



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 325 802**

⑫ Número de solicitud: 200702294

⑬ Int. Cl.:

C12N 9/06 (2006.01)

C12N 11/10 (2006.01)

C12N 11/14 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

R

⑫ Fecha de presentación: **16.08.2007**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **17.09.2009**

⑭ Fecha de publicación diferida del informe del estado de la técnica: **10.02.2010**

⑰ Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas** (Titular al 70 %)
c/ Serrano, nº 117
28006 Madrid, ES
Universidad Autónoma de Madrid (Titular al 30 %)

⑱ Inventor/es: **Bolívar Bolívar, Juan Manuel;**
Mateo González, César;
Rocha Martín, Javier;
Fernández Lafuente, Roberto;
Guisán Seijas, José Manuel;
Cava Valenciano, Felipe y
Berenguer Carlos, José

⑳ Agente: **Ungría López, Javier**

② Título: **Procedimiento de inmovilización de una glutamato deshidrogenasa.**

③ Resumen:

Procedimiento de inmovilización de una glutamato deshidrogenasa.

Esta solicitud describe la preparación de un derivado de una glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Thermus spp* inmovilizado-estabilizado por unión covalente multipuntual. La enzima soluble ya es muy estable desde pH 6 a pH 10, incluso a 60°C, reconoce NAD, NADH, NADP, y NADPH. Su inmovilización en soportes glioxil permite la estabilización tanto de su estructura multimérica como de la rigidez de cada monómero, aumentando aún más su termoresistencia, y ampliando el rango de utilización a pH inferiores a 5 (donde la enzima soluble se inactiva por disociación). El derivado inmovilizado es resistente a disolventes, alta temperatura, pHs drásticos, etc. Este derivado inmovilizado de la GDH, por lo tanto tendría excelentes posibilidades de utilización como enzima regeneradora de cofactores en procesos de reducción-oxidación enzimáticos o como biosensor.

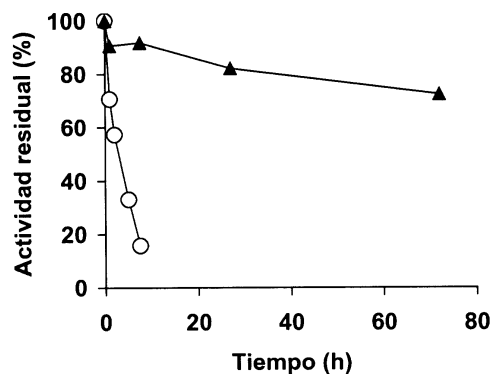


FIG. 3

ES 2 325 802 R



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ ES 2 325 802

⑫ Nº de solicitud: 200702294

⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 16.08.2007

⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.: Ver hoja adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑯ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	SIU, E. et al.: "Electrochemical Regeneration of NADH Using Conductive Vanadia-Silica Xerogels", Biotechnol. Prog. (enero-febrero 2007), vol. 23, pp.: 293-296, todo el documento.	1-15
A	WO 9406907 A1 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 31.03.1994, todo el documento.	1-15
A	EP 0135092 B1 (YAMASA SHOYU KABUSHIKI KAISHA et al.) 25.07.1990, todo el documento.	1-6,12-15
A	US 20070131546 A1 (NOMOTO, T. et al.) 14.06.2007, todo el documento.	1-6,12-15

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

04.09.2009

Examinador

A. Maquedano Herrero

Página

1/4

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N 9/06 (2006.01)

C12N 11/10 (2006.01)

C12N 11/14 (2006.01)

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

C12N

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

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, CA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.09.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-15	SÍ
	Reivindicaciones		NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	1-15	SÍ
	Reivindicaciones		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 ha sido publicada.

Consideraciones:

Los documentos de la solicitud de patente sobre los que se basa esta Opinión Escrita son el resultado de las modificaciones efectuadas durante el proceso de examen formal y técnico de la solicitud de patente.

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	SIU, E. et al., Biotechnol. Prog., vol. 23, pp.: 293-296	01-02/2007
D02	WO 94/06907 A1	31/03/1994
D03	EP 0135092 B1	25/07/1990
D04	US 2007/0131546 A1	14/06/2007

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 solicitud reivindica un procedimiento para inmovilizar una glutamato deshidrogenasa procedente de *Thermus thermophilus* mediante unión covalente multipuntual sobre soportes activados con grupos glioxil. Una vez estabilizada, la enzima así inmovilizada se utiliza tanto para regenerar NAD(H) y/o NADP(H) mediante reacciones red-ox, como para la fabricación de biosensores para la detección de metabolitos como ácido glutámico, iones amonio, urea, metales pesados, etc.

D01 describe la utilización de glutamato deshidrogenasa para la regeneración de NADH. En este caso se utilizan xerogeles conductores a base de pentóxido de vanadio y sílice para encapsular a la enzima. La encapsulación de la enzima en este tipo de geles aumenta la eficacia de la regeneración. D02 reivindica un procedimiento para unir covalentemente una glutamato deshidrogenasa a una matriz de naturaleza polisacárida o a un poliuretano para evitar así la turbidez de las disoluciones que la contengan.

D03 y D04 describen procedimientos para elaborar electrodos que contengan glutamato deshidrogenasa para ser utilizados en la detección de metabolitos como el amoníaco (D03) o una sustancia sin especificar (D04). A la vista del estado de la técnica anterior, puede considerarse que la invención es nueva y tiene actividad inventiva. Tanto la forma de obtener la enzima, como el procedimiento de inmovilización y su uso en la regeneración de nucleótidos de adenina y como componente de biosensores son distintos de los descritos (D01-D04). Además, de los datos revelados en estos documentos no resultaría obvio para un experto en la materia llegar a desarrollar la invención tal y como se reivindica en la solicitud.