

PATENTE DE INVENCION BIOTECNOLOGICA

Resolución de rechazo: artículo 35 de la Ley N° 19.039, falta de nivel inventivo.

Solicitud de patente.

Solicitud N° 2185-2015

Título: "METODO PARA LA PRODUCCION DE ANTI-ABETA EN UN CULTIVO CELULAR A GRAN ESCALA"

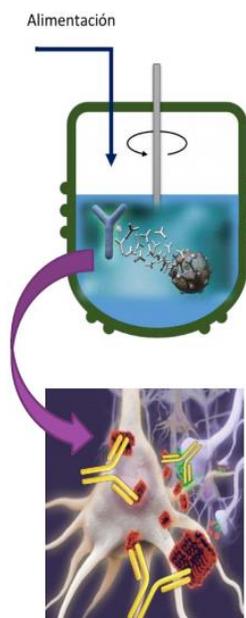
INAPI: Rechaza por vulneración de artículo 35 de la Ley 19.039.

TDPI concede patente conforme con nuevo pliego de reivindicaciones

Pliego sustentado en memoria descriptiva

Método para la producción de anticuerpos anti-A β

La sociedad Pfizer Ireland Pharmaceuticals., solicitó el registro de la patente de invención que enseña un método para la producción a escala comercial (500 L o más) de proteínas y polipéptidos, particularmente anticuerpos anti-A β , útiles para la prevención y tratamiento de patologías como la enfermedad de Alzheimer, mediante cultivo celular de células CHO (células de ovario de hámster chino). Este proceso de cultivo en lote alimentado, consta de dos etapas, una primera destinada al crecimiento celular, y una segunda etapa de alimentación, destinada a la generación del producto, en este caso, el anticuerpo.



El medio de cultivo corresponde a un medio definido caracterizado por: i. Una concentración de aminoácidos acumulados mayor que 70 mM ii. Una razón molar de glutamina/asparagina acumulada inferior a 2 iii. Una razón molar de glutamina/aminoácidos acumulada inferior a 0,2 iv. Una relación molar de iones inorgánicos/aminoácidos acumulada entre 0,4 y 1 v. Una concentración combinada acumulada de glutamina y asparagina de superior a 16 mM.

El INAPI por resolución de fecha 20 de noviembre del año 2015, rechazó de oficio la solicitud basándose principalmente en lo señalado en el Informe de Peritos 2 que en su página 15 señala el efecto técnico de optimización de la producción del anticuerpo anti-Abeta, no es condición suficiente para que ocurra este efecto de optimización respectivo, por lo que a la luz de los resultados y de acuerdo a lo reivindicado en la especie, el método consiste en la provisión de pasos y medios de cultivo que en su individualidad no demuestran de forma homogénea un efecto técnico superior a un método que no reúne las referidas características, con lo que es dable concluir que el método reivindicado en el presente caso no revela resultados técnicamente mejores que los logrados por manera alternativas a dicho método, los cuales son deducibles de forma obvia desde la combinación en el estado del arte en los documentos D1 y D6, lo que a su vez confirma que éstos son predecibles para una persona versada en la técnica y por ende la solicitud de autos no posee nivel inventivo.

La resolución de la instancia señala que la solicitud de autos no cumple con el requisito de patentabilidad señalado en el artículo 35 de Ley 19.039 y más específicamente por el hecho que sin bien la cláusula 1 del último pliego de reivindicaciones, divulga un método que comprende células CHO para producir Abeta en un medio que contiene glutamina y que tiene una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2, y que la diferencia técnica de la solicitud de autos, comprende la especificación de las condiciones del medio de cultivo que no se encuentran divulgadas en el documento D1. Sin embargo, los ejemplos señalados en la memoria descriptiva no permiten sustentar técnicamente lo reivindicado en el pliego de reivindicaciones número 1, que definen la invención y que representan el aporte inventivo de la patente requerida, por lo que ésta carece de nivel inventivo.

En contra de lo resuelto por INAPI, la solicitante deduce recurso de apelación señalando que en la “Resolución de rechazo” de la solicitud no ha desarrollado la metodología “Problema-Solución”, universalmente aplicada para realizar un

correcto análisis de nivel inventivo, y que más bien corresponde a un análisis de mera búsqueda de coincidencia entre la materia reivindicada y la evidencia experimental contenida en la memoria descriptiva.

Con respecto al nivel inventivo, el solicitante recuerda que en el segundo informe el Sr. Perito señaló que la reivindicación 1 carecería de nivel inventivo en vista de lo divulgado por los documentos D1 y D6; sin embargo, la cláusula ya había sido modificada por lo que debió reconocerse como inventiva por respecto a D1 y/o D6.

El pliego de reivindicaciones actual, señala la parte, que es idéntico al entregado junto a la respuesta al segundo informe pericial, se refiere a métodos para producir anticuerpos anti-A β en un cultivo celular de producción a gran escala, proporcionando un cultivo celular que comprende células que expresan el anticuerpo anti-A β y un medio que contiene glutamina, y que posee una concentración de aminoácidos acumulados superior a 70 mM y una razón molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2. Menciona que dichas reivindicaciones se encuentran sustentadas por los datos técnicos expuestos en no menos de 17 ejemplos, y reafirmadas específicamente en el ejemplo 15. Destaca que se ha encontrado inesperadamente que ciertas características de los medios que fueron optimizados inicialmente para la producción de anti-GDF-8 suelen ser para la producción eficiente de una variedad de diferentes polipéptidos y proteínas, entre ellos, un anticuerpo anti-A β . El Ejemplo 15 ilustra dicho hallazgo inesperado respecto a la producción eficiente de un anticuerpo anti-A β , superando con éxito tanto la expectativa como la experiencia en la industria de que los medios de cultivos celulares necesitaban ser ajustados estrechamente a cada tipo específico de célula productora de una proteína o polipéptido específicos en un cultivo celular. Esto se sustenta adicionalmente en la declaración del inventor Dr. Denis Drapeau, presentada ante la Oficina Europea de Patentes en un procedimiento que involucraba a una patente EPO asociada (EP 1992697), la cual se ~~adjunta~~ adjuntó a su recurso.

De este modo, menciona que el examinador debió considerar las importantes diferencias, como que la combinación de concentración de aminoácidos acumulados superior a 70 mM y una razón molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2 es ventajosa. Así, en el ejemplo 13 se ilustra las ventajas de usar un medio con aminoácidos totales de más de 70 mM y una razón molar de glutamina a asparagina de menos de 2, como se divulga en los métodos reivindicados. Señala que si bien en la ejemplificación particular de las condiciones de cultivo se usaron mediciones de anticuerpo anti-GDF-8, las condiciones de cultivo son igualmente aplicables a cultivos en donde se produce el anticuerpo anti-A β . Por otra parte, el ejemplo 15 (A β) y el ejemplo 16 (TNFR-Ig) también sustentan

las características reivindicadas de una concentración de aminoácidos superior a 70 mM y una razón molar de glutamina acumulada con respecto a asparagina acumulada inferior a 2. Los ejemplos 15 y 16, combinados con el ejemplo 13, también sustentan los métodos inventivos que se refieren a la producción de diversos polipéptidos.

Por otro lado, el solicitante opina que las enseñanzas de los documentos **D1** y/o **D6** no afectan el nivel inventivo de la presente invención por las siguientes razones:

- a) **D1**: El Sr. Perito en su informe solo menciona que **D1** divulga un anticuerpo anti-A β . Efectivamente, dicho documento no divulga ni sugiere un método de cultivo celular como el de la solicitud.
- b) **D6**: Las condiciones del ejemplo 2 o 4 del documento **D6** no habrían sido usadas por una persona versada en la materia en un método de cultivo celular a gran escala para producir anticuerpos anti-A β . Al parecer, el razonamiento del Sr. Perito se basa esencialmente en el contenido de los ejemplos 2 y 4 del documento **D6**. No obstante, cabe señalar que una persona versada en la materia ciertamente no habría aplicado directamente las condiciones del segundo o cuarto conjunto de experimentos de **D6** a un proceso a gran escala para la producción de anticuerpos anti-A β por lo menos debido a las siguientes razones.
 - (i) Estos conjuntos de experimentos no se definieron como métodos de producción a gran escala, sino más bien están diseñados para examinar once parámetros de cultivo celular.
 - (ii) En cada conjunto de experimentos, diversos parámetros son fijos, mientras que otros parámetros son variados para estudiar el efecto de dicha variación en el rendimiento del proceso de cultivo celular. Cabe destacar que ninguno de los parámetros (cantidad total de aminoácidos y razón de glutamina acumulada a asparagina acumulada) del medio de cultivo de la presente reivindicación 1 se investiga en **D6**.
En base a estos argumentos, por sí solos, se puede considerar que el documento **D6** no afecta el nivel inventivo del método divulgado en la presente reivindicación 1.

La enseñanza de los ejemplos 2 y 4 del documento **D6** es usar un medio sin glutamina. Los ejemplos 1 a 4 de **D6** más bien sugieren que la glutamina no tuvo un impacto considerable en el título y que el mayor aumento en el título se obtiene cuando la glutamina es reemplazada por completo con glutamato.

Por su parte, el Ejemplo 4 de D6 enseña que "La Fig. 4 muestra que 5 mM de glutamato (a 0 mM de glutamina) produce el menor nivel de acumulación de subproductos". Esta declaración se confirma con la frase "otros investigadores han informado la generación de cantidades mínimas de lactato y amonio tras la sustitución de glutamina con glutamato". Sin embargo, el ejemplo 4 se refiere a la figura 4, que claramente muestra que las menores cantidades de amonio se pueden lograr en un rango de temperatura testeado al reemplazar por completo glutamina con glutamato (ver Fig. 4, puntos de datos en "0 glutamina mmol/L" en el extremo derecho del eje [Glutamina]).

En vista del documento D6, una persona versada en la materia habría reemplazado glutamina con glutamato, ya que la glutamina no fue considerada relevante para el título del producto, como se desprende de revisar el ejemplo 2. En cambio, el Ejemplo 3 se ofrece más bien la solución de añadir glucosa para aumentar la osmolaridad, y nuevamente se menciona que la glutamina no tuvo un impacto significativo en el título. En consecuencia, D6 se aleja de lo reivindicado en la presente solicitud donde se establece claramente que los cultivos celulares requieren glutamina.

Por otro lado, D6 no sugiere alguna cantidad relativa de glutamina, ni mucho menos, indica específicamente que la razón máxima o cantidad total acumulada mínima de glutamina y asparagina sea de importancia. La relevancia de los niveles de asparagina no se menciona siquiera en D6.

En conclusión y considerando los argumentos ya expuestos, el apelante señala que el documento D6 no conduciría de manera alguna a una persona versada en la materia a modificar el método del documento D1 con el fin de llegar al método de la presente reivindicación 1.

De manera adicional a lo señalado en los párrafos precedentes, cabe destacar que la reivindicación 1 se refiere a un método para producir anticuerpos anti-A β en un cultivo celular de producción a gran escala. El biorreactor de cultivo celular de gran escala se define como de por lo menos 500 L en la presente solicitud.

El documento **D1** no divulga un método de producción a gran escala. Aunque una persona versada en la materia pueda haber deseado usar métodos de producción a gran escala, los métodos de producción a pequeña escala no siempre se pueden ajustar con facilidad. D1 no se refiere en lo absoluto a un método de producción a gran escala que pueda usarse para producir anticuerpos anti-A β .

El documento **D6** no parece contemplar que su método sea usado en un proceso industrial a gran escala, que constituye una característica (sustentada experimentalmente) de la reivindicación 1 de la presente solicitud (ver ejemplo 17).

Por el contrario, pareciera que todos los ejemplos de D6 fueron llevados a cabo con "cultivos de producción a un volumen de trabajo de 1,5 a 2,0 L". Los documentos D1 y D6 no divulgan ni sugieren un método de cultivo celular a gran escala y, por lo tanto, no son relevantes para la materia de la presente reivindicación 1, que se refiere a un método de cultivo celular a gran escala.

Por lo tanto, el apelante concluye que la invención como se encuentra reivindicada posee novedad y nivel inventivo, no pudiendo ser desprendida de forma obvia del Estado de la Técnica, dando así cumplimiento a lo dispuesto en los artículos 33 y 35 de La Ley del Ramo.

Luego de la vista de la causa, encontrándose la misma en estado de acuerdo, se consideró necesario la práctica de un nuevo informe pericial, procedimiento para el cual se designó al experto Sr. Pablo Cañón Amengua Bioquímico, MSc., Dr. © en Biotecnología.

Para ilustrar al Tribunal el perito inicia su informe explicando que la enfermedad de Alzheimer está caracterizada por tres anormalidades neuropatológicas principales: (1) ovillos neurofibrilares intracelulares, (2) placas extracelulares y (3) pérdida neuronal.

Los **ovillos neurofibrilares** son agregados intracelulares de la proteína tau. En neuronas sanas, la proteína tau estabiliza a los microtúbulos que forman el citoesqueleto de la célula por un proceso que implica fosforilación/defosforilación. La forma fosforilada está imposibilitada de unirse a los microtúbulos y en cambio, polimeriza con otras proteínas tau formando filamentos rectos, que subsecuentemente forma filamentos helicoidales (Figura 1). Esto provoca problemas en el transporte neuronal, llevando eventualmente a la célula a la muerte. El número y la distribución de los ovillos corticales correlacionan positivamente con déficit cognitivos y sirve como un buen marcador de la progresión de la enfermedad.

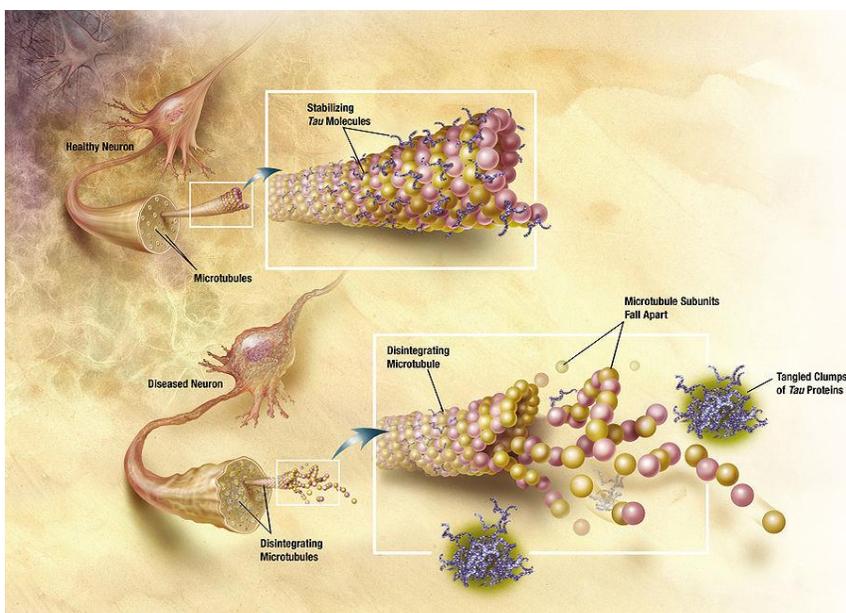


Figura 1: Comparación en la constitución de microtúbulos y proteína tau en neuronas de individuos sanos (arriba) e individuos con Alzheimer (abajo). Se puede observar en este último caso, la formación de ovillos neurofibrilares producto de la polimerización de la proteína tau.

Las **placas extracelulares** están formadas por agregación de péptido β amiloide ($A\beta$). Un pequeño péptido producido por el corte secuencial del precursor del péptido β amiloide (APP). En el parénquima cerebral, en sitios extracelulares, $A\beta$ forma depósitos compactos, frecuentemente iniciados por agregación del péptido más largo (β 1-42), que se asocia con neuritas distroficas. Estas placas están aparentemente, en la mayoría de las áreas del cerebro de los individuos con EA y están asociadas con pérdida neural en diferentes áreas del cerebro (Figura 2).

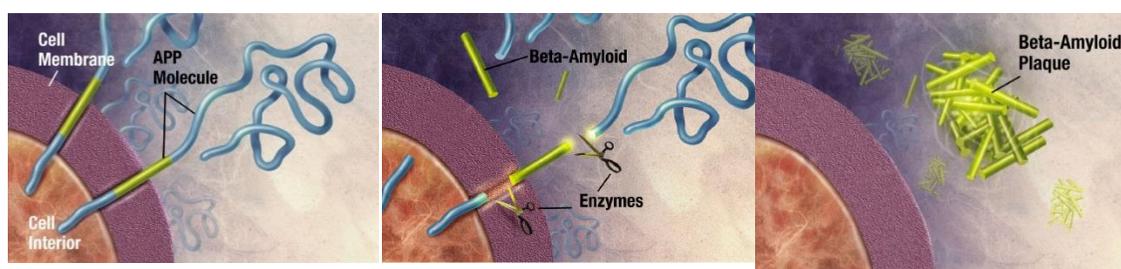


Figura 2: Generación de las placas de péptido β amiloide a partir de la proteína precursora del péptido (APP).

Por su parte los Anticuerpos son receptores solubles contra antígenos, que son formados por los linfocitos B activados, miembros de la familia de las inmunoglobulinas, y son importantes en la respuesta humoral del sistema de defensa inmune

Luego de esta introducción el Sr. Perito analiza el ultimo pliego que se refiere a un método para la producción de anticuerpos anti- $A\beta$ en un cultivo celular de producción de gran escala.

Se considerará el último pliego presentado, que corresponde al de fecha 14-12-2015, y que rola a fojas 1092. Dado el número de reivindicaciones totales (105), solo se exponen las dos primeras

1. Un método para la producción de anticuerpos anti- $A\beta$ en un cultivo celular de producción de gran escala, que comprende las etapas de:

- La provisión de un cultivo celular que comprende:
 - células CHO que contienen un gen que codifica el anticuerpo anti- $A\beta$, donde dicho gen se expresa en condiciones de cultivo celular; y

- un medio que contiene glutamina y que tiene una cantidad acumulada de aminoácidos por unidad de volumen mayor que 70 mM y una relación molar de glutamina acumulada a asparagina acumulada inferior a 2;
- Mantener dicho cultivo en una fase de crecimiento inicial bajo un primer conjunto de condiciones de cultivo, por un primer período de tiempo suficiente para permitir que dichas células se reproduzcan hasta una densidad celular viable dentro de un rango de 20%-80% de la densidad celular viable posible máxima si dicho cultivo se mantuviera bajo el primer conjunto de condiciones de cultivo;
- Cambiar al menos una de las condiciones de cultivo, de manera de aplicar un segundo conjunto de condiciones de cultivo;
- mantener dicho cultivo por un segundo período de tiempo bajo el segundo conjunto de condiciones y durante un segundo periodo de tiempo, de manera de acumular anticuerpos anti-A β en el cultivo celular.

2. El método de la reivindicación 1, **CHARACTERIZADO** porque dicho medio además tiene una característica de medio seleccionada del grupo que consiste de: (i) una relación molar de glutamina acumulada a aminoácidos totales acumulados inferior a 0,2, (ii) una relación molar de ion inorgánico acumulado a aminoácidos totales acumulados entre 0,4 a 1, (iii) una cantidad acumulada combinada de glutamina y asparagina por unidad de volumen, superior a 16 mM; y sus combinaciones.

A continuación el perito analiza las características del invento señalando que la solicitud enseña un método para la producción a escala comercial (500 L o más) de proteínas y polipéptidos, particularmente anticuerpos anti-A β , mediante cultivo celular de células CHO (células de ovario de hámster chino), en dos etapas, una primera destinada al crecimiento celular, y una segunda etapa de alimentación, destinada a la generación del producto, en este caso, el anticuerpo en un medio de cultivo definido.

La solicitud presenta características especiales en cuanto a la composición final del medio de cultivo para células CHO productoras de anticuerpos, particularmente anti-A β , en lo que hace referencia a la concentración acumulada de aminoácidos, la razón entre glutamina y asparagina, entre glutamina y aminoácidos, y entre iones y aminoácidos. Por otra parte, la solicitud al estar destinada a producir anticuerpos a nivel industrial, tiene como problema que resolver el generar un medio de cultivo con el menor número de alimentaciones posibles, lo que es caro y dificultoso a gran escala, y eso lo resuelve mediante el desarrollo del medio divulgado.

A continuación el perito analiza el estado del arte destacado por INAPI, señalando que en **D1**, no se puede encontrar nada respecto al cultivo de células CHO en un

medio particular, ya que solo se enseña los anticuerpos anti-A β , útiles en el tratamiento contra enfermedades amiloidogénicas, como el Alzheimer, por lo tanto, este documento no afecta el nivel inventivo de la presente solicitud pues no aborda el problema técnico de la producción de anticuerpos mediante un determinado tipo de cultivo celular a gran escala.

Respecto a **D6**, si bien enseña el proceso de producción de anticuerpos mediante cultivo de células CHO, no muestra la realización del mismo a una escala industrial, ya que solo hace referencia a cultivos de producción a un volumen de trabajo de 1,5 a 2 L.

Al efecto, el perito señala que la memoria descriptiva de la presente solicitud estipula que el volumen del biorreactor de producción de cultivo de células a gran escala en general es por lo menos de 500 L. De este modo, en la mayoría de sus ejemplos, la solicitud de autos enseña medios de cultivo útiles para el crecimiento de células CHO productoras de anticuerpos, en biorreactores de volúmenes de 250 ml, 1 o 10 L.

Considerando todo lo anterior, se puede decir que tanto D6 como la solicitud comparten el problema técnico de producir mediante cultivo celular polipéptidos del tipo anticuerpos, pero que se diferencian ya en este nivel, porque la solicitud está dirigida a producirlos a escala industrial, lo que presenta un segundo problema que es la optimización de las alimentaciones. Para solucionar estos problemas, que ya se presentan como distintos, se enseñan métodos alternativos entre ambos documentos, que no son comparables directamente entre sí, y que le otorgan a la solicitud una ventaja técnica.

En consecuencia, para el perito de Segunda Instancia el aporte que hace la presente solicitud en cuanto a la escala de producción, le otorga altura inventiva.

Respecto del último pliego, el perito señala que en cuanto protege el método para la producción de anticuerpos anti-A β en un cultivo celular de producción de gran escala de células CHO, se sustentada en el ejemplo 15 de la Memoria Descriptiva, que muestra la producción de dicho anticuerpo en medios que cumplen con las características reivindicadas.

Con estos antecedentes, por sentencia de fecha 18 de abril del año dos mil diecisiete el TDPI estimó que teniendo en especial consideración el informe elaborado en la segunda instancia y apreciando los antecedentes de acuerdo a las normas de la sana crítica, y a la luz del aporte que hace la presente solicitud en cuanto a la escala de producción de los respectivos polipéptidos anticuerpos anti-A β , en cultivo de células, cuyo uso permite altos niveles de producción de proteína, y disminuye la acumulación de ciertos factores indeseables, tales como amonio y/o

lactato, cabía concluir, que la patente solicitada sí se encuentra adecuadamente sustentada en su memoria descriptiva, y además, al mostrar la producción de dicho anticuerpo en medios que presentan una productividad mayor a un medio tradicional o que un medio que cumple con menos características nutricionales, por lo que la patente de invención bajo estudio posee nivel inventivo, y por ende no es obvia ni se deriva de manera evidente del estado de la técnica.

ROL TDPI N° 122-2016

RPB-JCGL-AAP

MAF

12-06-2017