

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. 17980 notificado electrónicamente el 4 de octubre de 2024, relacionado con el requerimiento de fondo de la solicitud, y de acuerdo con la reunión sostenida el pasado 21 de noviembre con las examinadoras Molkary Andrea López de la Torre y Juanita Andrea Carvajal Guerra, 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 una (1) reivindicación y reemplaza completamente el capítulo presentado el 14 de junio de 2024. Específicamente, se realizaron las siguientes modificaciones:

1.1 Se modificó la reivindicación 1 de modo que:

- Se estableció que la solución de adhesión de la etapa a) contiene la molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), a una concentración de 10µg/ml. Esta modificación se encuentra sustentada en la antigua reivindicación 3, y en la descripción como fue originalmente presentada, en particular en el ejemplo 3, que menciona:

"Se realizaron de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 2. Para estos ensayos de migración la cámara superior de pozo de la caja se incubó con 50 µL de la solución de adhesión

compuesta por la proteína recombinante VCAM-1 (Sigma-Aldrich, Life Science, USA) a una concentración de 10 µg/mL durante toda la noche a 37°C con una atmósfera de 5% de CO₂" (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 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"

Asimismo, en el ejemplo 4 la descripción proporciona soporte para las características de los medios condicionados mencionadas en la nueva reivindicación 1:

"Los MeCoCEM se colectaron de dos donantes (MeCoCEM 1 y MeCoCEM 2) de CEM cultivadas en tercer pase. (Figura 4)"

De este modo, 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 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. Esta modificación se encuentra sustentada en la antigua reivindicación 2 y en la descripción como fue originalmente

presentada, específicamente en la Figura 3 y en la página 13, en donde se menciona:

"Se detectaron siete factores (Eotaxina, HGF, IL-6, IL8, MCP-1, VEGF-1 y G-CSF) de los treinta analizados con Luminex para la lectura del kit. Se observó un aumento discreto de la señal de estos factores conforme avanzó el tiempo de cultivo para la recolección de los MeCo en CEM 5 de 3er y 6to pase (Figura 3)"

1.2 Se eliminaron las antiguas reivindicaciones 2 a 9.

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 la examinadora en su concepto técnico.

Además, me permito manifestar que las modificaciones realizadas en esta oportunidad se realizan sin que por ello deba interpretarse que el solicitante acepta alguna de las objeciones establecidas en el oficio de la providencia y sin perjuicio o renuncia de los derechos del solicitante de buscar la protección de la materia allí contenida en etapas posteriores del trámite.

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 la examinadora en su concepto técnico. En particular, frente a cada objeción, me permito señalar lo siguiente:

- 2.1** La examinadora señala que el capítulo reivindicatorio no sería claro, toda vez que en su opinión los elementos esenciales de la invención se encuentran distribuidos en diferentes reivindicaciones. De este modo, la examinadora sugiere replantear el capítulo reivindicatorio, de manera que la reivindicación independiente incluya todas las características o condiciones técnicas esenciales de la invención que se desea proteger. En concreto, se sugiere

referirse en la reivindicación independiente a la mezcla de agentes del medio condicionado mencionadas en la dependiente 2 y el medio específico mencionado en la reivindicación 6, la molécula de adhesión de la solución mencionadas en la dependiente 3 con la concentración específica divulgada por la descripción de 10 µg/ml, el medio de migración, componentes con su concentración y agentes quimiotácticos adicionales mencionados en reivindicaciones 7, 8 y 9.

En vista de esta observación, el solicitante ha decidido modificar el capítulo reivindicatorio como se mencionó en la sección 1 del presente memorial. De este modo, se ha planteado una reivindicación 1 que define de manera concreta las condiciones de las etapas a) y b), de acuerdo con el contenido de las anteriores reivindicaciones 2 y 3.

Ahora bien, en cuanto a la sugerencia de incluir las características de las antiguas reivindicaciones 7 a 9, el solicitante manifiesta su desacuerdo.

En primer lugar, es importante tener en cuenta que el 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, señala que:

"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)

Al respecto, tal como se mencionó anteriormente, la presente invención se relaciona con una metodología que permite cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de

células progenitoras hematopoyéticas (CPH) viables. 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), que presentan características específicas de obtención y composición en términos de presencia de agentes, 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). Por lo tanto, la nueva reivindicación 1 menciona las características técnicas esenciales de la invención de acuerdo con las disposiciones de la Guía de examen emitida por su Despacho.

En segundo lugar, tal como lo sabe la persona normalmente versada en la materia, existen múltiples alternativas disponibles para establecer y mantener un cultivo celular, por lo que las condiciones específicas del mismo (tales como la composición específica del medio de cultivo o el tipo de suplementación a incluir) deben ser evaluadas y optimizadas al momento de establecer un cultivo celular funcional, pues dependen de las opciones e infraestructura disponibles.

En este sentido, el solicitante se permite señalar que los medios de cultivo DMEM y RPMI -mencionados en las antiguas reivindicaciones 6, 8 y 9-, así como la suplementación con albúmina sérica bovina (BSA) y albúmina sérica humana (HSA) -mencionadas en las antiguas reivindicaciones 8 y 9-, son alternativas comerciales bien conocidas por la persona del campo técnica que hacen parte del estado de la técnica, por lo que no son lo que separa la invención del estado de la técnica, ni mucho menos son responsables del efecto técnico demostrado por la invención. Por lo tanto, dichas especificaciones técnicas no deben ser consideradas como características técnicas de la invención.

Además, el solicitante desea resaltar que los ejemplos de la solicitud demuestran que la solución al problema técnico planteado reside en la inclusión de los medios

condicionados obtenidos del cultivo de 24 h de células estromales mesenquimales en el buffer de migración, y no en la presencia de agentes adicionales como los mencionados en la antigua reivindicación 7. Por lo tanto, la persona normalmente versada en la materia también comprendería que dichos agentes adicionales no son necesarios para reproducir la invención.

Por lo tanto, las características mencionadas en las antiguas reivindicaciones 7 a 9 no son esenciales para la invención, y, por lo tanto, no es necesario limitar la reivindicación independiente de acuerdo con las mismas.

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

- 2.2** La examinadora señala que la reivindicación 1 no sería clara, toda vez que no define todas las condiciones técnicas esenciales que definen el método y permiten su reproducción. Por lo tanto, la examinadora sugiere definir la solución de adhesión, la molécula atrayente en el compartimento haptotáptico, el buffer de migración, el agente quimiotáctico y el medio condicionado.

En vista de esta observación, el solicitante ha decidido modificar la reivindicación 1 para definir de manera más concreta las condiciones de las etapas a) y b). Específicamente, la nueva reivindicación 1 define las características de la solución de adhesión (definiendo la molécula de citoadhesión y su concentración) y del medio condicionado encontrado en el buffer de migración de la etapa b), (incluyendo la mezcla de agentes presente en el medio condicionado obtenido del cultivo de células mesenquimales estromales durante 24 h).

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

- 2.3** Del mismo modo, la examinadora 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, la examinadora sugiere definir la solución de adhesión, la molécula atrayente en el compartimento haptotáptico, el buffer de migración, el agente quimiotáctico y el medio condicionado.

Al respecto me permito resaltar que, aun cuando el solicitante no comparte la opinión de la examinadora, 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 la nueva reivindicación 1 define las características esenciales de la solución de adhesión, las cuales se relacionan con la presencia de una molécula de citoadhesión específica, a una concentración dada. Además, la nueva reivindicación 1 señala las características esenciales que permiten definir el buffer de migración, esto es, la presencia del medio condicionado obtenido del cultivo de células estromales mesenquimales que comprende una mezcla de agentes específica (como se describe en los ejemplos 2 y 3).

Estas condiciones están plenamente soportadas por la descripción, y en particular, por los ejemplos de la solicitud originalmente presentada. Por lo tanto, respetuosamente solicito que la objeción con respecto al sustento en la descripción se dé por superada.

- 2.4** De otro lado, la examinadora señala que la reivindicación 1 tampoco sería clara porque, en su opinión, la definición dada al agente quimiotáctico no permite definir el buffer de migración, por lo que sugiere *"referirse de manera concreta al medio DMEM y a la mezcla de los siete agentes mencionados en la descripción "Eotaxina, HGF, IL-6, IL8, MCP-1, VEGF-1 y G-CSF".*

Al respecto me permito resaltar las modificaciones realizadas en la nueva reivindicación 1, en donde se establece que 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, tal como se menciona en la Figura 3 y en la página 13 de la solicitud.

Ahora bien, en cuanto a la solicitud de restringir la reivindicación 1 por medio de la limitación al medio de cultivo DMEM, de acuerdo con los ejemplos de la solicitud, me permito señalar mi desacuerdo.

En este sentido, me permito señalar que la guía de examen señala en su página 122, que:

"Las reivindicaciones son generalizaciones de los ejemplos, por lo cual la reivindicación no será tan amplia que vaya más allá de la invención, pero tampoco tan limitada como para que la invención divulgada no quede protegida"

Ahora bien, 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), en donde dicha metodología se caracteriza por la aplicación de los medios condicionados obtenidos del cultivo de células estromales mesenquimales (MeCoCEM), como estímulos quimiotácticos. Por lo tanto, la característica esencial que define el buffer de migración es la presencia de un medio condicionado obtenido del cultivo de células estromales mesenquimales (MeCoCEM) en tercer pase, el cual comprende un conjunto de citocinas particular. Dichas características ya se establecen en la reivindicación 1, ofreciendo así una guía clara para que la persona normalmente versada en la materia pueda reproducir la invención y, además, distinguiendo claramente la materia reclamada del estado de la técnica, como se explicará a continuación.

Es importante destacar que los medios de cultivo aptos para el crecimiento de células son plenamente conocidos¹, por lo que la persona normalmente versada en la materia estaría al tanto de que existen múltiples alternativas comerciales y no comerciales que permitirían llegar a los mismos resultados.

Así, la persona normalmente versada en la materia comprenderá que el cultivo celular implica seleccionar condiciones que permitan el crecimiento de las células, lo cual requiere ajustar los componentes del cultivo de acuerdo con las alternativas disponibles, por lo que no sería adecuado definir una única alternativa para todos los casos. La persona normalmente versada deberá seleccionar las condiciones apropiadas en cada instancia para garantizar el crecimiento de las células y la reproducibilidad del método de la invención.

Además, contrario a lo señalado por la examinadora, aun sin definir aspectos rutinarios del método, como el medio de cultivo específico, la reivindicación es clara. La persona normalmente versada en la materia podría fácilmente comprender el alcance de la reivindicación, toda vez que los medios de cultivo que pueden ser empleados para el crecimiento de las células han sido descritas ampliamente en el estado de la técnica.

Por último, pero no menos importante, me permito resaltar que la objeción de la examinadora va en contra de los objetivos del sistema de patentes. Acceder a

¹ <https://www.fishersci.es/es/es/scientific-products/featured-categories/classical-basal-cell-culture-media/cell-culture-media.html>

especificar todos los aspectos señalados por la examinadora en la reivindicación independiente (por ejemplo, limitando el medio de cultivo a alternativas predeterminadas), daría como resultado una reivindicación de patente excesivamente limitada de reducida eficacia, ya que cubriría solo un conjunto estrecho de características y dejaría sin protección muchos aspectos del concepto inventivo desarrollado por el solicitante. En consecuencia, seguir las sugerencias de la examinadora facilitaría que competidores emplearan métodos como los de la invención, sin infringir la patente, es decir, dejaría la invención vulnerable a imitaciones o variaciones mínimas y rutinarias por parte de terceros.

Esto no solo socava la ventaja competitiva del titular de la eventual patente, sino que desincentiva la investigación y el desarrollo continuos. Así, tal como lo señalan las directrices de examen emitidas por su despacho, desde un punto de vista estratégico y de protección efectiva, una reivindicación debe ser lo suficientemente amplia como para abarcar las posibles variaciones, en línea con el propósito del sistema de patentes.

Por lo tanto, amablemente solicito que la objeción al respecto se dé por superada.

- 2.5** Por último, la examinadora señala que la reivindicación 4 tampoco estaría sustentada en la descripción porque el rango de concentración mencionado no se correlaciona con la divulgación de la solicitud.

Al respecto me permito resaltar que la antigua reivindicación 4 no hace parte del capítulo reivindicatorio presentado junto a este memorial. Por lo tanto, la objeción no es aplicable al nuevo capítulo.

En consecuencia, me permito indicar que el presente capítulo reivindicatorio, que incluye una (1) reivindicación, se ajusta a las disposiciones del artículo 30 de la Decisión 486/00.

4 Descripción

La examinadora 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, la examinadora 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 de la examinadora, 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 pase, el cual contiene los factores HGF, IL-6, IL8, MCP-1, VEGF-1 y G-CSF, y en donde la solución de adhesión contiene la molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), a una concentración de 10 µg/ml.

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).

Asimismo, en el Numeral 4.4.e de la ya mencionada guía colombiana de examen, se señala que:

"En referencia a la mejor manera de realizar la invención se considerará que los ejemplos son casos particulares que sirven para ilustrar la mejor manera conocida por el solicitante para ejecutar o llevar a la práctica la invención. Dado que la solicitud está dirigida a la persona del oficio normalmente versada en el ámbito tecnológico, no es necesario, ni deseable, incluir características, ni detalles que sean bien conocidos, sino que deberá divulgar las características esenciales para poner en práctica la invención, sin que ello requiera de un esfuerzo inventivo que sea superior a las habilidades ordinarias de dicha persona. Este requisito se entenderá superado con la divulgación de una razonable generalización de los ejemplos más representativos de la invención." (Pág. 121)

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 directrices 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.

De esta manera, aun cuando los ejemplos de la descripción, a los que hace referencia la examinadora 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, como se mencionó previamente, la solicitud de la examinadora sobre restringir el alcance de la materia reclamada únicamente a las condiciones particulares de los ejemplos no solo no tiene en cuenta los lineamientos locales y comunitarios, sino que va en contra de los mismos principios del sistema de patentes. Aceptar las sugerencias de la examinadora resultaría en una limitación indebida del concepto inventivo desarrollado por el inventor, 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 medios y condiciones de cultivo 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 Nivel inventivo

La examinadora establece en su concepto técnico que las antiguas reivindicaciones 1 a 8 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). Siendo D1 el documento más cercano del estado de la técnica.

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.

Sobre el problema técnico planteado

Como se discutió en la reunión del 21 de noviembre, existe una problemática relevante: la necesidad de desarrollar metodologías que evalúen la actividad proliferativa, la

capacidad de anidación y diferenciación de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) antes del trasplante, con mayor precisión y rapidez que los ensayos de clonogenicidad utilizados actualmente.

El trasplante de CPH, una terapia celular basada en la infusión de estas células para regenerar el tejido hematopoyético en pacientes con alteraciones hematológicas, requiere que las CPH migren a la médula ósea (MO), se injerten en el nicho hematopoyético (NH) y proliferen. Por ello, antes del procedimiento, es fundamental evaluar tanto el inmunofenotipo como la funcionalidad de las CPH.

Actualmente, la capacidad proliferativa y de diferenciación de las CPH se mide mediante ensayos de clonogenicidad, los cuales evalúan la formación de unidades formadoras de colonias (UFC). Este proceso implica un conteo manual bajo el microscopio, que no solo es laborioso y dependiente del observador (generando altos niveles de error), sino que también requiere un periodo mínimo de siete días de cultivo celular.

La presente invención aborda esta necesidad insatisfecha mediante una prueba funcional que predice la respuesta de las CPH a estímulos específicos del NH que facilitan su anidación o "*homing*". La estimulación con agentes que están en el NH permite establecer las diferencias interindividuales en la respuesta de las células de los distintos donantes, obteniendo el resultado en menos de 24 horas. Las diferencias interindividuales permiten definir las células más funcionales, y escoger el mejor entre distintos donantes, tal como se hace actualmente con los ensayos clonogénicos. La integridad de la capacidad migratoria de estas células es definitiva para llevar a cabo su función final y la invención descrita la revela con mayor precisión. Por otro lado, esta invención permitiría determinar en muestras de pacientes de enfermedades de origen neoplásico, una mayor o menor predisposición de las células malignas a migrar a determinado nicho, o a hacer metástasis a ciertos tejidos. Adicionalmente, la técnica desarrollada facilita la purificación de células con capacidad migratoria hacia el NH, ofreciendo una herramienta clínica con aplicaciones significativas.

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 además, para separar dichas células. Este método se ilustra a continuación:

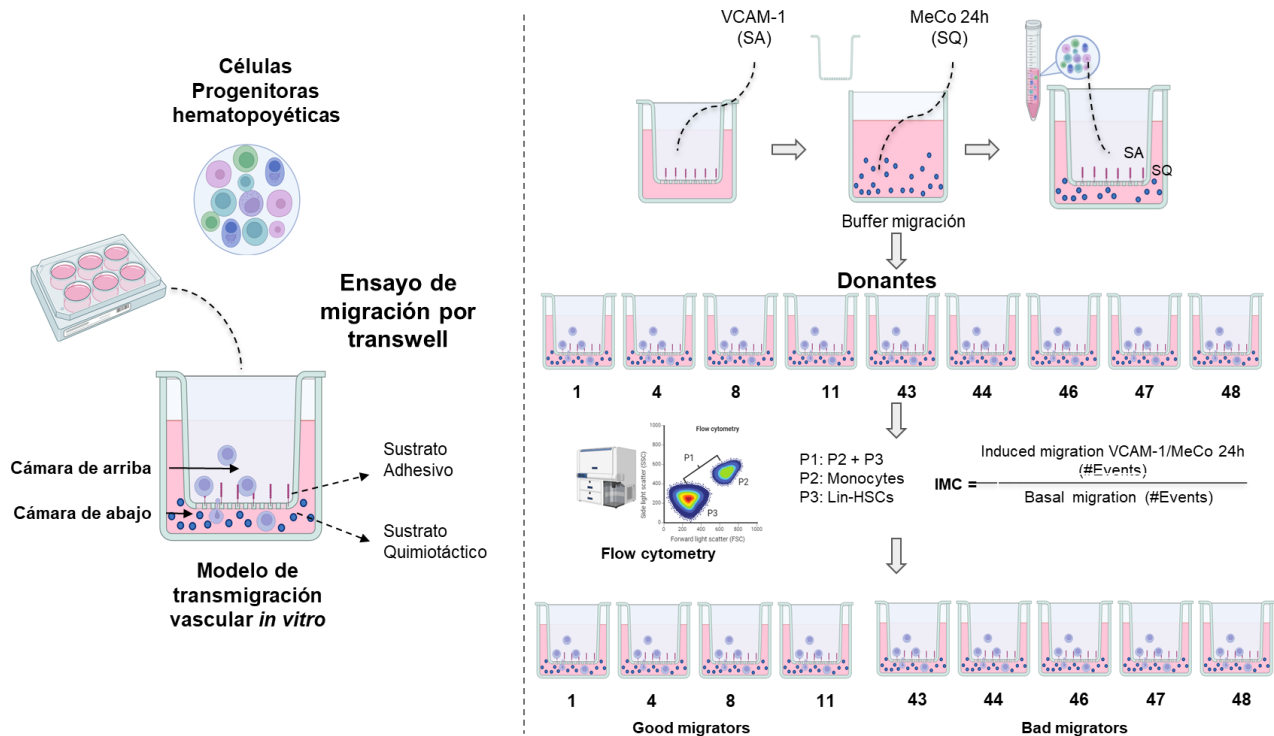


Ilustración A. Modelo de separación celular, cuantificación y evaluación de actividad *in vitro* de distintos donantes de células progenitoras hematopoyéticas. Se separan en la cámara de abajo las células que migran hacia el sustrato quimiotáctico (SQ), a través de una membrana porosa tratada con un sustrato adhesivo (SA). El SA (VCAM-1) se incuba en la cámara superior y el SQ (MeCOCEM 24 h) se siembra en la cámara inferior, se suspenden las células de los donantes a evaluar, después de 2 - 5 h se recolecta el contenido de la cámara inferior y se cuentan los eventos celulares. Se realiza el mismo procedimiento con cámaras que no contienen ningún estímulo. El índice de migración celular (IMC) se calcula dividiendo el número de eventos que se cuentan en los pozos de las cámaras con estímulos (SA/SQ) sobre el número de eventos que se cuentan en las cámaras de los pozos sin estímulo.

La nueva reivindicación 1 establece las etapas del método, como sigue:

- incubar durante 12 a 24 horas en una superficie o compartimento haptotáctico una solución de adhesión, en donde la solución de adhesión contiene molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), en una concentración de 10 µg/ml;
- 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 h de células estromales mesenquimales expandidas en tercer pase,

- 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,
- 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, con 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.

Los ejemplos 4 y 7 de la solicitud, y las Figuras 4 y 7, ilustran la manera en que el método de la invención funciona, y demuestran la actividad como agente quimiotáctico de los medios condicionados que permiten que dicho método se lleve a cabo. Como se observa en dichas figuras, los medios de cultivo condicionado por células mesenquimales estromales, en tercer pase, recolectados a las 24 horas de cultivo, poseen actividad como agentes quimiotácticos e inducen una migración que permite diferenciar la funcionalidad de células de distintos donantes de CPH y células leucémicas de distintos tipos.

Diferencias de la materia reclamada y el documento D1

Como puede verse en su resumen, el documento D1 se refiere a:

"métodos cuantitativos que miden la cantidad de HSPC movilizadas según criterios específicos, así como sus propiedades funcionales in vitro e in vivo. Los ensayos descritos son útiles para evaluar la movilización de células progenitoras tanto en HSPC humanas como murinas."

Por lo tanto, el documento D1 se refiere al mismo problema técnico que busca resolver la presente invención. En particular, el documento D1 divulga un ensayo de migración *in vitro* en cámaras transwell (numerales 2.4 y 3.2.2).

Tal como lo reconoce la examinadora en la tabla comparativa del oficio No. 17980, en el método divulgado en D1 el buffer de migración comprende 125 ng/mL de SDF-1 α . De esta manera, contrario a la presente invención, el documento D1 no se refiere a la actividad como agentes quimiotácticos de los medios condicionados de células mesenquimales estromales. El documento D1 tampoco presenta ninguna sugerencia sobre la aplicación de un buffer de adhesión que comprende 10 μ g/ml de VCAM-1.

Por el contrario, el método de la presente solicitud se basa en las sorprendentes características funcionales de los medios de cultivo condicionados por células mesenquimales estromales, y en particular, los medios de cultivo obtenidos a las 24 h de cultivo en pase 3, los cuales han sido caracterizados demostrando que poseen un conjunto de citocinas particular.

Efecto técnico relacionado con la diferencia con el documento D1

La aplicación de medios de cultivo condicionados, obtenidos tras 24 horas de cultivo de células mesenquimales estromales en su tercer pase, induce diferencialmente la migración de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) en niveles comparables, e incluso superiores, a los logrados con estímulos previamente conocidos, como el SDF-1 (también conocido como CXCL-12). Este efecto se observa tanto en células progenitoras hematopoyéticas como en células leucémicas (véase Figuras 4 y 7 de la solicitud).

La migración diferencial inducida se ha comprobado en muestras de células progenitoras hematopoyéticas de diferentes donantes de sangre de cordón umbilical (SCU), como se muestra a continuación:

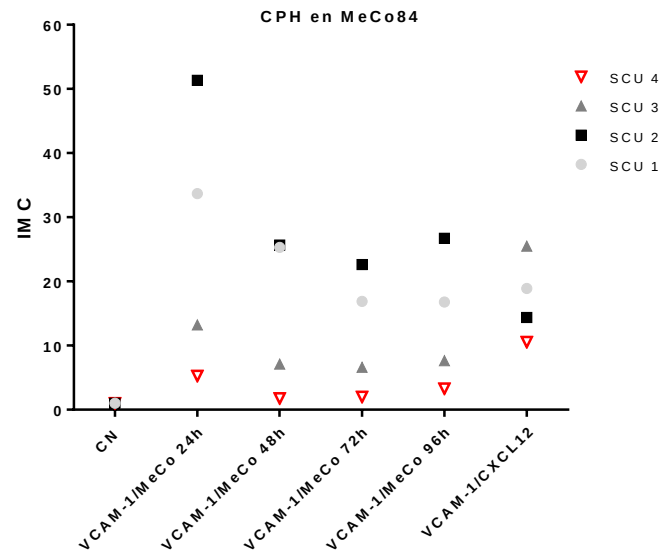


Figura A. Índice de migración ante VCAM-1 de células progenitoras hematopoyéticas de cuatro donantes de sangre de cordón umbilical (SCU), estimulados con MeCoCEM de tercer pase, del donante 84, tomados a las 24, 48, 72 y 96 h, como agentes quimiotácticos. Se muestra la estimulación quimiotáctica con CXCL-12 (SDF-1). IMC: Índice de migración celular.

Además, a diferencia de los resultados obtenidos con la estimulación mediante SDF-1, los inventores han demostrado que los medios condicionados permiten determinar de manera precisa el potencial migratorio de células de distintos donantes de sangre de cordón umbilical, como fuente de CPH. Esto hace posible identificar y separar aquellas células con mayor potencial migratorio, como se evidencia en la siguiente figura:

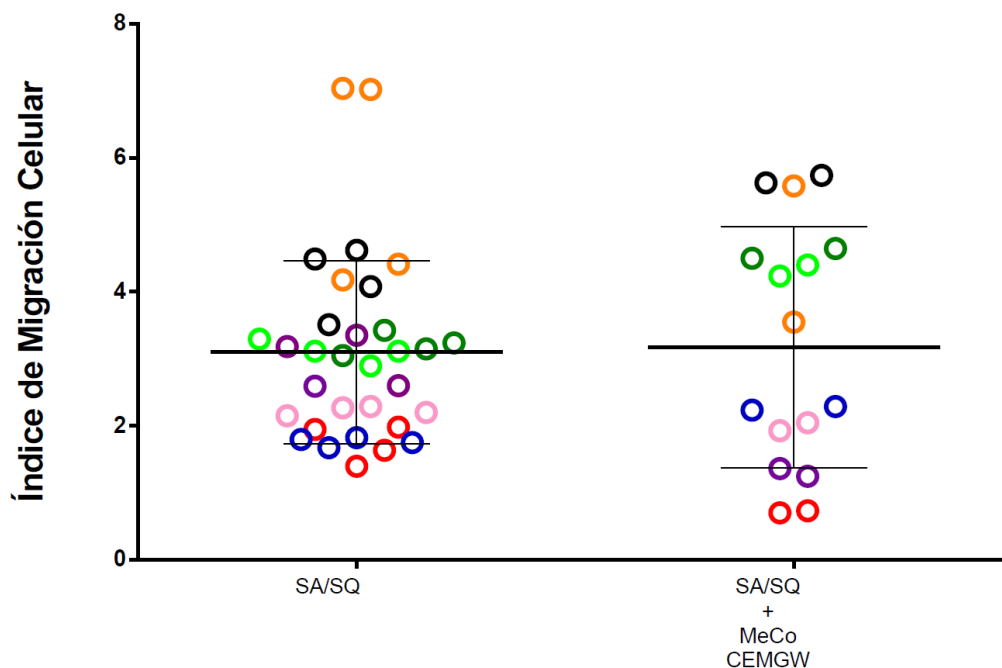


Figura B. Migración ante VCAM-1 y CXCL-12 (SA/SQ) de células de sangre de cordón umbilical de distintos donantes (cada donante está identificado con un color), en ausencia de MeCoCEM (izquierda) o en presencia de MeCoCEM de tercer pase del cultivo de 24 h (derecha). Izquierda, no se logra diferenciar la fuente de células en función de su índice de migración. Derecha, al agregar MeCoCEM como agente quimiotáctico se discrimina claramente entre los donantes de las células según su índice de migración.
SA: Solución de adhesión; SQ: Solución quimiotáctica

La diferencia no es anticipada por D2

De acuerdo con el contenido del documento D2, y como se detalla en la tabla comparativa del Oficio No. 17980, este documento divulga un método *in vitro* para evaluar la capacidad de migración, actividad proliferativa y diferenciación de cultivos de células progenitoras hematopoyéticas (CPH, células CD34+) antes del trasplante, utilizando como estímulo de migración el factor SDF-1.

Sin embargo, al igual que D1, y en contraste con la presente invención, el documento D2 no menciona que el buffer de migración contenga un medio de cultivo condicionado que presenta un contenido de citocinas particulares, como se especifica en la nueva reivindicación 1.

Por lo tanto, D2 no subsana las diferencias identificadas en D1, ya que no proporciona ninguna enseñanza relacionada con las propiedades sorprendentes de los medios

condicionados obtenidos tras 24 horas de cultivo de células estromales mesenquimales en tercer pase, utilizados como agentes quimiotácticos en el método de la invención.

En efecto, ni D1 ni D2 divulgan o sugieren la actividad quimiotáctica de los medios condicionados de células estromales mesenquimales, mucho menos anticipan su aplicación en métodos para cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de CPH. Este enfoque presenta un efecto técnico sorprendente, como ha sido demostrado por los inventores previamente.

Adicionalmente, dado que tanto D1 como D2 emplean el factor SDF-1 como estímulo, y ninguno de ellos menciona la posibilidad o necesidad de reemplazarlo, una persona normalmente versada en la materia carecería de motivación para sustituir dicho estímulo, con un medio condicionado por células neonatales, en un ensayo destinado a cuantificar y evaluar la actividad de una fuente de CPH viables.

En consecuencia, no existen enseñanzas en el estado de la técnica que puedan conducir a una persona experta en la materia a la invención reivindicada. La ausencia de referencias a la inducción de migración mediante la incubación con medios condicionados de células estromales mesenquimales derivadas de tejidos neonatales, y de pases tempranos, evidencia que el objeto reivindicado no puede considerarse obvio. Por lo tanto, cumple con los requisitos establecidos en los artículos 14, 16 y 18 de la Decisión 486 de 2000.

6 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;
- ii) 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 y

- i) La invención de la presente solicitud no resulta obvia ni se deriva 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.

7 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 únicamente 1 reivindicación.

8 Anexos

- Nuevo capítulo reivindicatorio conformado por una (1) reivindicación.
- 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, en donde la solución de adhesión contiene molécula de citoadhesión vascular-1 (VCAM-1), en una concentración de 10µg/ml;
 - 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 pase, 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;
 - 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 con 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.



Superintendencia de
Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT: 800.176.089-2

COMPROBANTE DE RECAUDO SISTEMA SIPI

Radicado: NC2020/0015994
Recibo: 24-106951
Fecha: 31/12/2024

CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO
CC: 66.783.790
Consignación No: 1060270

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