

AVSLAGSBESLUT

Beslutsdatum 2010-03-05

Patentansökan nr 0850071-2
Internationell klass (IPC) G01N33/50,
C12N5/0735Albihns.Zacco AB
Box 5581
114 85 Stockholm

Sökande: Wisconsin Alumni Research Foundation

Ombud: Albihns.Zacco AB Ref: 217229

Benämning: Reagenser och förfaranden för användning av humana embryonala stamceller för att utvärdera toxicitet av farmaceutiska föreningar och andra kemikalier.

BESLUT

Patent- och registreringsverket (PRV) avslår er patentansökan.

Skäl till beslutet

Beslutet avser de patentkrav som har inkommit till PRV 2009-12-07 (se bilaga 1). I dessa krav har särdraget från tidigare krav 6 införts i de oberoende kraven 1-3. Ett separationsteg, hämtat från beskrivningen sidan 15, rad 1-2, har införlivats i metoderna enligt kraven 1-3. Dessutom har kraven 19-21 (tidigare 20-22) skrivits om till användningskrav.

Uppfinningen enligt de nya kraven avser en metod för toxikologisk screening av kemiska föreningar. Denna sker genom att odla mänskliga embryonala stamceller (hESC) i närvaro eller frånvaro av en testförening och sedan jämför mängden av vissa små metabolitmarkörer (< 1500 Dalton) som produceras under respektive betingelser. Syftet med uppfinningen är att tillhandahålla en mer tillförlitlig metod för utvärdering av toxiciteten av kemiska substanser i människor.

Följande dokument, som var anført i de tidigare förelägganden, hänvisas ånyo till med den nedanstående motiveringen:

D1: WO 2004065616 A2

D2: SCHOLZ, G. ET AL. "Prevalidation of the Embryonic Stem Cell Test (EST) – A New *In Vitro* Embryotoxicity Test". Ingår i: *Toxicology in Vitro*, 1999, vol. 13, s. 675-681.

D3: COECKE, S. ET AL. "The value of alternative testing for neurotoxicity in

Beslutsdatum 2010-03-05 (ans.nr 0850071-2)

the context of regulatory needs". Ingår i: Environmental Toxicology and Pharmacology, 2006, vol. 21, s. 153-167.

D7: WANT, E. J. ET AL. "The Expanding Role of Mass Spectrometry in Metabolite Profiling and Characterization". Ingår i: ChemBioChem, 2005, vol. 6, s. 1941-1951.

D8: LENZ, E. M. ET AL. "A metabonomic investigation of the biochemical effects of mercuric chloride in the rat using ¹H NMR and HPLC-TOF/MS: time dependant changes in the urinary profile of endogenous metabolites as a result of nephrotoxicity". Ingår i: Analyst, 2004, vol. 129, s. 535-541.

D9: GARROD, S. ET AL. "Integrated Metabonomic Analysis of the Multiorgan Effects of Hydrazine Toxicity in the Rat". Ingår i: Chemical Research in Toxicology, 2005, vol. 18, nr. 2, s. 115-122.

D10: CHEN, M. ET AL. "Metabonomic Study of Aristolochic Acid-Induced Nephrotoxicity in Rats". Ingår i: Journal of Proteome Research, 2006, vol. 5, nr. 4, s. 995-1002.

Nyhet

Dokument D1 beskriver en metod för toxikologisk screening av testsubstanser genom att inkubera en testsubstans med celler och sedan detektera en "oönskad effekt" i cellerna. Denna oönskade effekt kan enligt krav 16 innebära bl. a. ändringar i gen- och proteinuttryck eller "avvikande metabolism" ("changes in protein expression, changes in gene expression or irregular metabolism").

Uttrycket "avvikande metabolism" behöver inte nödvändigtvis avse ändringar i små *endogena* metaboliter (<1500 Dalton) eftersom uttrycket också skulle kunna avse *exogena* metaboliska produkter av själva testsubstansen, men det finns flera faktorer som leder fackmannen att tro att uttrycket avser *endogena* metaboliter:

- i. uttrycket används i samband med andra *endogena* biomolekyler såsom gener och proteiner;
- ii. utöver detta krav i D1 som är inriktade mot ändringar i *endogena* biomolekyler (krav 16), finns det också separata krav inriktade mot *exogena* metaboliter härstämmande från testsubstansen (kraven 1-10);
- iii. det är konstaterat i beskrivningen att ett antal av de metabolitiska transformationer som är av intresse är i princip bara relevanta till *endogena* molekyler och är av ringa betydelse till läkemedelsmetabolism (t.ex. metylering och konjugering, se sidan 23).

Alla dessa faktorer talar för att uttrycket "avvikande metabolism" avser ändringar i *endogena* metaboliter.

Det anses vara implicit i metoden att mängden av åtminstone en metabolit måste antingen öka eller minska eftersom det är en ändring i metabolism som ska mätas. Cellerna som används i metoden kan bestå av mänskliga embryonala stamceller (hESC) och cellinjer som härstammar från dessa (sidor 67-69). Innehållet i dokument D1 utgör därför ett nyhetshinder mot kraven 2-9.

Sökanden har i svar på förläggandet (2009-12-08) argumenterat att kraven 2-9 har nyhet gentemot D1 eftersom D1 inte beskriver identifiering av cellulära metaboliter från cirka 10 till cirka 1500 dalton. Dessutom anser sökanden att D1 bara beskriver bedömning av metabolitproduktion genom en enzymatisk analys och inte utifrån storlek såsom i ansökan. Utöver dessa synpunkter anser sökanden att nyhet har erhållits för kraven 2-9 genom att särdraget "separerar ett flertal av cellulära metaboliter" har införlivats i de självständiga kraven 1-3.

Dessa argument ändrar inte denna myndighets uppfattning att kraven 2-9 saknar nyhet gentemot D1.

Det är införstått att de flesta mänskliga metaboliter har en molvikt av mindre än 1500 Dalton. Enligt Human Metabolome Database (<http://www.hmdb.ca>) har cirka 96 % av alla mänskliga metaboliter en molvik mindre än 1500 Dalton. Det framkommer inte heller från beskrivningen att det skulle vara någon teknisk effekt knuten till valet av detta intervall (10 – 1500 Dalton) och därför anses detta särdrag inte vara av betydelse för nyhetsbedömningen.

Angående analysmetoden, D1 anger att metabolitnivåer kan mätas med vätskekromatografi kopplat till flygtidsmasspektrometri (Q-TOF LC/MS/MS, sidor 23-24). I själva verket är det just HPLC som används för att separera metaboliterna i det enda exemplet i D1 som beskriver mätningar av små metaboliter (se sidan 94-95). Eftersom HPLC är en separationsteknik anses det vara implicit att metoder som använder HPLC separerar ett flertal av cellulära metaboliter och därför kan inte heller detta särdrag skänka nyhet till krav 2-9.

Därmed anses kraven 2-9 saknar nyhet gentemot dokument D1.

Uppfinningshöjd

För bedömning av uppfinningshöjd anses dokumentet D2 representera den mest relevanta kända tekniken. D2 beskriver det så kallad EST testet för toxikologisk screening. EST testet är till stor del baserat på en metod vari en testsubstans är inkuberad tillsammans med embryonala stamceller från möss och dessa stamceller jämförs med en referens för att avgöra testsubstansens påverkan på cellerna (sida 676, höger spalt, 3:e och 4:e stycken). Dessa jämförelser är gjorda genom enzymatisk assay eller med mikroskop.

Uppfinningen enligt krav 1-7 skiljer sig från vad som är känt från D2 genom att det är mänskliga embryonala stamceller som används, inte från möss och att cellproverna är jämförda med hjälp av metabonomisk profilering, inte enzymatisk assay.

Genom dessa särdrag uppnås en screeningmetod som bör ha större relevans till mänskligt toxicitet än metoden enligt D2 som använder musceller. Dessutom ger uppfinningen möjligheten att identifiera toxikologiska markörer som inte

Beslutsdatum 2010-03-05 (ans.nr 0850071-2)

finns med metoden enligt D1. Problematiken som uppfinningen löser i förhållande till D1 är därför tvåfaldig: att erhålla en toxikologisk screeningsmetod med större relevans för mänskligt toxicitet och att denna metod ska erbjuda möjligheten att identifiera toxikologiska biomarkörer.

Fackmannen som ställs inför detta problem finner en lösning i dokument D3. D3 är en reviewartikel om alternativa metoder för neurotoxisk screening av testsubstanser. Artikelnen hänvisar till det ovannämnd EST testet som använder embryonala stamceller deriverade från möss och beskriver fördelarna med att utnyttja mänskliga stamceller istället (sida 161, paragraf 4.2). Artikelnen beskriver dessutom att metabolisk profilering är ett bevisat sätt att mäta toxikologiska markörer (sida 159, vänster spalt). Artikelnen slutar med att slå fast att de kommer att vara nödvändigt att utnyttja nya "omics" teknologier (såsom metabonomics) för att upptäcka toxiska effekter på ett mer känsligt och heltäckande sätt.

Fackmannen skulle med ledning av den teknik som beskrivs i D3, modifiera metoden i D2 genom att använda mänskliga embryonala stamceller och en metabonomisk analysmetod istället för stamceller från möss och en enzymatisk analysmetod. Fackmannen skulle på så sätt komma fram till uppfinningen som definieras av krav 1-7.

Anpassningen av tekniken enligt D2 och kombinationen av dokumenten D2 och D3 är närliggande för fackmannen eftersom D2 och D3 tillhör samma teknikområde och D3 dessutom hänvisar till det EST test som beskrivs i D2.

Uppfinningen enligt krav 1-7 saknar därmed uppfinningshöjd och kan därför inte ges patentskydd.

De osjälvständiga kraven 8 och 9 anger att LCMS ska användas som analysmetoden. Att använda LCMS i metabonomiska studier är i sig själv välkänt, se till exempel reviewartikeln D7. De osjälvständiga kraven 8 och 9 anger därför bara detaljutformningar som ligger nära till hands för en fackman och saknar därför uppfinningshöjd.

De övriga patentkraven 10-21 innehåller endast fackmannamässiga åtgärder, som inte kan patentskyddas. Att de utvalda metaboliterna utgör biomarkörer av toxicitet i celler är välkänt inom tekniken. Se t.ex. D8-D10 som identifierar bl.a. kynureninsyra (D8, sammandrag), glutamat (D9, tabell 1), GABA (D9, tabell 1) och folat (D10, sammandrag) som biomarkörer. Kraven 10-21 anger därför inte något patenterbart.

Därmed saknar kraven 1-21 uppfinningshöjd.

Sökanden har i svar på förläggandet (2009-12-08) argumenterat att kraven 1-21 har uppfinningshöjd i förhållande till de citerade dokumenten.

Beslutsdatum 2010-03-05 (ans.nr 0850071-2)

Sökanden påpekar att dokument D2 är bristfälligt i att det inte beskriver användning av mänskliga stamceller och att de toxikologiska slutpunkterna definieras endast för föreningar som stör differentiering av hjärtat.

Sökanden argumenterar sedan att D3 inte avhjälper bristerna i D2 eftersom det bara nämner förbigående "new 'omics' technologies" och beskriver inte identifiering av småmolekylmetaboliter som produceras differentiellt i närvaro eller frånvaro av en testförening. Sökanden anser att D3 i själva verket efterlyser den utveckling i teknologin som den föreliggande ansökan representerar.

Dessa argument ändrar inte denna myndighets uppfattning att kraven 1-21 saknar uppfinningshöjd gentemot D2 kombinerat med D3.

PRV och sökanden är överens om bristerna i D2, men här måste det påpekas att EST metoden som D2 beskriver är en *validerad* metod som har utvecklats under en längre period, med väldefinierade toxikologiska slutpunkter. Skälet till att musstamceller används och valet av de toxikologiska slutpunkterna har med etiska, praktiska och regulatoriska överväganden att göra, utöver de rena vetenskapliga överväganden, och tyder inte alls på att fackmannen inom området inte skulle överväga användning av andra cellinjer eller toxikologiska slutpunkter. Exempelvis är det uppenbart för fackmannen att mänskliga stamceller förväntas ha större relevans till human toxicitet än stamceller från möss men av etiska och regulatoriska skäl har det varit lättare att använda stamceller från möss.

Att D3 inte avhjälper bristerna i D2 håller PRV inte med om. D3 gör klart och tydligt referens till fördelarna med toxikologiska screening modeller som utnyttjar mänskliga stamceller (sida 161, paragraf 4.2). D3 gör också en klar och tydlig referens till att "metabolomics" eller "metabonomics" är ett känsligt sätt att mäta ett flertal toxikologiska slutpunkter samtidigt (sida 159, vänster spalt). Själva definitionen av "metabonomics" är enligt tidskriften Nature "The quantitative measurement of the multivariate metabolic responses of multicellular systems to pathophysiological stimuli or genetic modification". Därför är det klart för fackmannen att D3 beskriver identifiering av småmolekylmetaboliter som produceras differentiellt i närvaro eller frånvaro av en testförening.

Slutligen kan det konstateras att den utveckling som D3 efterlyser ("It will be essential to develop in vitro screenings based upon an understanding of physical and 'omics' targets for toxicity") är en utveckling av färdiga *validerade* toxikologiska screening metoder. Innehållet av den föreliggande ansökan utgör som mest ett första bevis på att det går att uppmäta en metabonomisk respons när mänskliga stamceller behandlas med toxiska substanser, precis som förväntade utifrån D3. Därmed saknar kraven 1-21 uppfinningshöjd.

Beslutsdatum 2010-03-05 (ans.nr 0850071-2)

Sammanfattningsvis saknar kraven 2-9 nyhet. Kraven 1 och 10-21 har nyhet men saknar uppfinningshöjd. Alla kraven är industriellt tillämpbara.

Beslutande

Eva Johansson
Patentexpert

Föredragande

David Shanks
Patentingenjör

Hur man överklagar PRV:s beslut

Detta beslut kan överklagas till Patentbesvärsrätten. Om ni vill överklaga beslutet ska ni göra det skriftligen. Tala om i brevet vilket beslut ni överklagar och vilken ändring i beslutet ni vill ha. Överklagandet ska ha kommit in till PRV inom två månader från beslutsdagen, annars kan överklagandet inte prövas. PRV skickar överklagandet vidare till Patentbesvärsrätten för prövning, om PRV inte ändrar beslutet på det sätt ni har begärt. Överklagandet ges in till:

Patentbesvärsrätten
Patent- och registreringsverket
Box 5055
102 42 Stockholm