de patentes como “análisis hindsight” o en retrospectiva. Para entender el análisis equivocado que realiza el Despacho, podemos citar nuevamente el Manual Andino de Patentes (MAP), que indica claramente que “...la búsqueda de anterioridades se efectúa a posteriori, tomando como punto de partida la misma invención, La SIC debe realizar el esfuerzo intelectual de colocarse en la situación que ha tenido que afrontar el técnico con conocimientos medios en la materia en un momento en que la invención no era conocida, es decir antes de la invención”² (mi subrayado). Por ende, no es apropiado anticiparse a los resultados presentados por la invención, ya que así, siempre resultará “obvio” todo objeto de una

² Comunidad Andina de Naciones, Manual Andino de Naciones (2022) Sección 11.4.1

solicitud de patente, pues inevitablemente está parecerá derivada de la teoría en que se basa su desarrollo, sin dar mayor importancia al trabajo, intelecto y creatividad involucrados en la invención para llegar a la solución del problema planteado en la solicitud.

Aceptar el estándar de nivel inventivo del Despacho, donde supuestamente el desarrollo de los sgARN aquí reclamados, es obvio, equivaldría a desdibujar el objetivo principal del sistema de patentes, que es precisamente fomentar la investigación y desarrollo de mejoras incrementales. **Nada se inventa de la nada.** Necesariamente, la tecnología avanza en pasos discretos constituida por mejoras concretas a lo que se conoce. El sistema de patentes recompensa al inventor que proporciona una solución que no resultaría previsible a partir del estado de la técnica. Lo anterior además quiere decir que el resultado inventivo no podría ser desarrollado sin algún grado de experimentación o que presente resultados inesperados.

En este sentido, la única manera que la persona medianamente versada en la materia hubiera llegado a la presente invención basada en el arte previo citado, sería usando un “*análisis hindsight*” o en retrospectiva, ya que las conclusiones del Despacho solo hubieran sido posibles basadas en lo revelado en la presente invención. En otras palabras el Despacho únicamente llega de forma puntual a las supuestas enseñanzas de D2, dado que ya conoce las enseñanzas de la presente solicitud, es decir, la persona medianamente versada en la materia no encontraría ninguna motivación dentro de D2 para combinar los truncamientos de repetición:antirrepetición individuales (por ejemplo, tallo superior) con ningún truncamiento individual del vástago 2 (por ejemplo, extremo 3') para lograr un sgARN funcional con alguna expectativa razonable de éxito. La mera presencia de ambos tipos de truncamientos, sin ninguna sugerencia de combinar, no es suficiente.

A lo largo del trámite, se han presentado argumentos suficientes para demostrar que D2 no revela un sgARN Nme que tenga tanto una región de repetición:antirrepetición truncada Y una región de vástago 2 truncada, es decir ambas regiones. D2 solo revela UNO o el OTRO. El Despacho ha fallado en aportar argumentos o evidencia, de cómo la persona medianamente versada en la materia combinaría las regiones antes mencionadas de la forma particular y específica realizada en el presente sgARN. Por ejemplo, el Despacho no ha señalado nada en D2 donde un constructo de sgARN que tenga un truncamiento del tallo superior y un truncamiento del extremo 3' tenga actividad funcional.

El Despacho, utiliza la argumentación de la motivación eventual de los truncamientos del vástago 2 “*como lo sugiere D2*”, sin embargo ninguno de los truncamientos del vástago 2 de D2 (por ejemplo, los truncamientos del extremo 3') sugiere conservar al menos ocho (8) de

los últimos nucleótidos del extremo 3'. Cada uno de los truncamientos del extremo 3' de D2 se hace progresivamente más largo, comenzando desde los últimos siete (7) nucleótidos terminales.

En resumen, como se argumentó anteriormente D2 no enseña un sgARN con una región dúplex de repetición:antirrepetición truncada (p. ej., el vástago superior de D2) y una región del vástago 2 truncada (el extremo 3' de D2) debido al término elegido de "o", por ejemplo:

Estos resultados sugieren que los 7 nt del extremo 3' son prescindibles para la escisión, la disrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal impide modestamente la función y la eliminación completa ($\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$) de la horquilla, o el nexo más la horquilla, anula la escisión. Para definir mejor las subregiones del sgARN que se requieren para la orientación, generamos variantes con la mayor parte del nexo (int2) o del tallo superior (int1) eliminado (Fig. 7A). (Página 10 de D2 – mi traducción, énfasis fuera del texto)

Entre todas las variantes analizadas, solo dos ($\Delta 7nt$ e int1) rescataron la interferencia (Fig. 7D), lo que sugiere que in vivo, NmeCas9 solo tolera pequeñas deleciones en la terminal 3' o la eliminación del tallo superior. (Página 11 de D2 – mi traducción - énfasis fuera del texto)

Por lo tanto, D2 enseña “el tallo superior o los siete nucleótidos de la terminal 3'” en la alternativa, no ambos en el mismo sgARN. D2 nunca sugiere, predice ni enseña (implícita o explícitamente) truncamientos en una región duplicada de repetición:antirrepetición de sgARN Cas9 y la región del vástago 2, mucho menos con una expectativa razonable de éxito de que sería funcional. Por el contrario, a partir de las enseñanzas de D2, la persona medianamente versada en la materia no estaría motivada a emplear un sgARN funcional con truncamientos duales porque los datos de D2 muestran claramente que la funcionalidad del sgARN disminuye a medida que aumenta el tamaño (longitud) del truncamiento terminal 3'. Además, es relevante señalar que los datos de D2 desmotivan cualquier truncamiento dual de este tipo porque a medida que aumenta el tamaño del truncamiento del vástago 2 terminal 3', la funcionalidad del sgARN disminuye progresivamente y finalmente desaparece:

*Estos resultados sugieren que los 7 nt terminales 3' son **prescindibles** para la escisión, la disrupción parcial o total ($\Delta 14nt$, $\Delta 22nt$) de la horquilla terminal **impide modestamente** la función, y la eliminación completa ($\Delta 45nt$, $\Delta 57nt$ y $\Delta 69nt$) de la*

horquilla [...] anula la escisión. (Página 10 de D2 – mi traducción, énfasis fuera del texto)

A partir de lo anterior, en cada uno de los truncamientos de la región 3' terminal del vástago 2 de D2, los primeros siete (7) nucleótidos están ausentes. D2 nunca contempla ningún truncamiento en la región 3' terminal (vástago 2) que conserve los primeros siete (7) nucleótidos de la región 3' terminal. Por el contrario, en la presente solicitud se contempla una región truncada del vástago 2 que conserve los primeros ocho (8) nucleótidos de la región 3' terminal de modo que los truncamientos se coloquen en otra parte de la región del vástago 2. Así, D2 no contempla el patrón de truncamiento del vástago 2 de la presente solicitud. Más concretamente, D2 no ha presentado ninguna enseñanza, sugerencia o motivación de que cualquier truncamiento de la región 3' terminal del vástago 2 que conserve al menos ocho (8) nucleótidos de la región 3' terminal daría como resultado un sgARN funcional.

A partir de lo anterior, no es claro cómo o por qué la información aportada por D2 guiaría de forma puntual y sin ambigüedades a la persona medianamente versada en la materia para desarrollar un secuencia de ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* (Nme) Cas9 que comprende una región repetición de crARN truncada : anti-repetición tracrARN y una región truncada de vástago 2 tracrARN, como la de la presente solicitud, cuando el mismo es silencioso sobre el empleo de las regiones mencionadas anteriormente de forma simultánea, y con truncamientos en la región 3' terminal (vástago 2) que conserve los primeros siete (7) nucleótidos de la región 3' terminal.

iii) Ahora bien, con respecto a la nueva Reivindicación 3, esta ahora hace referencia a un vector vírico adeno-asociado (AAV) que codifica un ácido ribonucleico de guía única (sgARN) de *Neisseria meningitidis* Cas9 que comprende una región repetición de crARN truncada: anti-repetición de tracrARN y una región de vástago 2 truncada, en donde la región de vástago 2 comprende al menos ocho (8) nucleótidos 3'-terminal.

Teniendo en cuenta la materia ahora reclamada, es relevante señalar que la Reivindicación 3 incorpora las mismas modificaciones y argumentos presentados para demostrar el nivel inventivo de la Reivindicación 1 frente a D2. Además, las enseñanzas combinadas de D1 y D2 no revelan, sugieren ni anticipan (implícita o explícitamente) ningún truncamiento de ARNsg terminal 3' que conserve los primeros ocho (8) nucleótidos, con o sin una región de repetición: antirrepetición truncada que crearía, podría o debería crear con éxito un sgARN NmeCas9 funcional. De hecho, con base en el análisis anterior, D2 le enseña a una persona medianamente versada en la materia exactamente lo opuesto.

Adicionalmente, me permito señalar que el Despacho señala que los truncamientos del sgARN de D1 no están en la región del vástago 2, tampoco están en la región repetición:antirepetición. Sin embargo, aparentemente de nuevo el Despacho está haciendo una interpretación incorrecta de lo señalado por D1, cuando afirma que la Reivindicación 9 de D1 revela "*una región repetida:antirepetición truncada*". Sin embargo, me permito señalar que la reivindicación 9 de D1 dice:

9. *La proteína de fusión de la reivindicación 1, en la que dicho elemento de secuencia guía está truncado. (D1, Wolfe et al., pág. 227, col 1 - mi traducción - énfasis añadido)*

Es decir, D1 enseña que el "*elemento de secuencia guía*" es la secuencia dirigida al gen dentro de la región de crARN, tal y como se reitera en los párrafos [0007] y [0010] de D1:

"En una realización, dicho complejo comprende además un ARN guía unido a un elemento de secuencia guía que es complementario a una región del sitio objetivo del ADN. [...] En una realización, dicho sitio objetivo comprende además una secuencia complementaria al elemento de la secuencia guía [...]" (mi traducción – énfasis añadido)

Además. El párrafo [0013] de D1 enfatiza además los truncamientos de sgARN contemplados para mejorar la edición de genes dirigida a guiar a la persona medianamente versada en la materia a conocimientos ya establecidos en el arte:

"Se han utilizado sgARN truncados (es decir, menos de 20 bases de complementariedad) para aumentar la precisión de los complejos Cas9/sgARN al reducir el grado de complementariedad potencial con secuencias fuera del objetivo. Fu et al., mejora de la especificidad de la nucleasa CRISPR-Cas utilizando ARN guía truncados. Biotecnología de la Naturaleza (2014)." (mi traducción – énfasis agregado).

Al leer el Capítulo Descriptivo, la persona medianamente versada en la materia entendería que el "elemento de secuencia guía" de D1 y la "secuencia espaciadora" de la presente solicitud son regiones sgARN equivalentes:

La región de crARN del sgARN se compone de una primera secuencia espaciadora de 24 nt, y una segunda secuencia de repetición de 24 nt que se empareja con una región 5' de anti-repetición tracrARN de 24 nt, formando así una repetición: región anti-repetición. (Página 39, líneas 6 a 8 del Capítulo Descriptivo, énfasis agregado)

Es claramente evidente que el “*elemento de secuencia guía*” de D1 es una región sgARN que se encuentra 5' con respecto a la región de repetición de crARN que participa en la formación de la región de repetición:anti-repetición. Por tanto, es evidente que el “*elemento de secuencia guía*” de D1 se encuentra incluso más 5' con respecto a la región del vástago 2 terminal 3'. En este caso, el efecto técnico del elemento de secuencia guía truncada de D1 es muy diferente del efecto técnico de las regiones repetición de crARN truncada : anti-repetición tracrARN y una región truncada de vástago 2 tracrARN de la presente solitud. Esto se debe a que el elemento de secuencia guía (por ejemplo, la secuencia espaciadora) facilita la **formación de bucle R con un sitio objetivo** debido a su complementariedad de pares de bases, mientras que las regiones repetición:antirepetición y la región truncada del vástago 2 proporcionan **orientación y soporte para la actividad de escisión de Cas9:**

“[...] Los sgARN son una fusión de crARN y tracrARN y contienen nucleótidos de secuencia complementarios al sitio objetivo deseado. Jinek et al, “A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity” Science 337(6096):816-821 (2012). El apareamiento de Watson-Crick del sgARN con el sitio objetivo permite la formación del bucle R, [...]” (Líneas 21 a 25 página 11 del Capítulo Descriptivo, énfasis agregado)

“TracrARN es complementario a la secuencia de repetición del pre-crARN, formando un dúplex de ARN. Esto es escindido por RNase III, una ribonucleasa específica a ARN, para formar un híbrido crARN/tracrARN. Este híbrido actúa como una guía para la endonucleasa Cas9, que escinde el ácido nucleico invasor.” (Línea 31 página 10 y líneas 1 a 3 página 11 del Capítulo Descriptivo, énfasis agregado)

A partir de lo anterior, no sería evidente para una persona medianamente versada en la materia esperar el mismo efecto técnico de truncamientos en un elemento de secuencia guía de sgARN y una región de repetición:antirrepetición y vástago 2.

iv) 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 previo³. 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, o el AAV de la Reivindicación 3, ni mucho menos sugerencias que le permitan predecir de manera razonable los efectos técnicos específicos exhibidos.

v) Finalmente, en relación con la afirmación del Despacho en el sentido de que para una persona normalmente versada en la materia sería obvio producir diferentes sgARN o AAV alternativos mediante las enseñanzas de D2, o D1, sea esta la oportunidad para recordar que el análisis del nivel inventivo no puede basarse en si la invención era posible de alcanzar, **incluso mediante la aplicación de técnicas conocidas**. Aplicar un estándar de "*posibilidad de alcanzar*", haría que ninguna invención fuera susceptible de patentarse, haciendo inviable el sistema de patentes. Del mismo modo, el análisis de patentabilidad no puede implicar la cuestión de si las técnicas de investigación aplicadas son comunes u obvias, sino más bien si el objeto específicamente reclamado podría haber sido evidentemente derivado del arte previo (sin necesidad de investigación adicional alguna), lo cual, como se ha demostrado, en el presente caso no sucede. En otras palabras, la determinación del nivel inventivo no debe basarse en si la persona medianamente versada en la materia **podría** haber desarrollado moléculas de sgARN aquí reclamadas, sino en si dicha persona lo **habría hecho** guiada por las enseñanzas del arte previo.

vi) 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 los sgARN aquí reclamados 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.

³Manual Andino para el Examen de Patentes (2022). Sección 11.11.1.1

5. Finalmente, considero que la presente solicitud cumple con los requisitos de patentabilidad establecidos por la Decisión 486 y por consiguiente solicito respetuosamente que el Despacho proceda con la concesión de la patente.

Atentamente,



CARLOS R. OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

T.P. 74.295

Anexos:

- Capítulo Reivindicatorio Modificado;
- Recibo de pago por concepto de modificaciones a las reivindicaciones.