



No. 12-041581- -00000-0000

Fecha: 2012-03-09 13:01:41

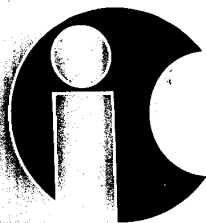
Tra. 11 PATENTEIYII

Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASOR

Eve: 379 FASENACIONALII

Folios: 17



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO

METODO PARA PRODUCIR OSTRAS TETRAPLOIDES VIABLES

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

A01K 61/00

71. SOLICITANTE

SEAEVER CO., LTD.

DOMICILIO

CHUNGHEONGNAM 325-892, Republica de Corea

74. APODERADO

LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON

22. BOGOTÁ, D.C.,

09 MAR. 2012

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-041581- -00000-0000

Fecha: 2012-03-09 13:01:41
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Eve: 379 FASENACIONALII
Folios: 17

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

1

SOLICITUD DE:

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Capitulo I

☒

Capitulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: SEAEVER CO., LTD.

Dirección: 72-470, Dodun-ri, Seo-myeon,
Seocheon-gun

Nacionalidad o domicilio: Chungcheongnam-do
325-892, Republica de
Corea

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE

Dirección: Carrera 13 No. 37-43 Piso 12

Teléfono: 285 74 60 Fax: 285 92 67
E-mail info@castillograu.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ OTRO ☐

Cual _____

Número 79.397.879 de TP 68.995 del
Bogotá C.S.J.

4

INVENTOR(ES)
(72)

Nombre: JEONG, Seung Hoon

Dirección #401, West Wing, I-Park Samseong-dong, 87, Samseong-dong

Nacionalidad o Domicilio: Gangnam-gu, Seoul 135-871, Republica de Corea

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/KR2010/005169

Fecha: 06/08/2010

Publicación Internacional No. WO 2011/019166 A2

Fecha: 17/02/2011

6

Título (54) MÉTODO PARA PRODUCIR OSTRAS TETRAPLOIDES VIABLES

7

Clasificación Internacional (51) A01K 61/00

8

Prioridad

Si

☒

No

☐

(33) País de origen

COREA

(32) Fecha

14.08.2009 -
05.08.2010

(31) Número de Solicitud

10-2009-0075404 -
10-2010-0075514

9

Comprobante de pago N°:

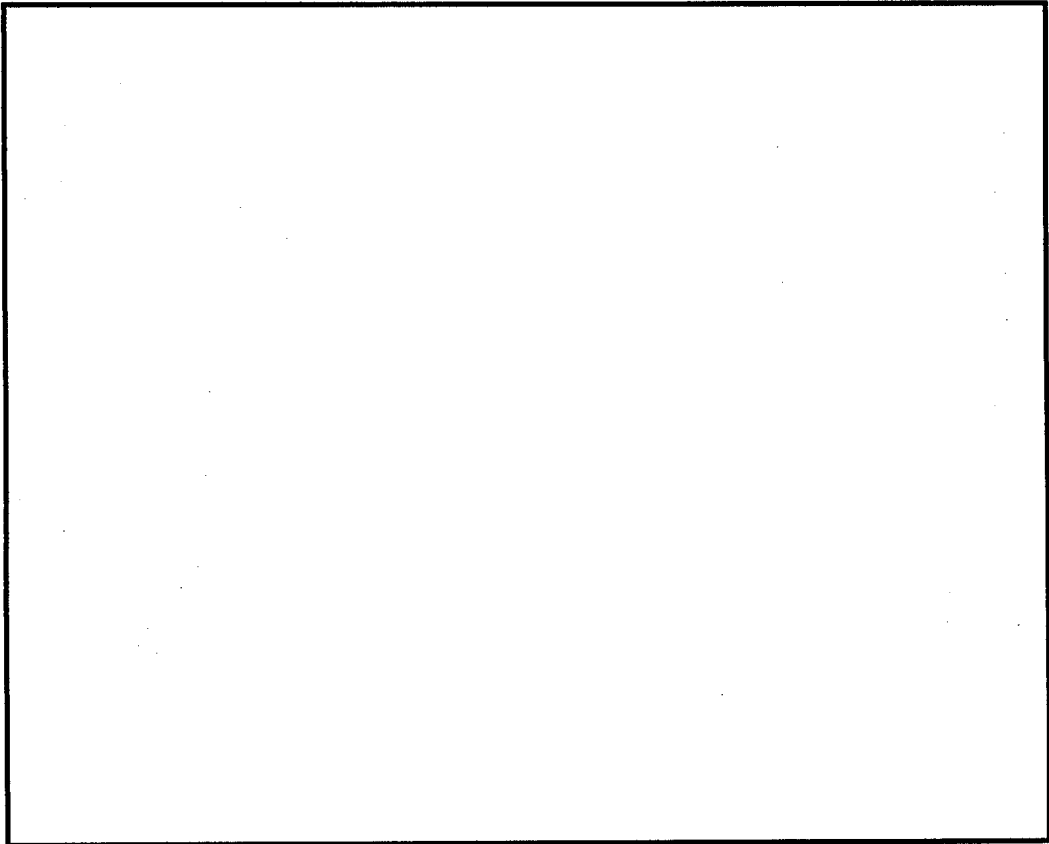
Fecha:

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

ANEXOS

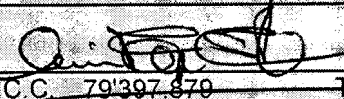
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Certificado de existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Documento de Cesión del inventor al solicitante o a su acusante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud Internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito de material biológico.
- ☐ Arte final 12 x 12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ Otros

11 FIGURA CARACTERISTICA



12 Solicito la concesión de patente,

NOMBRE: LUIS FELIPE CASTILLO GIBSON

FIRMA: 

C.C. 79'397.870 T.P. 68.995
de Bogotá del C.S.J.

MÉTODO PARA PRODUCIR OSTRAS TETRAPLOIDES VIABLES

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

5 Las modalidades de la presente invención se relacionan con un método para producir ostras tetraploides viables con alta eficiencia.

Descripción del estado de la técnica relacionado

La mayoría de los animales que se reproducen sexualmente tiene dos juegos de cromosomas que se conocen como diploides. La meiosis es un proceso por el cual el
10 número de cromosomas se divide en dos con el fin de impedir que el número de cromosomas se duplique en cada generación siguiente. Este proceso tiene dos etapas a través de las cuales una célula diploide se convierte en cuatro células haploides, cada una de las cuales tiene un juego de cromosomas. Una o las cuatro células haploides al madurar pueden convertirse en un óvulo o espermatozoide funcional que recibe el nombre
15 de gameto.

Las ostras tetraploides son importantes para alcanzar diversos propósitos que incluyen triploidia, hibridización y otros programas de cría. Se sabe que las ostras poseen ciertas ventajas comerciales de un mejor sabor y mayor velocidad de crecimiento que las ostras diploides normales durante un periodo de reproducción normal de las ostras
20 diploides. En la actualidad se han producido ostras triploides a partir de ostras diploides normales usando una técnica particular de modificación del juego de cromosomas en el cual la meiosis en un oocito se modifica de tal manera que los segundos cuerpos polares se retienen en el oocito, en lugar de expulsarse de este durante la segunda fase de la meiosis.

25 La citocalasina B (CB) y la 6-dimetilaminopurina (DMAP) son compuestos de los que se sabe que previenen que los primeros cuerpos polares (PB1) sean expulsados de una célula durante la meiosis en un huevo fertilizado.

No obstante, no hay un método conocido para producir ostras tetraploides usando una combinación de citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) incluso por la
30 técnica arriba mencionada.

RESUMEN DE LA INVENCION

De acuerdo con lo anterior, uno de los objetivos de la presente invención es proporcionar un método para producir ostras tetraploides viables con alta eficiencia.

Para alcanzar el objetivo antedicho, de acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un método para producir ostras tetraploides viables que incluye las etapas de:

- 5 fertilizar huevos de ostras hembras triploides con espermatozoides de ostras machos diploides; impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados; y producir ostras tetraploides viables mediante el cultivo de los huevos fertilizados, que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos
- 10 fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP).

- El método incluye la etapa de fertilizar huevos de ostras triploides con espermatozoides de ostras machos diploides. Las ostras hembras triploides están disponibles en el comercio (Allen, Jr., S.K. (1988); Oceanus 31, 58-63). Las ostras triploides se pueden producir a partir de ostras diploides usando una técnica particular de
- 15 modificación del juego de cromosomas en la cual la meiosis en un oocito se modifica de tal manera que los segundos cuerpos polares se retienen en el oocito, en lugar de ser expulsados del oocito, durante la segunda fase de la meiosis. Las ostras triploides se pueden examinar para verificar su ploidia usando citometría de flujo antes del desove. Los huevos de las ostras triploides se pueden recolectar haciendo una incisión en las ostras
 - 20 hembras triploides (desove desnudo). Los huevos recolectados se pueden limpiar con agua de mar y retenerlos en un tamiz adecuado como un tamiz de a 25 μ m. Las ostras triploides que se usan en una modalidad de la presente invención se pueden acondicionar poniéndolas en ambientes de alta temperatura y ricos en nutrientes. Este acondicionamiento de preferencia se inicia en una fase inicial de gametogénesis
 - 25 inmediatamente después de la latencia invernal.

- A continuación, los huevos son fertilizados con espermatozoides obtenidos de ostras machos diploides normales. Los espermatozoides que se emplean para la fertilización pueden incluir cerca de 10 o más células espermáticas por huevo. La fertilización se puede llevar a cabo de acuerdo con cualquier método conocido del estado
- 30 de la técnica, como, por ejemplo, poniendo los huevos y los espermatozoides en contacto en agua de mar.

El método incluye la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados. Esta etapa puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP).

La puesta en contacto se puede llevar a cabo en un intervalo de tiempo de 30% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares. Además, la puesta en contacto se puede llevar a cabo durante 5 a 15 minutos después de la fertilización de los huevos.

La etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) al mismo tiempo. Además, la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) de forma secuencial. Por ejemplo, la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP). Por ejemplo, la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) en un intervalo de tiempo de 30% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares, y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP) en un intervalo de tiempo de 50% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares. Más específicamente, la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) durante 5 a 15 minutos después de la fertilización de los huevos, y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP) durante 8,3 a 15 minutos después de la fertilización de los huevos.

Además, la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir añadir los huevos fertilizados a citocalasina B (CB) en una concentración de 0,25 a 1,0 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) en una concentración de 0,25 a 1,0 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO). Por ejemplo,

la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados puede incluir añadir los huevos fertilizados a citocalasina B (CB) en una concentración de 0,25 a 0,75 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) en una concentración de 0,25 a 0,75 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO).

5 El método además incluye la etapa de producir ostras tetraploides viables mediante el cultivo de los huevos fertilizados.

El cultivo se puede llevar a cabo de acuerdo con cualquier método de cultivo de huevos fertilizados conocido del estado de la técnica. Por ejemplo, el cultivo se puede llevar a cabo en condiciones de temperatura de 18°C a 30°C, de preferencia 23°C a 28°C.

10 Además, el cultivo se puede llevar a cabo en condiciones de salinidad de 17 ppt a 33 ppt, de preferencia cerca de 20 ppt a 22 ppt.

En el método, las ostras empleadas pueden pertenecer al genus *crassostrea*. Las ostras del genus *crassostrea* pueden seleccionarse de entre un grupo compuesto por *crassostrea gigas*, *crassostrea sikamai*, *crassostrea revularis* y *crassostrea virginica*.

15 Además, las ostras empleadas pueden pertenecer al genus *pinctada*. Por ejemplo, las ostras pueden ser *pinctada margaritifera*.

De acuerdo con el método de la presente invención, es posible producir ostras tetraploides que se pueden cultivar y madurar en ambientes naturales en los cuales se crían normalmente las ostras diploides normales, y producir ostras triploides por medio de cruces entre las ostras tetraploides y las ostras diploides.

20 De acuerdo con una modalidad de la presente invención, es posible producir ostras tetraploides a partir de ostras triploides y ostras diploides con alta eficiencia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA MODALIDAD PREFERIDA

A continuación se describirá en detalle una modalidad preferida de la presente invención. No obstante, debe entenderse que esta modalidad se da para explicar el espíritu de la presente invención de forma ilustrativa, no restrictiva.

Esta modalidad emplea ostras triploides del Pacífico en su segundo año que se produjeron impidiendo la expulsión de los segundos cuerpos polares (PB2). Las ostras triploides fueron examinadas individualmente mediante citometría de flujo antes de ser desovadas. Sus gametos se recolectaron por medio de desove desnudo. Los huevos se pasaron por un tamiz de 85 µm para remover grandes fragmentos de tejido y se limpiaron

sobre un tamiz de 25 μ m. La fertilización y el proceso se llevaron a cabo en agua de mar a 25°C a 28°C pasada por un tamiz de 2 μ m. La salinidad del agua de mar empleada en esta modalidad estaba cerca de 20 ppt a 22 ppt.

5 Los huevos derivados de las ostras triploides fueron fertilizados por espermatozoides haploides derivados de ostras diploides. Los huevos fertilizados se clasificaron en un grupo de control, grupos de comparación y grupos experimentales.

Los huevos fertilizados del grupo de control se cultivaron sin ser tratados con sustancias químicas. Los huevos fertilizados de los grupos de comparación 1 y 2 se trataron con citocalasina B (CB) para prevenir la eyección de los primeros cuerpos polares. 10 La CB se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) y a los huevos fertilizados se les añadieron 0,25 mg/L con DMSO al 0,5% (grupo de comparación 1) y 0,5 mg/L con DMSO al 0,5% (grupo de comparación 2) a sus concentraciones finales. Los huevos fertilizados de los grupos de comparación 3 y 4 se trataron con 6-dimetilaminopurina (DMAP) para prevenir la eyección de los primeros cuerpos polares. La DMAP se disolvió en DMSO y a los 15 huevos fertilizados se les añadieron 0,25 mg/L con DMSO al 0,5% (grupo de comparación 3) y 0,5 mg/L con DMSO al 0,5% (grupo de comparación 4) a sus concentraciones finales.

Los huevos fertilizados de grupos experimentales 1 y 2 se trataron con CB y DMAP para prevenir la eyección de los primeros cuerpos polares. La CB y la DMAP se disolvieron en DMSO y a los huevos fertilizados se les añadieron 0,25 mg CB/L con 20 DMSO al 0,5% y 0,25 mg DMAP/L (grupo experimental 1) y 0,5 mg CB/L con DMSO al 0,5% y 0,5 mg DMAP/L (grupo experimental 2) a sus concentraciones finales.

En el grupo de control, los grupos de comparación 1 y 2 y los grupos experimentales 1 y 2, los tratamientos tuvieron una duración de 15 minutos comenzando cinco minutos después de la fertilización. Después de los tratamientos, los huevos 25 fertilizados se limpiaron con agua de mar-DMSO 1% y se cultivaron con una densidad de 65 huevos/mL.

Los huevos fertilizados del grupo experimental 3 se trataron con CB y DMAP para prevenir la eyección de los primeros cuerpos polares. La CB y la DMAP se disolvieron en DMSO y a los huevos fertilizados se les añadieron 0,25 mg CB/L con DMSO al 0,5% a su 30 concentración final y se trataron comenzando cinco minutos después de la fertilización. Tras un lapso de 10 minutos después de la fertilización, a los huevos fertilizados se les

añadieron 0,25 mg DMAP/L a su concentración final y se trataron continuamente durante 15 minutos después de la fertilización (grupo experimental 3).

Los huevos fertilizados del grupo experimental 4 se trataron con CB y DMAP para prevenir la eyección de los primeros cuerpos polares. La CB y la DMAP se disolvieron en DMSO y a los huevos fertilizados se les añadieron 0,5 mg CB/L con DMSO al 0,5% a su concentración final y se trataron comenzando cinco minutos después de la fertilización.

Tras un lapso de 10 minutos después de la fertilización, a los huevos fertilizados se les añadieron 0,5 mg DMAP/L a su concentración final y se trataron continuamente durante 15 minutos después de la fertilización (grupo experimental 4). En los grupos

experimentales 3 y 4, después de los tratamientos, los huevos fertilizados se limpiaron con agua de mar-DMSO 1% y se cultivaron con una densidad de 65 huevos/mL.

[Tabla 1]

Grupo	Huevos usados (x1000)	División (%)	Tasa de supervivencia a un día (%)	Tasa de supervivencia a 7 días (%)	Tasa de supervivencia a 35 días (%)
Grupo de control 1	100	85,4	22,8	5,7	0,003
Grupo de comparación 1	100	83,5	6,4	3,1	0,073
Grupo de comparación 2	150	82,7	6,0	2,8	0,065
Grupo de comparación 3	100	80,5	8,5	4,0	0,085
Grupo de comparación 4	150	79,6	9,5	4,5	0,092
Grupo experimental 1	100	90,5	50,5	30,5	0,51
Grupo experimental 2	150	92,5	51,5	31,5	0,62
Grupo experimental 3	180	95,5	55,0	34,0	0,80
Grupo experimental 4	190	96,5	54,5	33,5	0,89

En la Tabla 1, los porcentajes de división se determinaron a los 90 a 120 minutos después de la fertilización. Las tasas de supervivencia de los embriones divididos se registraron en (las huevas) tras un lapso de un día, 7 días y 35 días después de la fertilización. Como se muestra en la Tabla 1, los grupos experimentales 1 a 4 tienen porcentajes de división y tasa de supervivencia a 35 días después de la fertilización notablemente más altos. En la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados se podrían producir larvas usando la combinación de CB y DMAP.

Además, la composición de la ploidia de las larvas sobrevivientes se determinó en la fecha del muestreo de las larvas usando citometría de flujo. Se midieron el peso y el número de cromosomas de ostras sobrevivientes recolectadas tras un lapso de 3 meses después de la fertilización. Para propósitos del análisis cromosómico, las ostras sobrevivientes recolectadas se sometieron a tratamiento con colchicina (0,005%) con alimentación intensiva durante 12 horas. El peso de las ostras se midió con los órganos

internos de las ostras separados de las conchas. A continuación, los cuerpos completos de las ostras se cortaron e inmovilizaron en una mezcla de ácido acético/metanol (1:3). Se vertió una cantidad moderada de muestras inmovilizadas sobre una lámina portaobjetos y se secó al aire. La lámina portaobjetos se sometió a tinción de Leishman. Se

5 contabilizaron por lo menos 10 células en metafase que no mostraban signos de pérdida de cromosomas para cada ostra. Solamente las ostras cuyo número de cromosomas se determinó se usaron para el análisis cromosómico. Las ostras que tenían 20, 30 y 40 cromosomas se denominaron diploides, triploides y tetraploides, respectivamente. La

10 Tabla 2 muestra los resultados de la medición del peso y el número de cromosomas de 50 ostras derivadas de los grupos experimentales tras un lapso de 3 meses después de la fertilización. En los resultados de medición solamente se incluyen datos de las ostras cuyo número de cromosomas se contabilizó con claridad y los datos de las ostras que no tenían células en metafase cuantificables se excluyen del análisis cromosómico.

[Tabla 2]

Ploide	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3		Experimento 4	
	Númer o (%)	Peso (mg)	Númer o (%)	Peso (mg)	Númer o (%)	Peso (mg)	Númer o (%)	Peso (mg)
Diploide	1 (2,0)	60	1 (2,1)	60	1 (2,0)	66	1 (2,0)	63
Triploide	1 (2,0)	90	1 (2,1)	100	1 (2,0)	99	1 (2,0)	91
Tetraploide	39 (79,6)	300	38 (79,2)	312	38 (79,6)	320	39 (78,0)	323
Heteroploide	7 (14,2)	180	7 (14,6)	185	6 (14,2)	190	7 (14,0)	192
Mosaico	1 (2,0)	62	1 (2,1)	65	1 (2,0)	67	2 (4,1)	68
Total	49 (100)	268,8	48 (100)	287,8	49 (100)	273,2	50 (100)	284,6

Como se muestra en la Tabla 2, las ostras tetraploides estaban ocupadas en un porcentaje de 78% a 79,6% con ostras de tamaño de 1 a 4 cm tras un lapso de 3 meses después de la fertilización.

Como se puede ver en los resultados de esta modalidad, las ostras tetraploides pudieron ser producidas con alta eficiencia usando una combinación de CB y DMAP en la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados.

Las ostras tetraploides producidas podrían criarse en las mismas condiciones de cría que las ostras diploides naturales. Además, podrían producirse ostras triploides cruzando las ostras tetraploides con ostras diploides. Así mismo, la cría en-y-en entre las ostras tetraploides producidas podría dar lugar a diferentes tipos de ostras tetraploides.

Aunque la presente invención ha sido demostrada y descrita de forma particular haciendo referencia a modalidades ejemplares de la misma, la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente entenderá que se pueden hacer varios cambios a la forma y detalles de la misma sin apartarse del espíritu y el alcance de la presente invención. Las modalidades ejemplares se dan con el propósito de ilustrar la invención, no en un sentido limitante. Así pues, la presente invención tiene por objeto cubrir las modificaciones y variaciones de la presente invención siempre y cuando caigan dentro del alcance de las reivindicaciones anexas y sus equivalentes.

LO QUE SE REIVINDICA ES:

1. Un método para producir ostras tetraploides viables, que comprende las etapas de:

5 fertilizar huevos de ostras hembras triploides con espermatozoides de ostras machos diploides;

impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados; y

producir ostras tetraploides viables mediante el cultivo de los huevos fertilizados,

10 que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP).

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la
15 etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) al mismo tiempo.

3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la
20 etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) de forma secuencial.

4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la
25 etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP).

5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la
30 etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB)

en un intervalo de tiempo de 30% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares, y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP) en un intervalo de tiempo de 50% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares.

6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) durante 5 a 15 minutos después de la fertilización de los huevos, y luego poner en contacto los huevos fertilizados con 6-dimetilaminopurina (DMAP) durante 8,3 a 15 minutos después de la fertilización de los huevos.

7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye añadir los huevos fertilizados a citocalasina B (CB) en una concentración de 0,25 a 1,0 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) en una concentración de 0,25 a 1,0 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO).

8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye añadir los huevos fertilizados a citocalasina B (CB) en una concentración de 0,25 a 0,75 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO) y 6-dimetilaminopurina (DMAP) en una concentración de 0,25 a 0,75 ppm en dimetilsulfóxido (DMSO).

9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la puesta en contacto se lleva a cabo en un intervalo de tiempo de 30% a 90% del tiempo durante el cual los huevos fertilizados eyectan los primeros cuerpos polares.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la puesta en contacto se lleva a cabo durante 5 a 15 minutos después de la fertilización

de los huevos.

11. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el cultivo se lleva a cabo en condiciones de temperatura de 18°C a 30°C y salinidad de 17 ppt a 33 ppt.
- 5

RESUMEN DE LA REVELACIÓN

Un ejemplo detallado de la presente invención proporciona un método para producir eficientemente ostras tetraploides usando una combinación de citocalasina B
5 (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP).

	EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN ☒ Patente de Invención ☐ Patente modelo de utilidad ☐ PCT	
(21) No. De solicitud	(51) int. Cl: A01K 61/00	
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) SEAEVER CO., LTD.	
(30) Prioridad (31) No. Prioridad 10-2009-0075404 - 10-2010-0075514 (32) Fecha: 14.08.2009 - 05.08.2010	(72) Interventor (es) JEONG, Seung Hoon	
(33) Pais COREA	(74) Apoderado (s) LUIS FELIPE CASTILLO GIBSONE	
(54) Título MÉTODO PARA PRODUCIR OSTRAS TETRAPLOIDES VIABLES		
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT		
(85) Fecha límite inicio Fase Nacional	(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud Fecha 06/08/2010 No. de solicitud PCT PCT/KR2010/005169	Fecha 17/02/2011 No. Publicación WO 2011/019166 A2	
Resumen reivindicación (es): 1. Un método para producir ostras tetraploides viables, que comprende las etapas de: fertilizar huevos de ostras hembras triploides con espermatozoides de ostras machos diploides; impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados; y producir ostras tetraploides viables mediante el cultivo de los huevos fertilizados, que se caracteriza porque la etapa de impedir que los primeros cuerpos polares sean expulsados de los huevos fertilizados incluye poner en contacto los huevos fertilizados con citocalasina B (CB) y 6-dimetilaminopurina (DMAP).		

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

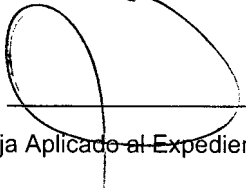
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 0022963
		Bogotá D.C., Marzo 05 de 2012 - 14:09:32

RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA. NI 800.098.704

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	468303743	05/03/2012	6.000.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	590.000.00	590.000.00
			\$590.000.00
=====			

SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
**
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-041581- -00000-0000

Fecha: 2012-03-09 13:01:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 17

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Marzo 5 de 2012 - 14:09:37



No. 12-041581- -00000-0000

Fecha: 2012-03-09 13:01:41 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 411 PRESENTACION Folios: 17

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE - NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐