



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**

RELATÓRIO DE EXAME TÉCNICO

N.º do Pedido: BR102013022374-3 **N.º de Depósito PCT:**
Data de Depósito: 02/09/2013
Prioridade Unionista: -
Depositante: UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (BRMG)
Inventor: RICARDO TOSTES GAZZINELLI, ANA PAULA SALLES MOURA FERNANDES, LEONARDO MIRANDA DAMASCENO @FIG
Título: “Gene modificado de leishmania ssp., processo para obtenção de proteína e uso como antígeno em composição vacinal ou em imunodiagnóstico”

PARECER

Quadro referente à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN e Sequências Biológicas	Sim	Não
O pedido foi encaminhado à ANVISA (art. 229-C da LPI, incluído pela Lei 10.196/2001)	x	
A exigência ref. ao acesso ao patrimônio genético nacional foi emitida (Resol. INPI PR n.º 69/2013)	x	
O pedido refere-se a Sequências Biológicas	x	

Comentários/Justificativas

Notificação de anuência relacionada com o Art.229-C da LPI (anuência prévia) foi publicada na RPI 2496 de 06/11/2018.

O INPI emitiu a exigência de código 6.6.1 na RPI 2461 de 06/03/2018, para fins de manifestação do depositante quanto à ocorrência de acesso ao Patrimônio Genético nacional e/ou Conhecimento Tradicional Associado para obtenção do objeto do presente pedido. Não tendo havido manifestação do depositante no prazo de 60 (sessenta) dias contados a partir da publicação na RPI, o INPI deu prosseguimento ao exame técnico com o entendimento de que não houve acesso ao patrimônio genético nacional e/ou conhecimento tradicional associado, conforme consta no texto do despacho de código 6.6.1 publicado na RPI, de acordo com entendimento firmado pela Procuradoria Federal Especializada junto ao INPI (PFE-INPI) no Parecer nº 00001/2018/PROCGAB/PFE-INPI/PGF/AGU (Processo INPI nº 52400.002142/2018-30), publicado na RPI 2465 de 03/04/2018.

Listagem de sequências encontra-se na petição 014130001801 de 02/09/2013.

Quadro 1 – Páginas do pedido examinadas			
Elemento	Páginas	n.º da Petição	Data

Relatório Descritivo	01-20	014130001801	02/09/2013
Listagem de sequências em formato impresso	-	-	-
Listagem de sequências*	Código de Controle	014130001801	02/09/2013
Quadro Reivindicatório	01	870190128182	05/12/2019
Desenhos	01-04	014130001801	02/09/2013
Resumo	01	014130001801	02/09/2013

**Listagem de sequências em formato eletrônico referente ao código de controle 63C11880B6D97005 (Campo 1) e 893606F1503CABE8 (Campo 2).*

Quadro 2 – Considerações referentes aos Artigos 10, 18, 22 e 32 da Lei n.º 9.279 de 14 de maio de 1996 – LPI

Artigos da LPI	Sim	Não
A matéria enquadra-se no art. 10 da LPI (não se considera invenção)	x	
A matéria enquadra-se no art. 18 da LPI (não é patenteável)		x
O pedido apresenta Unidade de Invenção (art. 22 da LPI)	x	
O pedido está de acordo com disposto no art. 32 da LPI	x	

Comentários/Justificativas

A matéria da reivindicação 6 é considerada método terapêutico.

Quadro 3 – Considerações referentes aos Artigos 24 e 25 da LPI

Artigos da LPI	Sim	Não
O relatório descritivo está de acordo com disposto no art. 24 da LPI	x	
O quadro reivindicatório está de acordo com disposto no art. 25 da LPI		x

Comentários/Justificativas -

Definir uma proteína pela sua sequência que codifica a mesma (uma sequência nucleotídica) não é claro e preciso.

Quadro 4 – Documentos citados no parecer

Código	Documento	Data de publicação
D1	BR0603490	2008
D2	Charest H e Matlashewski G (Molecular and Cellular Biology 14, 2975-2984, 1994)	1994
D3	Gosh A e colaboradores (Vaccine 20, 59-66, 2002)	2002
D4	Yam K K e colaboradores (Journal of Medical Microbiology 60,	2011

	1248-1260, 2011)	
--	------------------	--

Quadro 5 – Análise dos Requisitos de Patenteabilidade (Arts. 8.º, 11, 13 e 15 da LPI)		
Requisito de Patenteabilidade	Cumprimento	Reivindicações
Aplicação Industrial	Sim	1,2,3,4,5
	Não	-
Novidade	Sim	1,2,3,4,5
	Não	-
Atividade Inventiva	Sim	1,3,4,5
	Não	2

Comentários/Justificativas

O presente pedido refere-se a uma sequência nucleotídica resultante da modificação e redução do gene que codifica a proteína A2 de *Leishmania*.

Em 05/12/2019, por meio da petição 870190128182, o Depositante apresentou argumentações e modificações no pedido em resposta ao parecer emitido no âmbito da Resolução Nº 241/2019, notificado na RPI 2540 de 10/09/2019 segundo a exigência preliminar (6.21).

Segundo a requerente, em relação à reivindicação 2, a requerente esclarece que o uso da proteína A2 em composição vacinal contra Leishmaniose visceral de fato não é novo. No entanto, os documentos do estado da técnica tratam de proteína produzida a partir da sequência original presente no genoma de *Leishmania donovani* e não a partir de uma sequência otimizada pela expressão heteróloga. A proteína expressa a partir da SEQ ID NO:1 apresentaria baixo peso molecular, ponto isoelétrico distinto, solubilidade distinta. A sequência de nucleotídeos original do genoma de *L. donovani* também representaria um problema para o sequenciamento de DNA e amplificação por PCR, dificultando sua rastreabilidade, estabilidade, entre outros fatores, aspectos que teriam impacto na produção industrial do antígeno vacinal. As duas reivindicações (1 e 2) estariam vinculadas e seriam indissociáveis, assim como seu caráter inventivo, ou seja, o uso da SEQ ID Nº1, passível de rastreabilidade, para produzir uma proteína distinta em suas propriedades físico-químicas, mas que mantém suas propriedades antigênicas, imunogênicas e vacinais.

Após análise do presente pedido e dos argumentos da requerente, ainda somos de opinião de que:

D1 revela vacina recombinante contra leishmaniose visceral canina que compreende a proteína recombinante A2 apresentando 6 aminoácidos Histidina (rA2 ou A2-HIS) e outros componentes como saponina e adjuvante. Para a produção da proteína A2-HIS a sequência codificante do gene da proteína A2 de *Leishmania* foi clonada em vetor de expressão de proteínas (pET) e utilizada para transformar a cepa BL21 de *Escherichia coli*. A

proteína recombinante A2-HIS foi purificada por cromatografia de afinidade com níquel e utilizada para a confecção de uma vacina (página 1, linhas 5-9; página 09, linhas 29-35; página 10, linhas 1-14; e reivindicações 1-6).

D2 revela o isolamento e a caracterização do gene A2 expresso em amastigotas de *Leishmania donovani* cepa LV9. O documento revelou que o locus A2 representava uma família multi-gênica. Os autores expressaram a proteína A2 recombinante codificada por um gene cuja proteína predita seria composta de sequências repetidas 19 vezes consistindo de um motivo de 10 aminoácidos e que potencialmente codificava um produto proteico de 22 kDa (página 2979, 1º coluna, 2º parágrafo; e figura 5A). A região codificante de A2 foi expressa em *E. coli* (gerou a proteína de fusão A2 recombinante ou HT-A2) que apresentou peso molecular de aproximadamente 27 kDa. O peso molecular da proteína A2 sem a porção HT seria aproximadamente 25 kDa (figura 6 na página 2982). Após a perda do peptídeo sinal, a proteína A2 recombinante apresentaria o peso molecular de 23 kDa (figura 7B, raia 4, na página 2983).

D3 revela a imunização de camundongos com a proteína A2 recombinante e proteção contra *Leishmania donovani* (resumo).

D4 revela a expressão da proteína recombinante A2 de *Leishmania* em cepas de *Lactococcus lactis* sendo que o gene que codifica a proteína teve seus códons otimizados para que a proteína fosse super-expressa em *L. lactis* (página 1249, 1º coluna, 3º parágrafo; página 1253, 1º coluna, 8º parágrafo e 2º coluna, 1º parágrafo). Construções do gene foram feitas para expressar a proteína A2 em diferentes localizações subcelulares (citoplasma, secretada ou ancorada a parede celular) em *L. Lactis*. Uma versão da proteína ligada a vários aminoácidos Histidina também foi criada e expressa em *E. coli* (página 1249, 2º coluna, 4º parágrafo; figura 1e).

Consideramos ainda que a matéria da reivindicação 2 não apresenta atividade inventiva. A matéria da reivindicação 2 não apresenta atividade inventiva uma vez que a proteína codificada pela sequência da SEQ ID NO:1 já foi revelada em D2 e o seu peso molecular predito seria de 22 kDa (figura 5 de D2). Combinando os ensinamentos de D2 aos ensinamentos de D1, que ensina uma vacina recombinante contra leishmaniose visceral canina que compreende a proteína recombinante A2 apresentando 6 aminoácidos Histidina (rA2 ou A2-HIS) produzida após transformação da cepa BL21 de *Escherichia coli*, em que a proteína foi purificada por cromatografia de afinidade com níquel e utilizada para a confecção da vacina (página 1, linhas 5-9; página 09, linhas 29-35; página 10, linhas 1-14; e reivindicações 1-6), seria óbvio para um técnico no assunto confeccionar uma vacina que contivesse a proteína A2HIS e utilizá-la na prevenção de leishmaniose em cães e humanos. D3 também revela imunização de camundongos utilizando proteína A2 purificada da cepa BL-21 de *E. coli* transformada com o plasmídeo pET16bA2 (D3, página 60, 1º coluna, 3º parágrafo).

Conclusão

As reivindicações 2 e 6 devem ser excluídas.

O depositante deve responder a(s) exigência(s) formulada(s) neste parecer em até 90 (noventa) dias, a partir da data de publicação na RPI, de acordo com o Art. 36 da LPI.

Publique(m)-se a(s) exigência(s) técnica(s) (6.1).

Rio de Janeiro, 14 de outubro de 2021.

Júlia Rolão Araripe
Pesquisador/ Mat. Nº 1525876
DIRPA / CGPAT II/DIMOL
Deleg. Comp. - Port. INPI/DIRPA Nº
002/11