

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 498 739**

21 Número de solicitud: 201301169

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)

C09K 11/06 (2006.01)

F21K 2/06 (2006.01)

H05B 33/14 (2006.01)

C12R 1/63 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

21.03.2013

30 Prioridad:

21.03.2013 ES 201300290

43 Fecha de publicación de la solicitud:

25.09.2014

88 Fecha de publicación diferida del informe sobre el estado de la técnica:

07.11.2014

Fecha de la concesión:

30.06.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

07.07.2015

62 Número y fecha presentación solicitud principal:

P 201300290 21.03.2013

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA (100.0%)
SECRETARIADO DE TRANSFERENCIA DE
CONOCIMIENTO Y EMPRENDIMIENTO
PABELLÓN DE BRASIL, PASEO DE LAS
DELICIAS, S/Nº
41013 SEVILLA (Sevilla) ES**

72 Inventor/es:

**GONZÁLEZ DÍEZ, Isabel y
MAYORAL GONZÁLEZ, Eduardo**

54 Título: **Procedimiento para el cultivo de bacterias Vibrio Fischeri y su uso para la obtención de dispositivos de iluminación ambiental y señalización, sin consumo eléctrico**

57 Resumen:

El objeto de la presente invención consiste en el procedimiento de obtención de dispositivos de iluminación ambiental mediante el uso de poblaciones de micro-organismos bioluminiscentes que emiten luz sin consumo eléctrico y sin dañar al medio, utilizando para ello bacterias de la especie Vibrio fischeri. Identifica el problema del consumo de energía eléctrica para producir luz y el que se gasta en producir lámparas y luminarias artificiales, así como el residuo en que éstas se convierten al acabar su ciclo de vida útil. Propone como solución a este problema el aprovechamiento de las propiedades bioluminiscentes de micro-organismos dispuestos adecuadamente en dispositivos de iluminación biodegradables.

ES 2 498 739 B1

DESCRIPCIÓN

PROCEDIMIENTO PARA EL CULTIVO DE BACTERIAS VIBRIO FISCHERI Y SU
USO PARA LA OBTENCIÓN DE DISPOSITIVOS DE ILUMINACIÓN AMBIENTAL
Y SEÑALIZACIÓN, SIN CONSUMO ELÉCTRICO.

Objeto de la invención

La presente invención se encuadra en el sector técnico biotecnológico y arquitectónico. Su principal objeto consiste en el procedimiento de obtención de dispositivos de iluminación ambiental y señalización, capaces de emitir luz sin consumo eléctrico y sin dañar al medio, mediante el uso de poblaciones de bacterias de la especie *Vibrio fischeri*. Además del uso de poblaciones de esta clase de micro-organismos bioluminiscentes, se presentan varios diseños de soportes biodegradables que acogerían dichas poblaciones para dar forma a distintos dispositivos capaces de emitir luz sin consumir energía eléctrica.

Todo ello genera una serie de ventajas, de entre las que destacan las siguientes:

- Se sustituyen los tradicionales mecanismos de diseño y producción basados en el consumo de recursos naturales y la generación de desechos, por la generación de recursos y el impacto positivo en el medio.
- No se usa electricidad porque la luz emitida por los micro-organismos es natural.
- Se reduce la energía empleada en fabricar y mantener los actuales dispositivos artificiales que emiten luz ya que los micro-organismos crecen no se fabrican.
- Se reducen las emisiones de CO₂ producidas al fabricar dichos dispositivos artificiales para la emisión de luz.
- Se evita el impacto paisajístico y medioambiental y se elimina la noción de desecho (el medio no reabsorbe una farola, pero sí micro-organismos y biomateriales).

Estado de la técnica

Los prototipos de dispositivos bioluminiscentes que se presentan se encuentran en fase experimental aunque ya se han obtenido resultados de laboratorio que avalan su viabilidad, y los procedimientos y protocolos de cultivo de los micro-organismos

5 con los que se ha trabajado, se han particularizado para obtener los dispositivos
bioluminiscentes correspondientes. Actualmente no existe ningún producto en el
mercado con características similares, si bien se han realizado proyectos de
investigación (también en fase experimental) que exploran las características
10 bioluminiscentes de poblaciones de micro-organismos para emitir luz. Tal es el
caso de los siguientes proyectos: *Biomario* (Namba, Minamoto y Morimoto 2009),
Deep Green 1 y *Jellyfish Lounge* (Takayama y Nicholson 2004), *Exposure
Smartsurfaces* (Adelson, Feldman, Krauss, Ligeski, Sturm, Theisz 2009), *Bio-Light*
(Clive van Heerden PHILIPS 2011).

15 El uso de micro-organismos bioluminiscentes con propósitos de diseño ha sido
explorado por diferentes investigadores en distintas propuestas. Entre ellas,
encontramos *BioMario*, una imagen del personaje del famoso videojuego de
20 Nintendo configurada a partir de bacterias bioluminiscentes. En este proyecto,
desarrollado por un equipo de la Universidad de Osaka liderado por Namba,
Minamino y Morimoto para el concurso IGEM 2009, se utilizaron poblaciones de
25 bacterias modificadas genéticamente para expresar colores rojos y verdes. Otras
propuestas se centran en implementar poblaciones de bacterias en piezas de
mobiliario. Este es el caso de las propuestas *Deep Green 1* y *Jellyfish Lounge*,
30 ambas desarrolladas por el *Symbiotic Bacterial Light Project* de la Universidad de
Canberra. El primer proyecto consiste en una lámpara tubular que contiene agua y
bacterias que brillan al ser excitadas por el movimiento del agua producido al
35 inyectar aire en las estructuras tubulares. El segundo, se trata de una silla que
tiene una pantalla con bacterias en cuyo ADN se introdujo la proteína GFP
(extraída del ADN de la especie de medusa *Aequorea victoria*), la cual confiere a
40 las bacterias la propiedad de emitir luz. Además de estas propuestas, Philips
anunció el prototipo de lámpara *Bio-Lamp* en noviembre de 2011, la cual emite luz
45 gracias a una serie de poblaciones de bacterias bioluminiscentes que se alimentan
de metano. La lógica de funcionamiento de este prototipo es muy similar a la que
Adelson, Feldman, Krauss, Ligeski, Sturm y Theisz utilizaron en 2009 para su
50 proyecto *Exposure* para *Smartsurfaces*. Durante este mismo año se desarrolló la
investigación sobre la manipulación de poblaciones de micro-organismos
bioluminiscentes que se presenta en este documento.
55

Descripción del contenido de las figuras

5 *Figura 1.A.* Prototipos de dispositivos bioluminiscentes en estructura reticular de celdas de base circular y cuadrada para albergar poblaciones de *Vibrio fischeri*, donde:

- 10
- 1 - Membrana de bioplástico transparente.
 - 2 - Soporte reticulado con celdas de bioplástico o caucho reciclado.
 - 3 - Espacio para agar y poblaciones de *Vibrio fischeri*.

15 *Figura 1.B.* Dispositivos bioluminiscentes de estructura reticular rellenos de agar y bacterias *Vibrio fischeri*, para iluminación de espacios urbanos y pantallas publicitarias.

20 *Figura 2.A.* Prototipo de dispositivo bioluminiscente en estructura tubular flexible para albergar poblaciones de *Vibrio fischeri*, donde:

- 25
- 1 - Estructura tubular flexible de bioplástico transparente, rellena de agar y bacterias de la especie *Vibrio fischeri*.

30 *Figura 2.B.* Dispositivos bioluminiscentes de estructura tubular rellenos de agar y bacterias *Vibrio fischeri* para iluminación de espacios naturales.

40 Descripción de la invención

45 La novedad fundamental de la presente invención radica en el procedimiento de obtención de dispositivos de iluminación ambiental, aprovechando las cualidades lumínicas que presenta la especie de bacteria *Vibrio fischeri* para producir luz de forma natural sin consumir energía eléctrica y sin emitir residuos nocivos para el medio. Estas dos características son las ventajas que ofrece con respecto a sistemas de iluminación tradicionales. Además, la invención presenta diseños de geometrías biodegradables y/o recicladas que albergan poblaciones de estas clases de micro-organismos para configurar dispositivos bioluminiscentes en función de los resultados obtenidos en laboratorio.

55

Las dos mayores dificultades que entraña el cultivo de poblaciones de dichos micro-organismos son cómo hacer que brillen de forma más intensa y cómo mantenerlos vivos el máximo tiempo posible. En este sentido, la invención presenta una serie de estrategias relacionadas con las condiciones de cultivo y el diseño de las geometrías que albergan las poblaciones de bacterias y algas unicelulares. Dichas estrategias se explican a través del siguiente procedimiento de cultivo:

1) *Procedimiento de cultivo poblaciones de Vibrio fischeri.*

- Introducir poblaciones de bacterias en recipientes que contengan agar y depositarlos dentro de una incubadora a una temperatura que oscile entre 18°C y 27°C. Es recomendable que el peso de las bacterias en relación al del agar esté en una relación cuyo mínimo sea de 1:5 y cuyo máximo sea de 1:10.
- Esperar alrededor de una semana y realizar subcultivos dividiendo la mitad del contenido de cada uno de los recipientes en contenedores de igual tamaño a los originales, y con una cantidad de agar determinada por la misma relación de peso que se propone en el punto anterior. Seguidamente, los nuevos contenedores se depositan dentro de la incubadora en las mismas condiciones de temperatura que las señaladas con anterioridad. Este proceso se puede repetir hasta alcanzar la cantidad deseada de poblaciones de bacterias.
- Finalmente, las poblaciones de bacterias se disponen en las geometrías diseñadas y fabricadas con propósitos específicos para configurar dispositivos bioluminiscentes que emitan luz sin consumo eléctrico. Se recomienda que estas geometrías sean fundamentalmente superficiales y no se dispongan las poblaciones de bacterias en capas cuyo espesor sea mayor de 1,5cm porque su eficiencia lumínica es menor en relación al número de bacterias empleado para emitir luz.

Con respecto a los dispositivos bioluminiscentes que se propone patentar, se detallan a continuación los siguientes:

2) *Descripción de prototipos para dispositivos bioluminiscentes que alberguen bacterias de la especie Vibrio fischeri.*

- Estructura reticular de celdas (Fig.1.A y 1.B) para elaborar prototipos de pantallas publicitarias, elementos de iluminación ambiental urbana y de espacios interiores, o para usarse como señalética en parques naturales. Este tipo de estructura consiste en una placa superficial con pequeños volúmenes de base cuadrada o circular que se llenarían con agar y poblaciones de *Vibrio fischeri*. El tamaño de estas celdas variaría en función del uso. Las que se proponen oscilan entre 0.5cm y 2cm de diámetro (en el caso de las de base circular) y de 0.5x0.5cm a 2x2cm (en el caso de las de base cuadrada). La placa se construiría usando bioplásticos o caucho reciclado.
- Estructura lineal tubular (Fig.2.A y 2.B) para delimitar e iluminar espacios abiertos naturales o urbanos, y también espacios interiores. Este prototipo consiste en unos tubos de bioplástico transparente, aproximadamente de 1.5cm de diámetro, y de longitud variable, que se disponen en el espacio para acotarlo e iluminarlo. Están rellenos de agar y poblaciones de *Vibrio fischeri* para emitir luz.

Modo de realización de la invención

1) *Procedimiento de obtención de cultivos de Vibrio fischeri empleado.*

Para comenzar el trabajo de laboratorio con esta especie se encargaron unos tubos de ensayo que contenían bacterias *Vibrio fischeri* y otros con agar (nutrientes) Se procedió al cultivo de poblaciones de bacterias rascando con una espátula (previamente desinfectada con fuego) los tubos que contenían microorganismos e introduciéndolos en los que contenían agar. Una vez hecho esto, los tubos se cerraron lo suficiente para que no se contaminara el cultivo, pero no del todo para permitir la entrada de oxígeno. Seguidamente, se introdujeron en una incubadora a 25°C. A los cuatro días las poblaciones crecieron lo suficiente y empezaron a brillar. Se dejó que las poblaciones siguieran creciendo durante cuatro días más, momento en el que se hizo necesario suministrar más nutrientes para mantenerlas vivas. Entonces se subdividieron los cultivos utilizando nuevos

5
10
15
20
25
30
35

tubos de ensayo con agar, de modo que la mitad de cada tubo original se introdujo en uno nuevo con nutrientes. La transferencia de bacterias se realizó en una cámara aislada con extracción de aire para evitar posibles contaminaciones. Este proceso se repitió hasta conseguir poblaciones que brillasen significativamente, las cuales fueron introducidas en geometrías con distinta forma para evaluar su comportamiento y especular sobre su posible uso. Parte de los cultivos producidos se mantuvo en un frigorífico a 4°C para preservarlos, el resto murió a los diez días de interrumpir el suministro de agar a las poblaciones de bacterias.

2) *Prototipos bioluminiscentes para la especie de bacteria Vibrio fischeri.*

El primer prototipo que se fabricó para albergar poblaciones de bacterias *Vibrio fischeri*, consistió en una estructura reticular en la que se podían albergar en compartimentos separados, micro-organismos de esta especie, alimentados por agar (Fig.1.A). Suministrando agar cada cierto tiempo para alimentar a las poblaciones de bacterias, sería posible mantener el nivel de luz emitido por las mismas y pensar en desarrollar dispositivos para iluminación ambiente en ciudades o zonas naturales, pantallas publicitarias, o elementos de señalización e iluminación de emergencia. El segundo prototipo consistió en unos tubos o filamentos que contenían agar y poblaciones de bacterias *Vibrio fischeri* (Fig.2.A), pensados para delimitar espacios con la intención de marcar o señalar caminos en espacios naturales o para iluminación ambiente en interiores.

Reivindicaciones

5 1. Procedimiento para el cultivo de micro-organismos bioluminiscentes utilizando poblaciones de bacterias de la especie *Vibrio fischeri*, caracterizado por introducir las poblaciones de bacterias de la especie *Vibrio fischeri* en recipientes que
10 contengan agar y depositarlos dentro de una incubadora a una temperatura que oscile entre 18°C y 27°C, con un peso de bacterias en relación al de agar cuyo mínimo sea de 1:5 y cuyo máximo sea de 1:10.

15 2. Dispositivos bioluminiscentes de iluminación ambiental sin consumo eléctrico, que contienen poblaciones de bacterias de la especie *Vibrio fischeri*, tal y como se describen a continuación:

20 - Estructura reticular de celdas compuesta por una placa superficial preferentemente de bioplástico o caucho reciclado, con pequeños volúmenes de base cuadrada (de 0.5x0.5cm a 2x2cm) o circular (de 0.5cm a 2cm de diámetro),
25 que contienen agar y poblaciones de *Vibrio fischeri*,

30 - Estructura tubular lineal compuesta por tubos preferentemente de bioplástico transparente, aproximadamente de 1.5cm de diámetro, y de longitud variable, que contienen agar y poblaciones de *Vibrio fischeri* dispuestas en el espacio para acotarlo e iluminarlo.

35 3. Uso de la especie de bacterias bioluminiscentes *Vibrio fischeri* para la obtención de los dispositivos de iluminación ambiental y señalización, los cuales aparecen descritos en la reivindicación 2, cultivadas según el procedimiento de cultivo citado
40 en la reivindicación 1.

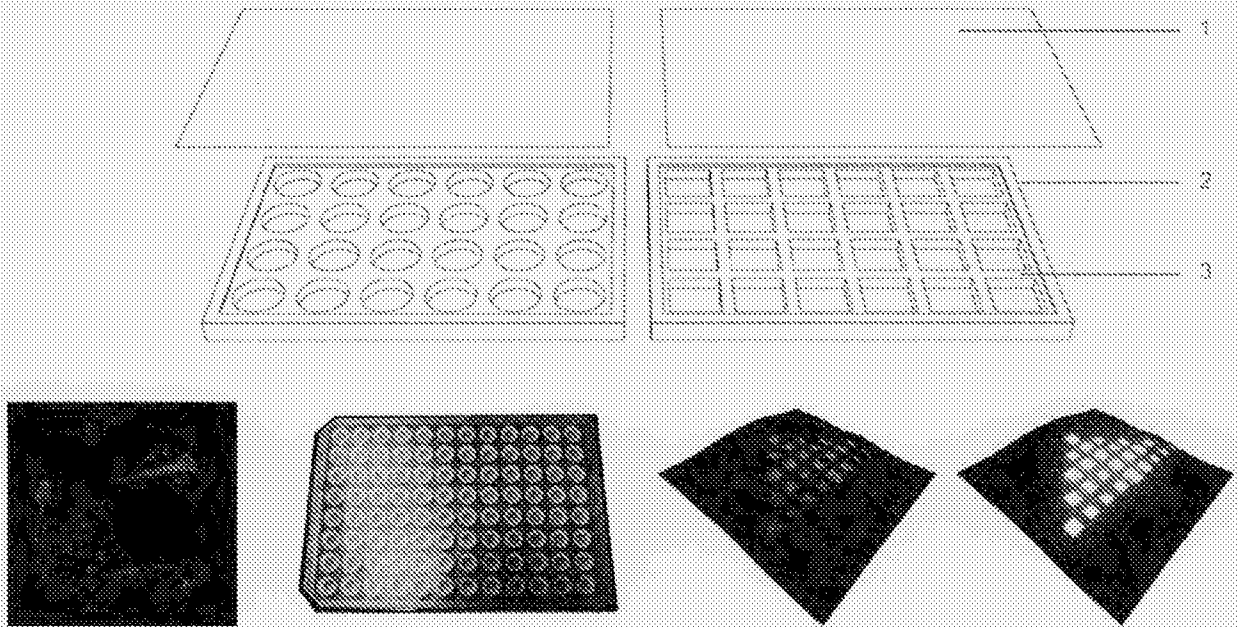


Figura 1.A



Figura 1.B

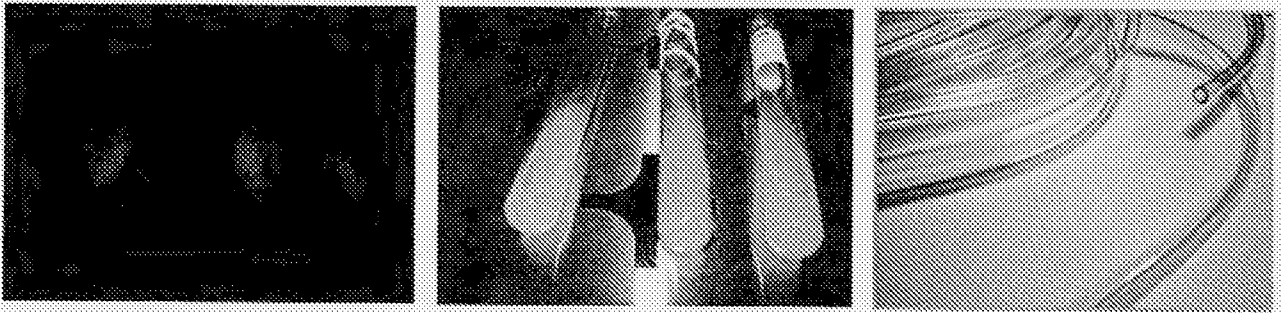
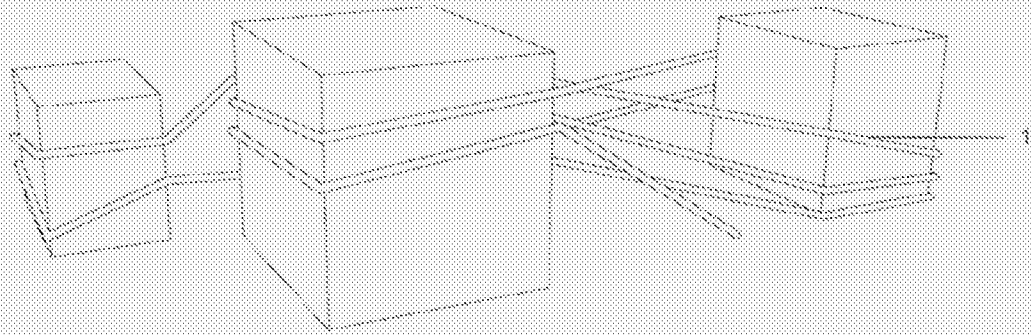


Figura 2.A



Figura 2.B



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201301169

②② Fecha de presentación de la solicitud: 21.03.2013

③② Fecha de prioridad: **21-03-2013**

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GONZALEZ DIEZ I., Diseño de prototipos de materiales biosintéticos para su uso como materiales de construcción. Proyectos de investigación en la Convocatoria de "Ayudas a la investigación 2011", FUNDACIÓN MAPFRE, Instituto de Prevención, Salud y Medio Ambiente,[en línea], 2011, [recuperado el 18.10.2014]. Recuperado de Internet: http:// www.mapfre.com_documentacion_publico_i18n_consulta_resul.pdf , todo el documento.	1-3
X	MAYORAL, Eduardo. Bacterial faint illumination, Wordpress.com 2008 [recuperado el 18.10.2014]. Recuperado de Internet <URL: http_eduardomayoral.wordpress.com_2010_07_08_bacterial-faint-.pdf , todo el documento.	2-3
X	Holcimfoundation.org. HolcimAwards2011, [en línea] [recuperado el 18.10.2014], Recuperado de Internet <URL: http://src.holcimfoundation.org/dnl/197ad736-8704-41b5-9bab-fd2a910b7d9f/HolcimAwards11_EUR_NextGen3rd.pdf , todo el documento.	2-3

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
28.10.2014

Examinador
M. Hernández Cuéllar

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N1/20 (2006.01)

C09K11/06 (2006.01)

F21K2/06 (2006.01)

H05B33/14 (2006.01)

C12R1/63 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N, C12R, C09K, F21K, H05B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.10.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1,3	SI
	Reivindicaciones 2	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-3	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	GONZALEZ DIEZ I., Diseño de prototipos de materiales biosintéticos para su uso como materiales de construcción. Proyectos de investigación en la Convocatoria de "Ayudas a la investigación 2011", FUNDACIÓN MAPFRE, Instituto de Prevención, Salud y Medio Ambiente, [en línea], 2011, [recuperado el 18.10.2014]. Recuperado de Internet: http://www.mapfre.com_documentacion_publico_i18n_consulta_resul.pdf , todo el documento.	
D02	MAYORAL, Eduardo. Bacterial faint illumination, Wordpress.com 2008 [recuperado el 18.10.2014]. Recuperado de Internet <URL: http://eduardomayoral.wordpress.com_2010_07_08_bacterial-faint-.pdf , todo el documento.	
D03	Holcimfoundation.org. HolcimAwards2011, [en línea] [recuperado el 18.10.2014], Recuperado de Internet <URL: http://src.holcimfoundation.org/dnl/197ad736-8704-41b5-9bab-d2a910b7d9f/HolcimAwards11_EUR_NextGen3rd.pdf , todo el documento.	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente invención tiene por objeto la obtención de dispositivos bioluminiscentes mediante el cultivo de la especie *Vibrio fischeri*.

1.- NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA

El documento D01 consiste en la memoria de un proyecto que tiene por objeto el Diseño de prototipos de materiales biosintéticos para su uso como materiales de construcción. En la página 7 se mencionan las tres líneas de investigación una de las cuales consiste en dispositivos de iluminación y señalización sin consumo eléctrico configurados a partir del uso de poblaciones de micro-organismos bioluminiscentes, en particular, las bacterias *Vibrio fischeri*. Según se indica en el documento. Como parte de la investigación se han cultivado poblaciones de *Vibrio fischeri* y manipulado sus condiciones de crecimiento con el objetivo de obtener más individuos en cada población y la mayor luminosidad posible. Asimismo se han explorado las condiciones que permiten mantener a estas poblaciones de micro-organismos vivas la mayor cantidad de tiempo posible. En función de los resultados obtenidos en el laboratorio, se han fabricado distintas geometrías para albergar de la mejor manera a estas poblaciones de micro-organismos, con el objeto de diseñar prototipos de dispositivos que emitan luz, aprovechando sus propiedades bioluminiscentes de forma óptima. En la página 11 se mencionan las características del cultivo realizado sobre agar y en un rango de temperaturas que oscila entre 18°C-25°C. La página 12 menciona el desarrollo de dos dispositivos: unos tubos flexibles de bioplástico transparente rellenos de agar y poblaciones de bacterias para iluminar espacios naturales (Foto 3.1), y unas placas superficiales con compartimentos en los que alojar las poblaciones de bacterias con agar.

En el documento D02, relativo a dispositivos bioluminiscentes, aparece una foto que hace referencia a dichas placas.

El documento D03 también dispositivos bioluminiscentes, consiste en un poster en el cual aparecen fotos de los dispositivos tubulares y planos a los que se hace referencia en D01.

En ninguno de los documentos citados se menciona la relación de peso entre bacterias y agar que se indica en la reivindicación 1. En consecuencia, en opinión de esta Oficina, las reivindicaciones 1 y 3 son nuevas según el Art. 6.1 LP 11/1986.

Las figuras o fotos de los documentos D01-D03 son idénticas a las figuras de la solicitud que se presentan como ejemplo de realización de la reivindicación 2. En consecuencia, en opinión de esta Oficina, las reivindicación 2 no cumple el requisito de novedad y por tanto tampoco el de actividad inventiva establecidos en los Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986.

La diferencia entre el procedimiento descrito en D01 y el procedimiento de la invención radica en la relación de peso entre bacterias y agar. En este sentido, el problema técnico subyacente se puede plantear como la provisión de un procedimiento de cultivo mejorado para la especie *Vibrio fischeri*. La solución consiste en el procedimiento de la invención en el cual la relación de peso entre bacterias y agar cuyo mínimo es 1:5 y cuyo máximo sea 1:10. El efecto técnico resultante de tal diferencia es la obtención de más individuos en cada población y la mayor luminosidad posible. A la luz de las indicaciones de D01 acerca de la manipulación de las condiciones de crecimiento con el objetivo de obtener más individuos en cada población y la mayor luminosidad posible un experto en la materia, aplicando los conocimientos y técnicas habituales de cultivo de microorganismos, probaría y llegaría a obtener con unas expectativas razonables de éxito la relación de peso entre bacterias y agar que caracteriza la reivindicación 1. En consecuencia, en opinión de esta Oficina, las reivindicación 1 y 3 no cumplen el requisito de actividad inventiva establecido en el 8.1 LP 11/1986.