

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter II of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference P 115623	FOR FURTHER ACTION		See Form PCT/IPEA/416
International application No. PCT/EP2023/064899	International filing date (day/month/year) 03.06.2023	Priority date (day/month/year) 03.06.2022	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC INV. C07K14/435			
Applicant BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH			
1. This report is the international preliminary examination report, established by this International Preliminary Examining Authority under Article 35 and transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of <u>8</u> sheets, including this cover sheet. 3. This report is also accompanied by ANNEXES, comprising: a. ☒ a total of <u>10</u> sheets, as follows: ☒ sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and/or sheets containing rectifications authorized by this Authority, unless those sheets were superseded or cancelled, and any accompanying letters (see Rules 46.5, 66.8, 70.16, 91.2, and Section 607 of the Administrative Instructions). ☐ sheets containing rectifications, where the decision was made by this Authority not to take them into account because they were not authorized by or notified to this Authority at the time when this Authority began to draw up this report, and any accompanying letters (Rules 66.4bis, 70.2(e), 70.16 and 91.2). ☐ superseded sheets and any accompanying letters, where this Authority either considers that the superseding sheets contain an amendment that goes beyond the disclosure in the international application as filed, or the superseding sheets were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in item 4 of Box No. I and the Supplemental Box (see Rule 70.16(b)). b. ☐ a separate electronic file containing a sequence listing (<i>sent to the International Bureau only</i>)			
4. This report contains indications relating to the following items: ☒ Box No. I Basis of the report ☐ Box No. II Priority ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability ☐ Box No. IV Lack of unity of invention ☒ Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement ☐ Box No. VI Certain documents cited ☐ Box No. VII Certain defects in the international application ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 03.04.2024		Date of completion of this report 05.06.2024	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Fax: +31 70 340 - 3016		Authorized officer Sonnerat, Isabelle Telephone No. +31 70 340-8951	



Box No. I Basis of the report

1. With regard to the **language**, this report is based on
- ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of:
 - ☐ international search (under Rules 12.3(a) and 23.1(b))
 - ☐ publication of the international application (under Rule 12.4(a))
 - ☐ international preliminary examination (under Rules 55.2(a) and/or 55.3(a) and (b))
2. With regard to the **elements*** of the international application, this report is based on (*replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report*):

Description, Pages

1-61 as originally filed

Sequence listings, SEQ ID NO

1-18 as originally filed

Claims, Numbers

1-47 filed with the letter of

02-04-2024

Drawings, Sheets

1/8-8/8 as originally filed

- ☒ a sequence listing - see Supplemental Box Relating to Sequence Listing.
3. ☒ The amendments have resulted in the cancellation of:
- ☐ the description, pages
 - ☒ the claims, Nos. 48-50
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):
4. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments annexed to this report and listed below had not been made, since either they are considered to go beyond the disclosure as filed, or they were not accompanied by a letter indicating the basis for the amendments in the application as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rules 70.2(c) and (c-bis)):
- ☐ the description, pages
 - ☐ the claims, Nos.
 - ☐ the drawings, sheets/figs
 - ☐ the sequence listing (*specify*):

5. ☐ This report has been established:
- ☐ taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rules 66.1(d-bis) and 70.2(e)).
 - ☐ without taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91(Rules 66.4bis and 70.2(e)).
6. ☒ With regard to top-up searches (Rules 66.1ter and 70.2(f)):
- ☒ A top-up search was carried out by this Authority on 22.05.2024 (all discovered documents are listed in the Supplemental Box Relating to Top-up Search).
 - ☐ Additional relevant documents have been discovered during the top-up search.
 - ☐ No top-up search was carried out by this Authority because it would serve no useful purpose.
7. ☐ Supplementary international search report(s) from Authority(ies) has/have been received and taken into account in establishing this report (Rule 45bis.8(b) and (c)).

* If item 4 applies, some or all of those sheets may be marked "superseded".

Box No. V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>1-47</u>
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>1-47</u>
	No: Claims	
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-47</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations (Rule 70.7):

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

Supplemental Box relating to Sequence Listing

Continuation of Box I, item 2:

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed.
 - b. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search and/or examination,
 - ☐ accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
 - c. ☐ furnished to this Authority as an amendment* under PCT Article 34 on .
 2. ☐ With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this report was established to the extent that a meaningful opinion referred to in Article 33(1) could be formed without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
 3. Additional comments:
- * *If item 4 in Box No. I applies, the sequence listing, which forms part of the basis of the report, may be marked "superseded."*

1 **References**

Reference is made to the following documents:

- D1 WO 2021/148411 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM INT [DE];
MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER [DE]), 29 July 2021
- D2 ZHAO LONGWEI ET AL: "Production of bioactive recombinant human
myeloid-derived growth factor in Escherichia coli and its mechanism on
vascular endothelial cell proliferation", JOURNAL OF CELLULAR AND
MOLECULAR MEDICINE, vol. 24, no. 2, 22 November 2019, pages
1189-1199
- ; -& ZHAO LONGWEI ET AL: "Supporting Information- Production of
bioactive recombinant human myeloid-derived growth factor in Escherichia
coli and its mechanism on vascular endothelial cell proliferation",
JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE,
vol. 24, no. 2, 1 January 2020, pages 1189-1199

Re Item V

**Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial
applicability; citations and explanations supporting such statement**

2 **Novelty and Inventive Step (Articles 33(2) and 33(3) PCT)**

In view of the prior art cited, claims 1-47 appear to be new and inventive (Articles 33(2) and 33(3) PCT), because a MYDGF protein having the amino acid sequence of SEQ ID No. 1 or 2 and the production thereof by expression of the encoding gene in a bacterial host cell and isolation of the protein from inclusion bodies is not disclosed or suggested therein.

- 2.1 D2 discloses the expression of human MYDGF with a C-terminal His-tag from vector pET31b in E. coli cells, lysis of the cells and purification of soluble MYDGF from the supernatant by nickel chelate chromatography (cf. paragraphs 2.1; 2.2 and 3.1). The MYDGF consists of 151 amino acids and is identical to SEQ ID No. 1 and/or 2 except that it contains a methionine residue at the N-terminus and a C-terminal his tag (cf. figure S2 c).

- 2.2 The protein of SEQ ID No. 1 or 2 referred to in claim 1 contains an alanine or serine at the N-terminus, it does not contain a his-tag and is produced in the form of inclusion bodies.

Claim 1 is thus new (Article 33(2) PCT).

- 2.3 The claim can further be considered inventive in the sense of Article 33(3) PCT for the following reasons:

- 2.3.1 D2 is the prior art closest to the subject-matter of claim 1.

- 2.3.2 The subject-matter of the claim differs in that the MYDGF contains an alanine or serine residue at the N-terminus, does not contain a his-tag and is produced in the form of inclusion bodies.

- 2.3.3 The effect that is linked to said difference is a higher productivity of MYDGF (cf. table 5b of the application).

- 2.3.4 The problem to be solved by the present invention may therefore be regarded as the provision of an alternative method for producing MYDGF.

- 2.3.5 The solution proposed in claim 1 of the present application can be considered to involve an inventive step (Article 33(3) PCT), because the skilled person would have had no incentive from the prior art to express a variant of mature human MYDGF in which the N-terminal V residue in position +1 is preceded by an A or an S residue (SEQ ID No's. 1 and 2) in E. coli and because it could not have been expected that expression of such a variant in E. coli would result in a higher productivity compared to cell mass compared to the method of D2.

- 2.3.6 Claims 2-21 all refer back to claim 1 and therefore are also novel and inventive (Articles 33(2) and 33(3) PCT).

- 2.4 **Claim 22** is drafted as a product by process claim and hence, is to be construed as a claim to the product as such. It is noted that a product is not rendered novel merely by the fact that it is produced by means of a new process, but must be novel and inventive per se.

The product of claim 22 is a composition comprising a protein of 143 amino acids having the sequence of SEQ ID No. 1 or 2.

A protein of 143 amino acids having the sequence of SEQ ID No. 1 or 2 is not disclosed in the prior art. Claim 22 is thus new (Article 33(2) PCT).

- 2.5 The claim can further be considered inventive in the sense of Article 33(3) PCT for the following reasons:

- 2.5.1 D1 is regarded as being the prior art closest to the subject-matter of the claim. The document discloses human myeloid-derived growth factor (MYDGF) lacking the N-terminal signal peptide (SEQ ID No. 1, 142 amino acids), which is identical with SEQ ID No. 1 and 2 of the application except that it does not contain a N-terminal alanine and/or serine residue. The document further discloses compositions comprising the MYDGF, such as a pharmaceutical composition and the use of MYDGF or the pharmaceutical composition for treating fibrosis, hypertrophy or heart failure (cf. claims 1, 2, 4, 14 and 15).
- 2.5.2 The subject-matter of claim 22 therefore differs from this known compositions in that the MYDGF comprises 143 amino acids and has the amino acid sequence of SEQ ID No. 1 or 2.
- 2.5.3 The problem that is solved by the subject-matter of claim 22 thus is the provision of an alternative MYDGF protein and/or a composition comprising the protein.
- 2.5.4 The solution proposed in claim 22 can be considered to involve an inventive step (Article 33(3) PCT), because a protein having the amino acid sequence of SEQ ID No. 1 or 2 is not suggested in the prior art.

It is shown in the application that MYDGF comprising an alanine or serine residue at the N-terminus can be produced in high yield by E. coli and recovered from the inclusion bodies with high purity. It is further shown that the protein exhibits a low degree of chemical and post-translational modifications compared to the wild-type MYDGF protein consisting of 142 amino acids (cf. tables 8 and 12).

This could not have been expected in view of the prior art.

Because a protein having the amino acid sequence of SEQ ID No. 1 or 2 is not suggested in the prior art and because it is associated with the effect of a low degree of chemical and post-translational modifications, claim 22 is considered inventive (Article 33(3) PCT).

- 2.5.5 Claims 23-47 all refer back to claim 22 and therefore are also novel and inventive (Articles 33(2) and 33(3) PCT).

Re Item VIII

Certain observations on the international application

3 Clarity (Article 6 PCT)

- 3.1 Claim 1 does not meet the requirements of Article 6 PCT because the matter for which protection is sought is not clearly defined. The claim attempts to define the subject-matter in terms of the result to be achieved ("a protein which after maturation consists of") which merely amounts to a statement of the underlying problem, without providing the technical features necessary for achieving this result.

Said technical features are not an additional step in the method of claim 1, but rather the removal of the N-terminal methionine residue by host-cell derived aminopeptidases (cf. page 23, last paragraph; claims 4 and 5).

- 3.2 Claim 43 refers to a pharmaceutical composition for use in a method of claim 44 or 45, but claims 44 and 45 are not method claims and also do not relate to a pharmaceutical composition, but merely to a composition. Claim 43 is thus unclear (Article 6 PCT).
- 3.3 The same also applies to claims 44-46 and/or 47 which refer to a pharmaceutical composition for use in a method of claim 42 and/or 46, which are also not method claims and do not relate to a pharmaceutical composition, but merely a composition.

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

PCT

INFORME PRELIMINAR INTERNACIONAL SOBRE PATENTABILIDAD

(Capítulo II del Tratado de Cooperación en materia de Patentes)

(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia del expediente del solicitante o del mandatario P 115623	PARA CONTINUAR LA TRAMITACIÓN Ver formulario PCT/IPEA/416	
Solicitud internacional N.º PCT/EP2023/064899	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 03/06/2022	Fecha de prioridad (día/mes/año) 03/06/2022
Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o, a la vez, clasificación nacional e CIP INV. C07K14/435		
Solicitante BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH		
1. El presente informe preliminar internacional sobre patentabilidad, se establece por esta Administración encargada del examen preliminar internacional según el Artículo 35 y se transmite al solicitante conforme al Artículo 36. 2. Este INFORME comprende 8 hojas, incluida la presente hoja de portada. 3. Este informe también contiene ANEXOS, que comprenden: a. ☒ un total de 10 hojas, descritas a continuación: ☒ hojas de la descripción, las reivindicaciones y/o los dibujos que han sido modificadas, y/u hojas que contienen rectificaciones autorizadas por esta Administración, a menos que estas hojas hubieran sido reemplazadas o canceladas, y cualquier escrito de acompañamiento (ver Reglas 46.5, 66.8, 70.16, 91.2 y la Instrucción Administrativa 607 del PCT). ☐ hojas que contienen rectificaciones no tomadas en cuenta por esta Administración porque no estuvieran disponibles en el momento en el que esta Administración comenzó a elaborar este informe, así como los escritos de acompañamiento (Reglas 66.4bis, 70.2.e), 70.16 y 91.2) ☐ hojas de reemplazo y escritos de acompañamiento, que esta Administración considera que, o bien contienen una modificación que se extiende más allá de lo divulgado en la solicitud internacional tal y como fue inicialmente presentada, o bien las hojas de reemplazo no se acompañaron de un escrito indicando la base para la modificación en la solicitud tal y como se presentó, según se indica en el punto 4 del Recuadro I y en el Recuadro Suplementario (ver Regla 70.16.b)). b. ☐ un archivo electrónico independiente que contiene una lista de secuencias (<i>remitido únicamente a la Oficina Internacional</i>).		
4. El presente informe contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes: ☒ Recuadro I Base de este informe ☐ Recuadro II Prioridad ☐ Recuadro III No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial ☐ Recuadro IV Falta de unidad de invención ☒ Recuadro V Declaración motivada según el Artículo 35(2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración ☐ Recuadro VI Ciertos documentos citados ☐ Recuadro VII Defectos en la solicitud internacional ☒ Recuadro VIII Observaciones relativas a la solicitud internacional		
Fecha de presentación de la solicitud de examen preliminar internacional 03/04/2024	Fecha de finalización del presente informe 05/06/2024	
Nombre y dirección postal de la Administración encargada del examen preliminar internacional Oficina Europea de Patentes P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Fax: +3170340 - 3016	Funcionario autorizado Sonnerat, Isabelle Teléfono: +31 70 340-8951	

Recuadro I. Base de este informe

1. Por lo que respecta al **idioma**, este informe se ha establecido sobre la base:

- ☒ de la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó
☐ de una traducción del idioma original al siguiente idioma _____, que es el de una traducción proporcionada a los fines de:
☐ búsqueda internacional (según Reglas 12.3.a) y 23.1.b))
☐ publicación de la solicitud internacional (según Regla 12.4.a))
☐ examen preliminar internacional (según Reglas 55.2.a) y/o 55.3.a) y b))

2. Por lo que respecta a los **elementos*** de la solicitud internacional, esta opinión se ha establecido sobre la base de *(las hojas de reemplazo que hayan sido enviadas a la Oficina Receptora en respuesta a un requerimiento según el Artículo 14 se las denomina en este informe como “inicialmente presentadas” y no se anexan al informe)*:

Descripción, páginas

1-61, tal como se presentaron/enviaron inicialmente

Listados de secuencias, SEQ ID NO

1-18, tal como se presentaron/enviaron inicialmente

Reivindicaciones, números

1-47, presentadas con la carta del 02/04/2024

Dibujos, páginas

1/8-8/8, tal como se presentaron/enviaron inicialmente

- ☒ una lista de secuencias - ver Recuadro Suplementario relativo a listas de secuencias

3. ☒ Las modificaciones ha ocasionado la anulación de:

- ☐ la descripción, páginas _____
☒ las reivindicaciones, Nos. 48-50
☐ los dibujos, hojas/fig. _____
☐ la lista de secuencias (precisar): _____

4. ☐ Esta opinión se ha establecido como si (algunas de) las modificaciones listadas más abajo no se hubieran realizado ya que, o bien se considera que van más allá de la divulgación de la invención tal como fue presentada, o bien no se acompañaron de una carta indicando la base para las modificaciones en la solicitud tal y como se presentó, como se indica en el Recuadro Suplementario (Regla 70.2.c) y c-bis)).

- ☐ la descripción, páginas _____
☐ las reivindicaciones, Nos. _____
☐ los dibujos, hojas/fig. _____
☐ la lista de secuencias (precisar): _____

5. ☐ Esta opinión se ha establecido:

- ☐ tomando en consideración la **rectificación de un error evidente** autorizado por o notificado a esta Administración según la Regla 91 (Reglas 66.1.d-bis) y 70.2.e)).
☐ sin tomar en consideración la **rectificación de un error evidente** autorizado por o notificado a esta Administración según la Regla 91 (Reglas 66.4bis y 70.2.e)).

6. ☒ Por lo que respecta a las búsquedas complementarias (Reglas 66.1ter y 70.2.f):

- ☒ esta Administración ha realizado una búsqueda complementaria el 22/05/2024 (todos los documentos descubiertos figuran en el Recuadro complementario relacionado con la búsqueda complementaria)
☐ se han recuperado documentos adicionales durante la búsqueda complementaria
☐ esta Administración no ha realizado búsqueda complementaria por considerar que no sería de utilidad.

7. ☐ El(los) informe(s) de búsqueda internacional suplementario(s) emitido(s) por la(s) Administración(es) _____ ha(n) sido recibido(s) y tomados(s) en consideración para establecer esta opinión (Regla 45bis.8.b) y c))

* Si se utiliza el punto 4, algunas o todas estas páginas pueden llevar el sello de “sustituida”.

Recuadro V. Declaración motivada según el Artículo 35.2) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

Novedad	Reivindicaciones	1-47
	Reivindicaciones	
Actividad inventiva	Reivindicaciones	1-47
	Reivindicaciones	
Aplicación industrial	Reivindicaciones	1-47
	Reivindicaciones	

2. Citas y explicaciones (Norma 70.7):

Ver página separada

Recuadro VIII. Observaciones relativas a la solicitud internacional

Se formulan las observaciones siguientes sobre la claridad de las reivindicaciones, de la descripción y de los dibujos y sobre si las reivindicaciones se fundan totalmente en la descripción:

Ver página separada

Recuadro Suplementario relativo a Listas de Secuencias

Continuación del Recuadro I, punto 2:

1. En lo que se refiere a las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos divulgadas en la solicitud internacional y necesarias para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido sobre la base de una lista de secuencias:

a. ☒ que forma parte de la solicitud internacional tal y como se presentó.

b. ☐ presentada con posterioridad a la fecha de presentación internacional a los fines de la búsqueda internacional y/o del examen:

☐ acompañada de una declaración según la cual la lista de secuencias no excede la divulgación contenida en la solicitud internacional tal como se presentó.

c. ☐ presentada a esta Administración como una modificación* según el Artículo 34 del PCT en fecha _____.

2. ☐ En lo que se refiere a las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos divulgadas en la solicitud internacional y necesarias para la invención reivindicada, este informe se ha establecido en la medida en que fue posible formular la opinión significativa mencionada en el Artículo 33.1) en ausencia de una lista de secuencias conforme con la Norma ST.26 de la OMPI.

3. Comentarios adicionales:

** Si se aplica el punto 4 de la casilla n° 1, la lista de Secuencias, que forma parte de la base del informe, puede marcarse como "sustituido".*

1. Referencias

Se hace referencia a los siguientes documentos:

- D1 WO 2021/148411 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM INT [DE]; MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER [DE]), 29 de julio de 2021
- D2 ZHAO LONGWEI ET AL: "Production of bioactive recombinant human myeloid-derived growth factor in Escherichia coli and its mechanism on vascular endothelial cell proliferation", JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE, vol. 24, no. 2, 22 de noviembre 2019, páginas 1189-1199
- ; -& ZHAO LONGWEI ET AL: "Supporting Information- Production of bioactive recombinant human myeloid-derived growth factor in Escherichia coli and its mechanism on vascular endothelial cell proliferation", JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE, vol. 24, no. 2, 1 de enero 2020, páginas 1189-1199

Re Punto V

Declaración motivada sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

2 Novedad y nivel inventivo (Artículos 33(2) y 33(3) PCT)

En vista del arte previo citado, las reivindicaciones 1-47 parecen ser novedosas e inventivas (Artículos 33(2) y 33(3) PCT), porque una proteína MYDGF que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID No. 1 o 2 y la producción de la misma mediante la expresión del gen codificante en una célula huésped bacteriana y el aislamiento de la proteína a partir de cuerpos de inclusión no se divulga ni se sugiere en la misma.

2.1 D2 divulga la expresión de MYDGF humano con una etiqueta His C-terminal a partir de células E. coli del vector pET31bin, lisis de las células y la purificación de MYDGF soluble a partir del sobrenadante mediante cromatografía de quelato de níquel (cf. párrafos 2.1; 2.2 y 3.1). El MYDGF consta de 151 aminoácidos y es idéntico a las SEQ ID NO. 1 y/o 2, salvo que contiene un residuo de metionina en el extremo N y una etiqueta his C-terminal (cf. figura S2 c).

2.2 La proteína de SEQ ID NO. 1 o 2 a la que se refiere la reivindicación 1 contiene una alanina o serina en el extremo N, no contiene una etiqueta his y se produce en forma de cuerpos de inclusión.

Por tanto, la **Reivindicación 1** es novedosa (Artículo 33(2) PCT).

2.3 La reivindicación puede considerarse inventiva de acuerdo con el Artículo 33(3) PCT por las siguientes razones:

2.3.1 D2 es el arte previo más cercano al objeto de la reivindicación 1.

2.3.2 El objeto de la reivindicación difiere en que el MYDGF contiene un residuo de alanina o serina en el extremo N, no contiene una etiqueta his y se produce en forma de cuerpos de inclusión.

2.3.3 El efecto que se asocia a dicha diferencia es una mayor productividad de MYDGF (cf. tabla 5b de la solicitud).

2.3.4 El problema a resolver por la presente invención puede, por tanto, considerarse como el suministro de un método alternativo para producir MYDGF.

2.3.5 La solución propuesta en la reivindicación 1 de la presente solicitud puede considerarse que tiene nivel inventivo (Artículo 33(3) PCT), porque el experto en el arte no habría tenido ningún incentivo de la técnica anterior para expresar una variante de MYDGF humano maduro en la que el residuo V N-terminal en posición +1 está precedido por un residuo A o S (SEQ ID NO. 1 y 2) en *E. coli* y porque no podría esperarse que la expresión de dicha variante en *E. coli* diera como resultado una mayor productividad en comparación con la masa celular en comparación con el método de D2.

2.3.6 Las reivindicaciones 2 a 21 hacen referencia a la reivindicación 1 y, por lo tanto, también son novedosas e inventivas (Artículos 33(2) and 33(3) PCT).

2.4 La **reivindicación 22** está redactada como una reivindicación de producto por proceso y, por lo tanto, debe interpretarse como una reivindicación del producto como tal. Se observa que un producto no se vuelve novedoso simplemente por el hecho de que se produce mediante un nuevo proceso, sino que debe ser novedoso e inventivo per se.

El producto de la reivindicación 22 es una composición que comprende una proteína de 143 aminoácidos que tiene la secuencia de SEQ ID NO. 1 o 2.

En el arte previo no se describe una proteína de 143 aminoácidos que tenga la secuencia de SEQ ID NO. 1 o 2. Por lo

tanto, la reivindicación 22 es novedosa (Artículo 33(2) PCT).

2.5 La reivindicación también puede considerarse inventiva de acuerdo con el Artículo 33(3) PCT por las siguientes razones:

2.5.1 D1 es considerado el arte previo más cercano al objeto de la reivindicación. El documento divulga el factor de crecimiento humano derivado de mieloides (MYDGF) que carece del péptido señal del extremo N-terminal (SEQ ID NO. 1, 142 aminoácidos), que es idéntico a las SEQ ID NO. 1 y 2 de la solicitud, solo que no contiene un residuo de alanina y/o serina en el extremo N-terminal. El documento divulga, además, composiciones que comprenden el MYDGF, tales como una composición farmacéutica y el uso del MYDGF o de la composición farmacéutica para tratar la fibrosis, la hipertrofia o la insuficiencia cardíaca (cf. reivindicaciones 1, 2, 4, 14 y 15).

2.5.2 Por lo tanto, el objeto de la reivindicación 22 difiere de estas composiciones conocidas en que el MYDGF comprende 143 aminoácidos y tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 1 o 2.

2.5.3 El problema resuelto por el objeto de la reivindicación 22 es, por tanto, la provisión de una proteína MYDGF alternativa y/o una composición que comprenda la proteína.

2.5.4 La solución propuesta en la reivindicación 22 puede considerarse que implica una actividad inventiva (Artículo 33(3) PCT), porque el arte previo no menciona una proteína que tenga la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 1 o 2.

La solicitud muestra que el MYDGF que comprende un residuo de alanina o serina en el N-terminal puede producirse en alto rendimiento por *E. coli* y recuperarse de los cuerpos de inclusión con alta pureza. Además, se demuestra que la proteína presenta un bajo grado de modificaciones químicas y postraduccionales en comparación con la proteína MYDGF de tipo salvaje que consta de 142 aminoácidos (cf. tablas 8 y 12).

Esto no podía esperarse teniendo en cuenta el estado de la técnica.

Debido a que el arte previo no menciona una proteína que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO. 1 o 2, y debido a que se asocia con el efecto de un bajo grado de modificaciones químicas y postraduccionales, la reivindicación 22 se considera inventiva (Artículo 33(3) PCT).

2.5.5 Todas las reivindicaciones 23-47 hacen referencia a la reivindicación 22 y, por lo tanto, también son novedosas e inventivas (Artículos 33(2) y 33(3) PCT).

Re Punto VIII

Observaciones sobre la solicitud internacional

3. Claridad (Artículo 6 PCT)

3.1 La reivindicación 1 no cumple los requisitos del Artículo 6 PCT porque el objeto para el que se solicita protección no está claramente definido. La reivindicación intenta definir el objeto en términos del resultado por alcanzar (“una proteína que, después de la maduración, consiste en ...”), lo que equivale simplemente a una declaración del problema subyacente, sin proporcionar las características técnicas necesarias para alcanzar este resultado.

Dichas características técnicas no son un paso adicional en el método de la reivindicación 1, sino la eliminación del residuo de metionina del extremo N-terminal por aminopeptidasas derivadas de la célula huésped (cf. página 23, último párrafo; reivindicaciones 4 y 5).

3.2 La reivindicación 43 se refiere a una composición farmacéutica para su uso en un método de las reivindicaciones 44 o 45, pero las reivindicaciones 44 y 45 no son reivindicaciones de método y tampoco se refieren a una composición farmacéutica, sino simplemente a una composición. Por tanto, la reivindicación 43 no es clara (Artículo 6 PCT).

3.3 Lo mismo se aplica a las reivindicaciones 44-46 y/o 47 que se refieren a una composición farmacéutica para su uso en un método de la reivindicación 42 y/o 46, que tampoco son reivindicaciones de método y no se refieren a una composición farmacéutica, sino simplemente a una composición.