

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

División de Nuevas Creaciones

E. S. D.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-048157 - 00002-0000

Fecha: 2010-08-09 17:06:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 329 CTOINFORMACION Folios: 6

Ref: EXPEDIENTE N° 10-048157

Solicitud de Patente a nombre de

DANISCO US INC

En el asunto de la referencia me permito presentar un nuevo pliego de Reivindicaciones que comprende 38 Reivindicaciones de las que se explica lo siguiente:

- 1- Las Reivindicaciones 1 a 22 son nuevas Reivindicaciones que están dentro del objeto de la invención, sin que impliquen una ampliación del mismo.
- 2- Las Reivindicaciones 23 a 28 corresponden a las Reivindicaciones 1 a 6 tal como fueron presentadas.
- 3- Las Reivindicaciones 29 a 38 corresponden a las Reivindicaciones 12 a 21, tal como fueron presentas, con un ligero cambio en la redacción de las Reivindicaciones 30 a 32 originalmente presentadas.

Sobre estas Reivindicaciones debe efectuarse el examen de patentabilidad en el momento oportuno para ello.

Atentamente,

JERONIMO CASTILLO BONILLA
C.C. 79.462.057 Bogotá
T.P. 104167 C.S. Judicatura

REIVINDICACIONES

1. Un método de producir una laccasa, que comprende los pasos de:

(a) introducir en una célula hospedera una primera secuencia de ácido nucleico que incluye una secuencia señal conectada operacionalmente a una secuencia de ácido nucleico que codifica la laccasa, en donde la secuencia señal codifica el péptido señal de Celobiohidrolasa 1 o el péptido señal NSP24;

(b) expresar la primera secuencia de ácido nucleico;

(c) co-expresar una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una chaperona o una foldasa seleccionada del grupo conformado por *bip1*, *ero1*, *pdi1*, *tig1*, *prp1*, *ppi1*, *ppi2*, *prp3*, *prp4*, calnexina, y *lhs1*; y

(d) recolectar la laccasa segregada de la célula hospedera.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende además una secuencia enzimática entre la secuencia señal y la secuencia de laccasa.

3. El método de la reivindicación 2, en donde la secuencia enzimática se obtiene de una glucoamilasa o de una enzima CBH1.

4. El método de la reivindicación 2 ó 3, en donde la secuencia enzimática incluye una secuencia enzimática de longitud completa.

5. El método de acuerdo con la reivindicación 2 ó 3, en donde la secuencia enzimática comprende una secuencia de dominio de núcleo catalítico.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 5, en donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende además una secuencia conectora entre la secuencia de dominio de núcleo catalítico y la secuencia de laccasa.

7. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la citada laccasa se deriva de un hongo filamentoso o levadura.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la citada laccasa se deriva de *Aspergillus*, *Neurospora*, *Podospora*, *Botrytis*, *Collybia*, *Cerrena*, *Stachybotrys*, *Panus*, *Thielavia*, *Fomes*, *Lentinus*, *Pleurotus*, *Trametes*, *Rhizoctonia*, *Coprinus*, *Psathyrella*, *Myceliophthora*, *Schytalidium*, *Phlebia*, *Coriolus*, *Spongipellis*, *Polyporus*, *Ceriporiopsis subvermispore*, *Ganoderma tsunodae*, o *Trichoderma*.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la citada laccasa se deriva de *Cerrena laccasa* A1, R3, B1, B2, B3, C, D1, D2 o E.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la citada laccasa se deriva de la proteína madura de *Cerrena laccasa* D de SEQ ID NO:45.
12. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde la célula hospedera es una célula de un hongo filamentoso.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la célula hospedera es una célula ascomycetes.
14. El método de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el hospedero es una célula *Trichoderma*.
15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende además un promotor corriente arriba de la secuencia señal.
16. El método de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el promotor es nativo a la célula hospedera y no está asociado naturalmente con la secuencia de laccasa.

17. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-16, en donde la chaperona es B1P1.

18. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-17, en donde la segunda secuencia de ácido nucleico se conecta operacionalmente a un promotor.

19. El método de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el promotor es nativo a la célula hospedera y no está asociado naturalmente con la segunda secuencia de ácido nucleico.

20. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2-19, en donde la laccasa se produce como una proteína de fusión con la enzima.

21. Una laccasa producida por el método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-20.

22. Una composición que contiene la laccasa de la reivindicación 21.

23. Un método para producir una proteína deseada, que comprende los pasos de:

(a) introducir en una célula hospedera una primera secuencia de ácido nucleico que incluye una secuencia señal conectada operacionalmente a una secuencia de proteína deseada;

(b) expresar la primera secuencia de ácido nucleico:

(c) co-expresar una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica una chaperona o una foldasa seleccionada del grupo conformado por *bip1*, *ero1*, *pdi1*, *tig1*, *prp1*, *ppi1*, *ppi2*, *prp3*, *prp4*, calnexina, y *lhs1*; y

(d) recolectar la proteína deseada segregada de la célula hospedera.

24. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende además una secuencia enzimática entre la secuencia señal y la secuencia de proteína deseada.
25. El método de acuerdo con la reivindicación 24, en donde la secuencia enzimática se obtiene de una glucoamilasa o de una enzima CBH1.
26. El método de acuerdo con la reivindicación 24, en donde la secuencia enzimática incluye una secuencia de cadena completa.
27. El método de acuerdo con la reivindicación 24 en donde la secuencia enzimática comprende una secuencia de dominio de núcleo catalítico.
28. El método de acuerdo con la reivindicación 27, en donde la primera secuencia de ácido nucleico comprende además una secuencia conectora entre la secuencia de dominio de núcleo catalítico y la secuencia de proteína deseada.
29. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la secuencia señal codifica el péptido señal de Celobiohidrolasa I o el péptido señal NSP24.
30. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la célula hospedera es una célula de hongo filamentoso.
31. El método de acuerdo con la reivindicación 30, en donde la célula hospedera es una célula ascomycetes.
32. El método de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el hospedero es una célula *Trichoderma*.
33. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la primera secuencia de ácido nucleico incluye además un promotor corriente arriba de una secuencia señal.

34. El método de acuerdo con la reivindicación 33, en donde el promotor es nativo a la célula hospedera y no está asociado naturalmente con la secuencia de proteína deseada.
35. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la chaperona es BIP1.
36. El método de acuerdo con la reivindicación 23, en donde la segunda secuencia de ácido nucleico está conecta operacionalmente a un promotor.
37. El método de acuerdo con la reivindicación 36, en donde el promotor es nativo a la célula hospedera y no está asociado naturalmente con la segunda secuencia de ácido nucleico.
38. El método de acuerdo con la reivindicación 24, en donde la proteína deseada se produce como una proteína de fusión con la enzima.