



国家知识产权局

610000

成都市天府新区华阳华府大道1段1号蓝润ISC2栋1单元2008号 成都天汇致远知识产权代理事务所(普通合伙)
韩晓银(028-87763797)

发文日:

2023年07月29日



申请号: 202010121753.3

发文序号: 2023072900023400

申请人: 西南民族大学,四川省动物疫病预防控制中心

发明创造名称: 一种日本血吸虫可溶性虫卵抗原组分的分离鉴定方法

驳 回 决 定

1.根据专利法第38条及其实施细则第53条的规定,决定驳回上述专利申请,驳回的依据是:

- ☐ 申请不符合专利法第2条第2款的规定。
☐ 申请属于专利法第5条或者第25条规定的不授予专利权的范围。
☐ 申请不符合专利法第9条第1款的规定。
☐ 申请不符合专利法第19条第1款的规定。
☒ 申请不符合专利法第22条的规定。
☐ 申请不符合专利法第26条第3款或者第4款的规定。
☐ 申请不符合专利法第26条第5款或者实施细则第26条的规定。
☐ 申请不符合专利法第31条第1款的规定。
☐ 申请的修改不符合专利法第33条的规定。
☐ 申请不符合专利法实施细则第20条第2款的规定。
☐ 分案申请不符合专利法实施细则第43条第1款的规定。
☐ _____

详细的驳回理由见驳回决定正文部分(共4页)。

2.本驳回决定是针对下列申请文件作出的:

- ☐ 原始申请文件。 ☐ 分案申请递交日提交的文件。 ☒ 下列申请文件:

申请日提交的摘要附图、说明书摘要、说明书第1-35段、说明书附图; 2023年6月30日提交的权利要求第1-2项。

3. 根据专利法第41条及实施细则第60条的规定,申请人对本驳回决定不服的,可以在收到本决定之日起3个月内向专利局复审和无效审理部请求复审。根据专利法实施细则第96条的规定,复审费应在上述期限内缴纳,期满未缴纳或者未缴足的,视为未提出请求。

审查员: 石维平

联系电话: 028-62968099

审查部门: 专利审查协作四川中心



210407
2022.10

纸件申请,回函请寄:100088 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 国家知识产权局专利局受理处收
电子申请,应当通过电子专利申请系统以电子文件形式提交相关文件。除另有规定外,以纸件等其他形式提交的文件视为未提交。



驳回决定

申请号：2020101217533

本决定涉及的是申请号为 2020101217533 的名称为“一种日本血吸虫可溶性虫卵抗原组分的分离鉴定方法”的发明专利申请（下称“本申请”），申请人为西南民族大学，申请日为 2020 年 02 月 17 日。

一、案由

本申请原申请文件权利要求书包括 1 项独立权利要求 1 以及 3 项从属权利要求 2-4。

应申请人于 2020 年 02 月 17 日提出的实质审查请求，审查员对本申请进行了实质审查，并于 2023 年 02 月 16 日发出了第一次审查意见通知书，指出权利要求 1-4 不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。通知书中引用了如下对比文件：

对比文件 1：“三种抗原对家畜日本血吸虫病诊断价值的比较”，彭运潮 等，《中国兽医科学》，第 36 卷第 3 期，第 207-211 页，公开日为 2006 年 12 月 31 日；

对比文件 2：“牛羊日本血吸虫抗体检测试纸条的研制”，阳爱国 等，《动物医学进展》，第 36 卷，第 5 期，第 73-80 页，公开日为 2015 年 05 月 20 日；

对比文件 3：“3 种抗原 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的比较”，沈定文 等，《中国公共卫生》，第 17 卷第 5 期，第 446-447 页，公开日为 2001 年 05 月 05 日。

申请人于 2023 年 06 月 30 日针对第一次审查意见通知书提交了意见陈述书，并对权利要求进行了修改，将原权利要求 2 和 4 的技术特征合并至原权利要求 1 中，申请人认为：

对比文件 1 未公开样品制备方法，本申请分多次将上清液加入至凝胶柱中，并且使用 pH4.9 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗脱抗原；对比文件 1 则是一次性将上清液加入至凝胶柱中，并且用 pH 7.2 的 PBS 洗脱。一个是在酸性环境下洗脱，一个是在中性偏弱碱性环境下洗脱。对比文件 1 则未公开样品鉴定的具体过程。本申请要解决的技术问题为大量制备并鉴别出日本血吸虫 SEA 特异性抗原成分，对比文件 1 则是为了研究三种抗原对家畜日本血吸虫病诊断价值的比较。可见，两者要解决的技术问题也并不相同；对比文件 2 是为了制备牛羊日本血吸虫抗体检测试纸条，且在处理血吸虫卵时的操作与本申请存在差异，此外，对比文件 2 未公开将步骤 1 制备的上清液过葡聚糖凝胶柱的具体操作；对比文件 3 是为了比较 3 种抗原 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的效果，Dot-ELISA 法的具体过程和本申请并不相同；本申请权利要求 1 获得了显著的技术效果：通过本发明，可以大量制备并鉴别出日本血吸虫 SEA 特异性抗原成分。

审查员认为，上述修改属于技术特征的简单组合，且组合产生的新技术方案的技术效果可以预期，本案事实已经清楚，因此针对申请日提交的摘要附图、说明书摘要、说明书第 1-35 段、说明书附图；2023 年 6 月 30 日提交的权利要求第 1-2 项作出本驳回决定。

二、驳回理由

1、权利要求 1 不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。

权利要求 1 请求保护一种日本血吸虫可溶性虫卵抗原组分的分离鉴定方法。对比文件 1（“三种抗原对家畜日本血吸虫病诊断价值的比较”，彭运潮 等，《中国兽医科学》，第 36 卷第 3 期，第 207-211 页，2006 年 12 月 31 日）公开了三种抗原对家畜日本血吸虫病诊断价值的比较，并具体公开以下技术特征：

1.7.2 日本血吸虫虫卵粗抗原(SEA)的制备：按常规方法进行，并测定蛋白浓度。

1.7.3 SEA 的分离纯化：取 2mL SEA 过 2.6cm@70cm 的 Sephadex G-200 层析柱，用 pH 7.2 的 PBS 洗脱，收集各洗脱峰，将收集液经 PEG20000 浓缩后进行 SDS-PAGE 分析，并测定其浓度（相当于步骤 2，样品分离：将步骤 1 制备的上清液过葡聚糖凝胶柱，然后收集分离得到的抗原组分）。

1.8 SEA 各分离峰的抗原性比较：以 SEA 各分离峰为抗原包被 96 孔酶标板，应用间接 ELISA 检测日本血吸虫病抗体阳性绵羊血清，比较各分离峰的抗原性（相当于步骤 3，样品鉴定）。

2.2 SEA 的分离纯化

SEA 经 Sephadex G2200 层析柱分离后得到 2 个洗脱峰(见图 2)。

2.4 SEA1 和 SEA2 的抗原性比较：以 SEA 分离纯化后的第一峰 SEA1 及第二峰 SEA2 为包被抗原作 ELISA 检测日本血吸虫病抗体阳性绵羊血清，其平均 D450 nm 值分别为 5117 和 2155，表明 SEA1 的抗原性明显高于 SEA2（相当于一种日本血吸虫可溶性虫卵抗原组分的分离鉴定方法）（参见第 208-210 页）。



权利要求 1 与对比文件 1 相比,区别特征在于:步骤 1,步骤 2 中的-20℃保存备用,步骤 3,超声裂解的条件为:超声功率为 400-500W,时间为 10-30min,将步骤 1 制备的上清液过葡聚糖凝胶柱,具体操作为:向葡聚糖凝胶柱内分多次加入步骤 1 制备的上清液,每次加入量为柱体积的 5%,用 pH4.9 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗脱抗原,流速为 0.25ml/min。

基于上述区别技术特征,本发明实际解决的技术问题是:如何进行样品的制备以及提高样品鉴定的便捷性。

然而,对比文件 2 (“牛羊日本血吸虫抗体检测试纸条的研制”,阳爱国等,《动物医学进展》,第 36 卷,第 5 期,第 73-80 页,2015 年 05 月 20 日)公开了牛羊日本血吸虫抗体检测试纸条的研制,并具体公开以下技术特征:

可溶性抗原的提取:取冻干的血吸虫卵,用玻璃匀浆器研磨 30min,再加少量 8.5g/LNaCl 研磨 30min,然后配成 40mL/L 悬液(相当于将 *S.japonicum* 虫卵研磨,用灭菌生理盐水配成悬液),置 4℃冰箱浸泡 2d,-20℃反复冻融 8 次,超声裂解 30min (400W)(400W)(400W和 30min 分别公开了 400-500W 和 10-30min 的端点),将裂解液以 9000 r/min 离心 50min,取上清即为血吸虫虫卵可溶性抗原(参见说明书第 74 页第 1.2.2 节)。

上述特征在对比文件 2 中的作用与其在本申请中的作用相同,均是提供有效的日本血吸虫可溶性虫卵抗原样品的制备方法,即对比文件 2 给出了将上述特征用于对比文件 1 的技术方案中以解决其技术问题的启示。

此外,对比文件 3 (“3 种抗原 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的比较”,沈定文等,《中国公共卫生》,第 17 卷第 5 期,第 446-447 页,2001 年 5 月 5 日)公开了 3 种抗原 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的比较,并具体公开以下技术特征:

血清检测 采用 Dot-ELISA 法

用 3 个等大大头针柄,分别蘸取经稀释的 Sj31/32、SEA 和 AWA 再分别印滴在预先经双蒸水浸泡后吹干的 NC 膜的小格上(相当于将收集的抗原组分在膜上点样),凉干后置于含 1%BSA 的 TBS 封闭液中,室温封闭 2h,凉干备用。待测血清用封闭液作倍比稀释,浓度范围是 1:20~1:20480,每小格中加 2μL,室温 30min 后 TBS 洗涤 3 次,分别加酶结合物 HRP-羊抗人 IgG (30min)和底物 DAB(15min),水洗中止反应。每批均同时设立阳性和阴性对照,同一份血清均重复试验(参见第 446 页第 1.3 节)。

上述特征在对比文件 3 中的作用与其在本申请中的作用相同,均是使用 Dot-ELISA 方法进行样品鉴定,以提高样品鉴定的便捷性,即对比文件 3 给出了将上述特征用于对比文件 1 的技术方案中以解决其技术问题的启示。

至于步骤 1-3 中的细微区别:用灭菌生理盐水配成 5%的悬液,置 4℃浸泡的天数,反复冻融的次数,离心的参数;步骤 2 中的-20℃保存备用;步骤 3 中使用的膜是 PVDF 膜,1μg/点,室温放置 1 小时,封闭液中的缓冲液为 PBST,封闭的参数为 4℃过夜封闭,PBST 洗膜 3 次,每次 5min,再与 1:100 倍稀释的 *S.japonicum* 阳性病牛血清室温振荡作用 1 小时,PBST 洗膜 3 次,每次 5min,再与 1:20000 倍稀释的羊抗牛 IgG-hrp 室温振荡作用 1 小时,PBST 洗膜 3 次,每次 5min,ECL 化学发光显色进行鉴定,以及向葡聚糖凝胶柱内分多次加入步骤 1 制备的上清液,每次加入量为柱体积的 5%,用 pH4.9 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗脱抗原,流速为 0.25ml/min,这些或是本领域的常规技术手段,或为了获得较好的检测效果在对比文件 2-3 的基础上通过有限的试验调整即可得到的,未有预料不到的技术效果。

由此可知,在对比文件 1 的基础上,结合对比文件 2-3 及本领域常规技术手段,从而得到权利要求 1 所请求保护的技术方案,对本领域技术人员来说是显而易见的。因此该权利要求所要求保护的技术方案不具有突出的实质性特点和显著的进步,不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。

2、权利要求 2 不具备专利法第 22 条第 3 款规定的创造性。

对于权利要求 2 的附加技术特征,对比文件 1 公开了取 2mL SEA 过 2.6cm@70cm 的 Sephadex G-200 层析柱进行 SEA 的分离纯化,在此基础上,对于葡聚糖凝胶柱的制备方法为:称取 3g 葡聚糖凝胶 G-200 至烧杯中,加入去离子水 300ml,室温过夜溶胀,次日更换去离子水,沸水浴 1 小时,冷却后装柱,然后用 pH4.0-5.5 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液平衡过夜,这些或是本领域的常规技术手段,或为了获得较好的检测效果通过有限的试验调整即可得到的,且本申请也没有任何对比试验证据表明相关调整取得了预料不到的技术



效果。因此，在其引用的权利要求不具备创造性时，上权利要求 2 也不具备专利法第 22 条第 3 款有关创造性的规定。

3、针对申请人意见陈述的答复

审查员答复如下：

首先，权利要求书的保护范围以其文字记载为准，本申请目前的权利要求中并未记载如何大量制备日本血吸虫 SEA 特异性抗原成分的方法步骤，对于申请人声称的“本申请要解决的技术问题为大量制备日本血吸虫 SEA 特异性抗原成分”不能被认可。

其次，对比文件 1 虽然是研究三种抗原对家畜日本血吸虫病诊断价值的比较，但在研究的过程中涉及到了日本血吸虫虫卵粗抗原(SEA)的制备、分离纯化、SEA 各分离峰的抗原性比较，结果表明 SEA1 的抗原性明显高于 SEA2，且具有较高的特异性，即对比文件 1 实质公开了一种日本血吸虫可溶性虫卵抗原组分的分离鉴定方法，并鉴别出日本血吸虫 SEA 特异性抗原成分，其要解决的技术问题与本申请相同。

此外，对于本申请与对比文件 1 的区别特征，上文已经评述过，引入对比文件 2 的作用仅在于其给出了制备日本血吸虫可溶性虫卵抗原具体方法的技术启示，对于对比文件 2 是否为了制备试纸条、是否公开清液过葡聚糖凝胶柱的具体操作，这些并不能阻碍本领域技术人员从对比文件 2 中获取可溶性虫卵抗原制备方法的启示；对比文件 2 公开了取冻干的血吸虫卵，用玻璃匀浆器研磨 30min，再加少量 8.5g/LNaCl 研磨 30min，然后配成 40mL/L 悬液，置 4℃冰箱浸泡 2d，-20℃反复冻融 8 次，超声裂解 30min（400W），将裂解液以 9000 r/min 离心 50min，取上清即为血吸虫虫卵可溶性抗原，在此基础上，对于操作上的细节差异：用灭菌生理盐水配成 5%的悬液、置 4℃浸泡的天数、反复冻融的次数和离心的参数等参数均是可调节的参数，是本领域技术人员根据实际需求和效果可以通过有限的实验调整即可确定的；另一方面，参考文献 1（CN1700008A）也同样公开了“血吸虫可溶性抗原与纯化抗原的制备：将日本血吸虫卵置玻璃研磨器中研磨后，用 0.85%NaCl 溶液按重量配成 5%浓度溶液，置-25℃反复冻融 7 次，用 40KHz、400W 超声波探头浸入溶液内处理 20 分钟，在 4℃下以 13000rpm 离心 60 分钟，吸取上清液为血吸虫可溶性抗原”（参见实施例 5），其制备方法与本申请的步骤大致相同，可见，在对比文件 2 的基础上调整操作上的细节参数并不需要克服技术障碍，且其并未产生预料不到的技术效果。

对比文件 1 公开了样品分离：取 2mL SEA 过 2.6cm@70cm 的 Sephadex G-200 层析柱，用 pH 7.2 的 PBS 洗脱，收集各洗脱峰，在此基础上，对于本申请分多次将上清液加入至凝胶柱中，并且使用 pH4.9 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗脱抗原，是本领域技术人员可以根据实际需求和分离的效果通过有限的试验进行选择和调整即可确定的，未有预料不到的技术效果；并且，参考文献 2（日本血吸虫天然抗原分子的柱层析分离纯化与鉴定，彭先楚等，《热带医学杂志》，第 5 卷第 1 期，第 12-14 页，2005 年 2 月 28 日）也同样公开了分多次将上清液加入至凝胶柱中，每次加入量为柱体积的 1/10，并且使用 pH4.9 的柠檬酸缓冲液洗脱日本血吸虫虫卵可溶性抗原（参见第 1.2.2-1.2.3 节），可见，获得本申请样品分离的具体操作对于本领域技术人员而言无需付出创造性劳动。

最后，对比文件 3 公开了使用 Dot-ELISA 方法进行样品鉴定，上述特征在对比文件 3 中的作用与其在本申请中的作用相同，均是提高样品鉴定的便捷性，即对比文件 3 给出了将上述特征用于对比文件 1 的技术方案中以解决其技术问题的启示；对于对比文件 3 是否为了比较 3 种抗原 Dot-ELISA 诊断日本血吸虫病的效果，这并不能阻碍本领域技术人员从对比文件 3 中获取样品鉴定方法的启示，至于样品鉴定操作过程中的细微差别，或是本领域的常规技术手段，或为了获得较好的检测效果通过有限的试验调整即可得到的，未有预料不到的技术效果；另一方面，如参考文献 3（CN107778363A）公开了：“Western Blot 检测重组蛋白 rSjMRP1，rSjOAT，rSjHSP70HOMO 的免疫原性：重组蛋白 rSjMRP1、rSjOAT 和 rSjHSP70HOMO，经过 SDS-PAGE 电泳，电转至 PVDF 膜上，电转条件为 260mA，75min。转膜结束后，以 1%明胶对 PVDF 膜进行封闭，4℃过夜。封闭后，以 PBST 洗涤 3 次，每次 5min。分别以正常小鼠血清、感染日本血吸虫 42d 的小鼠阳性血清为一抗（1:100 稀释），室温孵育 1h。孵育后，以 PBST 洗涤 3 次，每次 5min。以 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 为二抗，室温孵育 1h。孵育后，以 PBST 洗涤 4 次，每次 5min。使用二氨基联苯胺(DAB)进行显色，当有清晰条带出现时，以清水终止反应，拍照保存结果”（参见第 83-84 段），其鉴定免疫原性的方法步骤与本申请的步骤大致相同，可见，获得本申请样品鉴定的具体操作对于本领域技术人员而言无需克服技术障碍。



因此，申请人的意见陈述不具有说服力。

三、决定

综上所述，本发明专利申请不符合专利法第二十二条第三款的规定，属于专利法实施细则第五十三条第二项的情况，因此根据专利法第三十八条予以驳回。

根据专利法第四十一条第一款的规定，申请人如果对本驳回决定不服，可以在收到本驳回决定之日起三个月内，向专利局复审和无效审理部请求复审。

审查员姓名:石维平
审查员代码:30141138