

Señora Directora

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia: Expediente No. NC2017/0005171
Asunto: Solicitud de patente para: CONSERVANTE DE HENO Y MÉTODOS
PARA LA CONSERVACIÓN DE HENO
Solicitante: DANSTAR FERMENT AG
Fecha de solicitud: 24 de mayo de 2017

RESPUESTA A SEGUNDO EXAMEN DE PATENTABILIDAD

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio No. 14673, notificado por fijación en lista el 07 de diciembre de 2018, estando en el plazo establecido para esto toda vez que solicité prórroga el 18 de febrero de 2019.

I. MODIFICACIONES AL CAPÍTULO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad aportó un Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 15 reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

- Se eliminaron las antiguas Reivindicaciones 2 y 11.
- Las Reivindicaciones 1 y 9 (antigua Reivindicación 10) fueron modificadas para delimitar que *“la al menos una enzima aislada tiene una actividad quitinasa en el rango de 6 U a 100 U por tonelada de heno a tratar”*, de acuerdo con las enseñanzas de la página 8 (Párrafo [0039]) del Capítulo Descriptivo.
- Se delimitaron las Reivindicaciones 1 y 9 (antigua Reivindicación 10) de acuerdo con las enseñanzas de la página 8 (Párrafo [0038]) del Capítulo Descriptivo a fin de indicar que *“la cantidad efectiva de una levadura aislada del género Pichia o una*

bacteria aislada del género Pediococcus es de 10^5 a 10^{15} organismos viables de la levadura aislada o de la bacteria aislada por tonelada de heno (...)".

- Las reivindicaciones correspondientes, así como sus relaciones de dependencia, fueron reenumeradas de acuerdo con los cambios anteriormente mencionados.

Me permito resaltar que estas modificaciones se ajustan completamente a lo establecido por el Artículo 34 de la Decisión 486 de 2000, ya que no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

II. EN CUANTO A LA CLARIDAD Y CONCISIÓN

En primer lugar, considero como superada la objeción referente a las antiguas Reivindicaciones 2 y 11, toda vez que las mismas han sido eliminadas del Capítulo Reivindicatorio modificado adjunto, tal y como lo indiqué en el numeral I del presente memorial.

Adicionalmente, en vista de las modificaciones anteriormente realizadas, considero como superadas las objeciones respecto de la expresión "*una cantidad efectiva de (...)*", presente en las Reivindicaciones 1, 6, 7 y 9; toda vez que como lo señalé en el numeral I del presente memorial, dicha cantidad efectiva ha sido definida de acuerdo a las enseñanzas del Capítulo Descriptivo.

Igualmente, amablemente solicito al Examinador tener como superadas las objeciones referentes al rango de actividad quitinasa de la enzima aislada, teniendo en cuenta que la misma ha sido delimitada a una generalización razonable del concepto inventivo de la presente solicitud, como lo indiqué en el numeral I del presente memorial.

III. ESTADO DE LA TÉCNICA

El Examinador indica que los siguientes documentos son relevantes para la patentabilidad del Capítulo Reivindicatorio de la presente solicitud:

No.	Documento	Título	Fecha de Publicación
D4	WO9210945	<i>"Formulation for treating silage"</i>	09 de julio de 1992
D2	Art. 2	<i>"Characterization of a chitinase with antifungal activity from a native Serratia marcescens B4A"</i>	Septiembre, 2011
D3	US4820531	<i>"Bacterial treatment to preserve hay quality by addition of microorganisms of the genus Bacillus"</i>	11 de abril de 1989

IV. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

El Examinador indica que el conservante de heno divulgado en la Reivindicación 1 se podría obtener de manera obvia combinando las enseñanzas de D2 y D4. Particularmente, el Examinador argumenta que una persona normalmente versada en la materia se vería motivada a incluir una enzima glucósido hidrolasa aislada con actividad quitinasa, como se describe en D2, en la formulación divulgada en D4, llegando así al objeto de la Reivindicación 1 de la solicitud de manera obvia.

Adicionalmente, el Examinador afirma que el método reclamado en la Reivindicación 9 carecería de altura inventiva en vista de las enseñanzas de los documentos D2 y D3. Respecto de lo anterior, el Examinador sustenta que una persona normalmente versada en la materia se vería motivada a incluir una enzima glucósido hidrolasa aislada con actividad quitinasa, tal como la descrita en el documento D2, en el método divulgado en D3, para llegar así al objeto de la Reivindicación 9 de la presente solicitud. Por último, el Examinador señala que la mezcla de heno de la Reivindicación 15 carece de altura inventiva en vista de las enseñanzas de D4 y D2.

En cuanto a lo anterior, deseo poner de presente que D2 versa sobre la actividad antifúngica de una enzima quitinasa proveniente de *Serratia marcescens* B4A nativa. Respecto de lo anterior, señalo que si bien D2 menciona que *"el control biológico de patógenos en plantas proporciona un medio alternativo atractivo para el manejo de enfermedades en plantas sin el impacto negativo de los fungicidas químicos"* (D2, página 1018, col. der., primer párrafo) y además indica que gracias a la capacidad de lisis enzimática de las paredes celulares de los hongos, las quitinasas son empleadas agentes

de control biológico (ver D2, página 1018, columna izquierda, segundo párrafo, segunda oración); D2 no hace ninguna mención directa o indirecta al concepto de un conservante de heno o a posibles aplicaciones de las enzimas quitinasas relacionadas con la preservación del heno que permitan prevenir y/o reducir el daño por calor en heno de alta humedad almacenado.

Por otro lado, D3 divulga un conservante de heno que comprende *Bacillus pumilus*, así como ciertas enzimas de hongos o bacterias (D3, col. 5, líneas 5-10). Particularmente, D3 describe un conservante de heno que comprende *Bacillus pumilus*, así como otros organismos seleccionados del grupo *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Pediococcus*, y enzimas derivadas de hongos o bacterias (D3, Reivindicación 7). Sin embargo, D3 no hace ninguna referencia a un conservante de heno que comprende levaduras, en particular levaduras del género *Pichia*.

En cuanto a D4, señalo que dicha solicitud internacional describe una formulación para estabilizar el ensilaje y mejorar su valor nutritivo y digestibilidad. Dicha formulación comprende al menos una enzima que tiene la capacidad de degradar los polisacáridos no celulósicos (D4, página 3, líneas 3 a 4) y un microorganismo seleccionado por su capacidad para convertir pentosanos en ácido láctico sin degradar la proteína, a un pH 4 - 6.5 (D4, Resumen). Sin embargo, dicho documento no brinda aspectos técnicos respecto de cómo reducir o prevenir el daño al heno por un aumento del calor.

Adicionalmente, D4 establece que los géneros adecuados de microorganismos para alcanzar los fines arriba mencionados son *Pediococcus* y *Lactobacillus* (D4, página 5, líneas 25-35) y las enzimas seleccionadas comprenden al menos β -1,4-xilanasas y β -1,3-xilosidasas, en donde la formulación está sustancialmente libre de β -1,4-glucanasa y β -1,4-celobiohidrolasa (D4, página 3, líneas 3-4). Las enzimas adicionales que pueden agregarse a la formulación allí divulgada se enumeran en la Tabla 1 a continuación (D4, página 4), en donde ninguna de las enzimas listadas tiene actividad quitinasa. Asimismo, D4 no hace ninguna referencia a emplear una levadura del género *Pichia* (o una bacteria aislada del género *Pediococcus*) en una cantidad de 10^5 a 10^{15} organismos viables por tonelada de heno.

Table 1

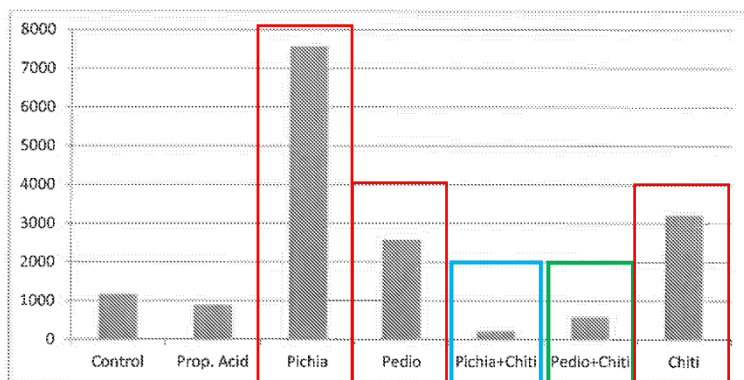
Enzyme	EC No.
β -1,4-xylanase	3.2.1.8
β -1,3-xylosidase	3.2.1.72
β -1,4-xylosidase	3.2.1.37
xylan endo-1,3 β -xylosidase	3.2.1.32
α -L-arabinofuranosidase	3.2.1.55
β -1,3-arabinosidase	3.2.1.88
α -galactosidase	3.2.1.23
β -1,4-galactosidase	3.2.1.89
β -glucuronidase	3.2.1.32
α -amylase	3.2.1.1
polygalacturonase	3.2.1.15
pectin esterase	3.1.1.11
pectin lyase	4.2.2.10

La presente invención se distingue de D4 en virtud de la combinación de al menos una enzima aislada que tiene una actividad quitinasa y una levadura aislada del género *Pichia*. En particular, las características diferenciales de la presente invención permiten la prevención y/o reducción del daño por calor en el heno de alta humedad almacenado.

Por el contrario, la presente invención presenta evidencia experimental contundente sobre el hecho de que el conservante de heno que comprende la combinación específica de una enzima aislada que tiene 6 U a 100 U de quitinasa por tonelada de heno a tratar y de 10^5 a 10^{15} de bacterias viables del género *Pediococcus* o levaduras aisladas del género *Pichia* de acuerdo con la Reivindicación 1 mostró sorprendentemente un efecto sinérgico en la reducción del calor en el ensilaje.

Esta sinergia obtenida con el conservante de heno según la presente invención se muestra en la Figura 4 de la solicitud tal como se presenta a continuación en donde los rectángulos rojos muestran la capacidad de reducción de calor de cada componente por separado y los rectángulos verde y azul evidencian la capacidad de reducción de calor de la combinación de las enzimas con actividad quitinasa y células asiladas de los géneros *Pichia* (rectángulo azul) y *Pediococcus* (rectángulo verde) según la invención.

FIGURE 4



Por el contrario, ni D4 ni D2 sugieren ni anticipan que una combinación de acuerdo con la Reivindicación 1 de esta solicitud brinde un efecto sinérgico en la reducción del calor del heno de alta humedad en el ensilaje. Por el contrario, cualquiera de las combinaciones arriba mencionadas que comprenda las concentraciones previamente definidas, permite alcanzar el efecto técnico que de la presente invención, resaltando que la materia allí reclamada está sustentada por un concepto inventivo común. En vista de lo anterior, señalo que limitar el alcance de la solicitud a una de las combinaciones divulgadas, permitiría que terceros impunemente hagan uso del concepto inventivo de la presente solicitud.

Adicionalmente, deseo resaltar que una característica nueva e inventiva común a las combinaciones aquí divulgadas consiste en la combinación de microorganismos en título tal que la producción de compuestos ácidos limiten la proliferación de organismos promotores de la degradación del heno, junto con una concentración de enzima quitinasa específica que permita la obtención de un efecto sinérgico sobre la reducción del calor del heno de alta humedad durante su almacenamiento.

El Párrafo [0070] de la presente solicitud sustenta lo anteriormente mencionado y establece que la combinación de enzimas que tienen una actividad quitinasa con *Pichia anomala* o *Pediococcus pentosaceus* redujo la temperatura interior de las pacas de heno, de los números de bacterias totales en comparación con el control.

Por lo tanto, señalo que definir las concentraciones de enzima que tienen unidades de actividad de quitinasa así como las concentraciones de bacterias viables del género *Pediococcus* o levaduras del género *Pichia* que proporcionan el efecto técnico buscado

conduciría a una carga experimental indebida para una persona normalmente versada en la materia y no se podría inferir a partir de experimentos rutinarios para obtener la invención reivindicada. De esta manera, considero pertinente reconocer que para elucidar la invención aquí discutida es necesario llevar a cabo un esfuerzo experimental significativo que conlleva una actividad inventiva.

Como se mencionó anteriormente, ni D2, D3 o D4 describen una levadura aislada del género *Pichia*. Por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no habría sido motivada a combinar 10^5 a 10^{15} organismos viables aislados del género *Pichia* o *Pediococcus* con al menos una enzima aislada que tenga actividad quitinasa en el rango de aproximadamente 6 U a 100 U por tonelada de heno a tratar. En consecuencia, el objeto de la Reivindicación 1 implica un paso inventivo en vista de los documentos citados.

Asimismo, deseo resaltar que la enzima que tiene actividad quitinasa no hidroliza los polisacáridos no celulósicos de la planta para liberar azúcar y obtener una producción rápida de ácido láctico como se describe, enseña y sugiere en D4. Por esta razón, ante el problema técnico, una persona normalmente versada en la materia no consideraría D4 como una formulación para proporcionar un conservante de heno alternativo que previene y/o reduce el daño por calor en heno de alta humedad almacenado al reducir la proliferación de microorganismos indeseables.

No obstante, incluso si una persona normalmente versada en la materia considerara las enseñanzas de D4, las enseñanzas que dicho documento establece muestran que la combinación de al menos dos enzimas, β -1,4-xilanasas y β -1,3-xilosidasas que tienen la capacidad de degradar polisacáridos no celulósicos (D4, página 3, líneas 2-7) y un microorganismo seleccionado de *Pediococcus* y *Lactobacillus* (D4, página 5, líneas 33-34) podrían usarse para preparar el material que se ensila, de manera que el material se haya ensilado tenga mayor estabilidad, digestibilidad y valor nutritivo (D4, página 3, línea 7-10).

Sin embargo, D4 no describe, enseña o sugiere el uso de una enzima, una formulación o un método que reduzca la proliferación de microorganismos o sea relevante respecto de evitar y reducir el daño causado por calor en el heno de alta humedad.

Además, es bien sabido que las enzimas son catalizadores altamente específicos, que catalizan solo un único tipo de reacción; en particular, se agrupan en clases funcionales que realizan reacciones químicas similares (ver Anexo 1, subsección "*Las enzimas son catalizadores potentes y altamente específicos*" y la Tabla 3-1).

Así las cosas, a partir de las enseñanzas de D4 y de la Tabla 1 en el Anexo 1, una persona normalmente versada en la materia habría buscado una enzima **que tenga la capacidad de degradar los polisacáridos no celulósicos** que pertenecen a las siguientes clases funcionales: xilanasas, xilasas, arabinofuranosidasas, arabinosidasas, galactosidasas, glucuronidasas, amilasas, galacturonasas, esterases y liasas. Por esta razón, a partir de las enseñanzas de D4 la persona normalmente versada en la materia no se vería motivada a incluir un enzima quitinasa en la formulación de D4 dado que una enzima con tal tipo de actividad no se menciona en la lista de enzimas adecuadas descritas explícitamente en D4, y menos aún su rango específico.

En vista de lo anterior, deseo llamar la atención del Examinador sobre el hecho de que las enzimas que pertenecen a la clase funcional de quitinasa son enzimas hidrolíticas que descomponen los enlaces glicosídicos en la quitina.

(Consulte el Anexo 2: sitio web de Wikipedia, <https://en.wikipedia.org/wiki/Chitinase> [última vez que se accedió el 3 de abril de 2019])

Dado que la enzima quitinasa tiene una actividad específica como la descrita anteriormente que no está asociada a la hidrólisis de los polisacáridos no celulósicos estructurales de la planta, el Examinador debe reconocer que una persona normalmente versada en la materia no tendría ninguna motivación para buscar específicamente al menos una enzima que tenga una actividad quitinasa con base en las enseñanzas de D4.

En vista de lo anterior señalo que una persona normalmente versada en la materia no llegaría a un conservante de heno como el divulgado en la presente invención dentro del alcance de la Reivindicación 1 en su alternativa *Pediococcus* o *Pichia*. Y por tanto se debe reconocer que la materia reclamada en la Reivindicación 1 es, por lo tanto, inventiva sobre D4.

Por consiguiente, señalo que a partir de la enseñanza de D4 como se describe anteriormente, una persona normalmente versada en la materia no consultaría D2, dado que dicho documento solo revela que se aisló una quitinasa nativa con actividad antifúngica contra un amplio rango de fitopatógenos de *Serratia marcescens* B4A. D2 no describe una enzima que tenga la capacidad de degradar polisacáridos no celulósicos de una planta como se describe, explica o sugiere en D4. Por lo tanto, una persona normalmente versada en la materia no recurriría a D2 en un intento por mejorar la formulación de D4 y no tendría ninguna motivación para combinar D4 y D2.

Por lo tanto, señalo que D4 y D2 se ocupan de propósitos completamente diferentes, y señalo que no hay ninguna indicación en D4 o D2 que se ocupe de proporcionar un conservante de heno capaz de prevenir y/o reducir el daño por calor en heno almacenado de alta humedad.

Por lo tanto, asumir que una persona normalmente versada en la materia hubiera recurrido a D2 corresponde a una conclusión de un análisis en retrospectiva de los hechos.

No obstante, incluso si una persona normalmente versada en la materia incorporara de alguna manera las enseñanzas de D2 en D4, nunca hubiera logrado la invención reivindicada, ya que D2 no hace ninguna referencia a las concentraciones específicas de enzima con actividad de quitinasa que deben usarse.

Además, deseo llamar la atención del Examinador sobre el hecho de que el conservante de heno que comprende la combinación específica de aproximadamente 6 U a 100 U de al menos una enzima aislada que tiene unidades de actividad de quitinasa y de 10⁵ a 10¹⁵ de organismos viables de los género *Pediococcus* o *Pichia* de acuerdo con la Reivindicación 1; combinaciones que mostraron sorprendentemente un efecto sinérgico en la reducción del calor reduciendo en el ensilaje, como se mencionó anteriormente.

Por las mismas razones arriba mencionadas, una persona normalmente versada en la materia que enfrenta el problema técnico similar al abordado por la presente invención no tendría ninguna motivación para consultar D3 en vista de las enseñanzas de D4.

Particularmente, D3 describe un método para preservar la calidad del heno, a través de la inhibición del crecimiento de microorganismos en descomposición y reducción de calor durante el almacenamiento (D3, columna 8, reivindicaciones 1 y 9). D3 no describe un método que comprenda una enzima que tenga la capacidad de degradar polisacáridos no celulósicos de una planta como se describe, explica o sugiere en D4. De esta manera, D3 y D4, por lo tanto, se ocupan de propósitos completamente diferentes y una persona versada en la materia no recurriría a D3 para intentar mejorar el método descrito en D4, así como tampoco tendría ninguna motivación para combinar D3 y D4.

V. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE UNIDAD DE INVENCIÓN

En cuanto a la objeción referente a una supuesta falta de unidad de invención, deseo recalcar que los argumentos detallados en el numeral IV de este memorial, evidencian que las combinaciones divulgadas tienen un concepto inventivo común, además de características técnicas nuevas e inventivas compartidas, lo cual resalta que el objeto de la solicitud tiene nivel inventivo respecto del arte previo citado, cumpliendo así con dicho requisito. En consecuencia, no hay una razón sólida para objetar una supuesta falta de unidad de invención de la presente solicitud *a posteriori*, como lo establece el Examinador. Con base en lo anterior, considero como superada dicha objeción, toda vez que el uso de microorganismos aislados del género *Pediococcus spp.* o *Pichia spp.* en un conservante de heno de acuerdo a la presente invención, alcanzaría el efecto técnico central del concepto inventivo de esta solicitud, es decir, que el efecto sorprendente de conservación de heno y reducción de la temperatura del mismo, será alcanzado indistintamente ya sea que se emplee una cantidad efectiva de un microorganismo aislado de *Pediococcus spp.* o *Pichia spp.* en conjunto con una cantidad efectiva de al menos una enzima con actividad quitinasa.

VI. PETICIÓN

1. Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, solicito proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.

2. De manera subsidiaria, y en caso de que su Despacho considere que la modificación introducida al Capítulo Reivindicatorio amerita revisión adicional, solicito un tercer examen de patentabilidad de conformidad con lo dispuesto en el Artículo 2 de la Resolución 3719 de 02 de febrero de 2016, para lo cual realizo el pago de tasa correspondiente.

VII. ANEXOS

1. Capítulo Reivindicatorio modificado conformado por 15 reivindicaciones.
2. Anexo 1.
3. Anexo 2
4. Recibo de pago en línea por concepto de examen de patentabilidad adicional.

Señora Directora,

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un conservante de heno caracterizado por que comprende una cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de al menos una enzima aislada que tiene una actividad quitinasa en combinación con una cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de una levadura aislada del género *Pichia* o una bacteria aislada del género *Pediococcus*

en donde la cantidad efectiva de la al menos una enzima aislada tiene una actividad quitinasa en el rango de 6 U a 100 U por tonelada de heno a tratar;

en donde la cantidad efectiva de una levadura aislada del género *Pichia* o una bacteria aislada del género *Pediococcus* es de 10^5 a 10^{15} organismos viables de la levadura aislada o de la bacteria aislada por tonelada de heno.

2. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1, en donde la levadura aislada del género *Pichia* es de una *Pichia anomala* sp.

3. El conservante de heno de conformidad con cualquiera de la Reivindicación 1 a 2, en donde la levadura aislada del género *Pichia* es de una *Pichia anomala* sp que tiene todas las características de identificación de la cepa de aislada *Pichia anomala* que tiene el número de acceso DBVPG 3003.

4. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1, en donde la bacteria aislada del género *Pediococcus* es de un *Pediococcus pentosaceus* sp.

5. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1 o 4, en donde la bacteria aislada del género *Pediococcus* es *Pediococcus pentosaceus* sp que tiene todas las características de identificación de *Pediococcus pentosaceus* BTC328 aislada que tiene el número de acceso NCIMB 12674 o la cepa BTC401 que tiene el número de acceso NCIMB

12675.

6. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1, en donde la al menos una enzima aislada que tiene una actividad quitinasa se encuentra en combinación con cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de *Pichia anomala* sp aislada.

7. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1, en donde la al menos una enzima aislada que tiene una actividad quitinasa se encuentra en combinación con una cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de *Pediococcus pentosaceus* sp aislada.

8. El conservante de heno de conformidad con la Reivindicación 1 a 7, caracterizado además por que comprende al menos una enzima aislada que tiene una actividad pectin liasa, una actividad glucanasa o una mezcla de las mismas.

9. Un método para tratar heno para evitar y/o reducir el daño por calor en heno de alta humedad así como para conservar el mismo, el método caracterizado por que comprende

i) proporcionar un conservante de heno que comprende una cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de al menos una enzima aislada que tiene una actividad quitinasa en combinación con una cantidad efectiva para la conservación de heno y reducción de calor, de una levadura aislada del género *Pichia* o una bacteria aislada del género *Pediococcus*,

en donde la cantidad efectiva de la al menos una enzima aislada tiene una actividad quitinasa en el rango de 6 U a 100 U por tonelada de heno a tratar;

en donde la cantidad efectiva de una levadura aislada del género *Pichia* o una bacteria aislada del género *Pediococcus* es de 10^5 a 10^{15} organismos viables de la

levadura aislada o de la bacteria aislada por tonelada de heno.

ii) adicionar al heno el conservante de heno.

10. El método de conformidad con la Reivindicación 9, en donde la levadura aislada del género *Pichia* es de la especie *Pichia anomala*.

11. El método de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 9 a 10, en donde la levadura aislada del género *Pichia* es de la especie *Pichia anomala* que tiene todas las características de identificación de la cepa aislada *Pichia anomala* que tiene el número de acceso DBVPG 3003.

12. El método de conformidad con la Reivindicación 9, en donde la bacteria aislada del género *Pediococcus* es la especie *Pediococcus pentosaceus*.

13. El método de conformidad con la Reivindicación 9 o 12, en donde la bacteria aislada del género *Pediococcus* es de la especie *Pediococcus pentosaceus* que tiene todas las características de identificación de *Pediococcus pentosaceus* BTC328 aislada que tiene el número de acceso NCIMB 12674 o la cepa BTC401 que tiene el número de acceso NCIMB 12675.

14. El método de conformidad con las Reivindicaciones 9 a 13, caracterizado además por que adicionalmente comprende al menos una enzima aislada que tiene una actividad pectin liasa, una actividad glucanasa o una mezcla de las mismas.

15. Una mezcla de heno y conservante de heno, en donde el conservante de heno está definido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8.

Molecular Biology of **THE CELL**

Fifth Edition



ALBERTS JOHNSON LEWIS RAFF ROBERTS WALTER

Garland Science

Vice President: Denise Schanck
Assistant Editor: Sigrid Masson
Production Editor and Layout: Emma Jeffcock
Senior Publisher: Jackie Harbor
Illustrator: Nigel Orme
Designer: Matthew McClements, Blink Studio, Ltd.
Editors: Marjorie Anderson and Sherry Granum
Copy Editor: Bruce Goatly
Indexer: Merrall-Ross International, Ltd.
Permissions Coordinator: Mary Dispenza

Cell Biology Interactive

Artistic and Scientific Direction: Peter Walter
Narrated by: Julie Theriot
Production Design and Development: Michael Morales

© 2008, 2002 by Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff,
Keith Roberts, and Peter Walter.
© 1983, 1989, 1994 by Bruce Alberts, Dennis Bray, Julian Lewis, Martin Raff,
Keith Roberts, and James D. Watson.

Bruce Alberts received his Ph.D. from Harvard University and is Professor of Biochemistry and Biophysics at the University of California, San Francisco. For 12 years, he served as President of the U.S. National Academy of Sciences (1993–2005). **Alexander Johnson** received his Ph.D. from Harvard University and is Professor of Microbiology and Immunology and Director of the Biochemistry, Cell Biology, Genetics, and Developmental Biology Graduate Program at the University of California, San Francisco. **Julian Lewis** received his D.Phil. from the University of Oxford and is a Principal Scientist at the London Research Institute of Cancer Research UK. **Martin Raff** received his M.D. from McGill University and is at the Medical Research Council Laboratory for Molecular Cell Biology and the Biology Department at University College London. **Keith Roberts** received his Ph.D. from the University of Cambridge and is Emeritus Fellow at the John Innes Centre, Norwich. **Peter Walter** received his Ph.D. from The Rockefeller University in New York and is Professor and Chairman of the Department of Biochemistry and Biophysics at the University of California, San Francisco, and an Investigator of the Howard Hughes Medical Institute.

This book contains information obtained from authentic and highly regarded sources. Reprinted material is quoted with permission, and sources are indicated. A wide variety of references are listed. Reasonable efforts have been made to publish reliable data and information, but the author and the publisher cannot assume responsibility for the validity of all materials or for the consequences of their use.

All rights reserved. No part of this book covered by the copyright hereon may be reproduced or used in any format in any form or by any means—graphic, electronic, or mechanical, including photocopying, recording, taping, or information storage and retrieval systems—without permission of the publisher.

Library of Congress Cataloging-in-Publication Data

Molecular biology of the cell / Bruce Alberts ... [et al.].-- 5th ed.
p. cm
ISBN 978-0-8153-4105-5 (hardcover)---ISBN 978-0-8153-4106-2 (paperback)
1. Cytology. 2. Molecular biology. I. Alberts, Bruce.
QH581.2 .M64 2008
571.6--dc22

2007005475 CIP

Published by Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, an informa business,
270 Madison Avenue, New York NY 10016, USA, and 2 Park Square, Milton Park,
Abingdon, OX14 4RN, UK.

Printed in the United States of America

15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2

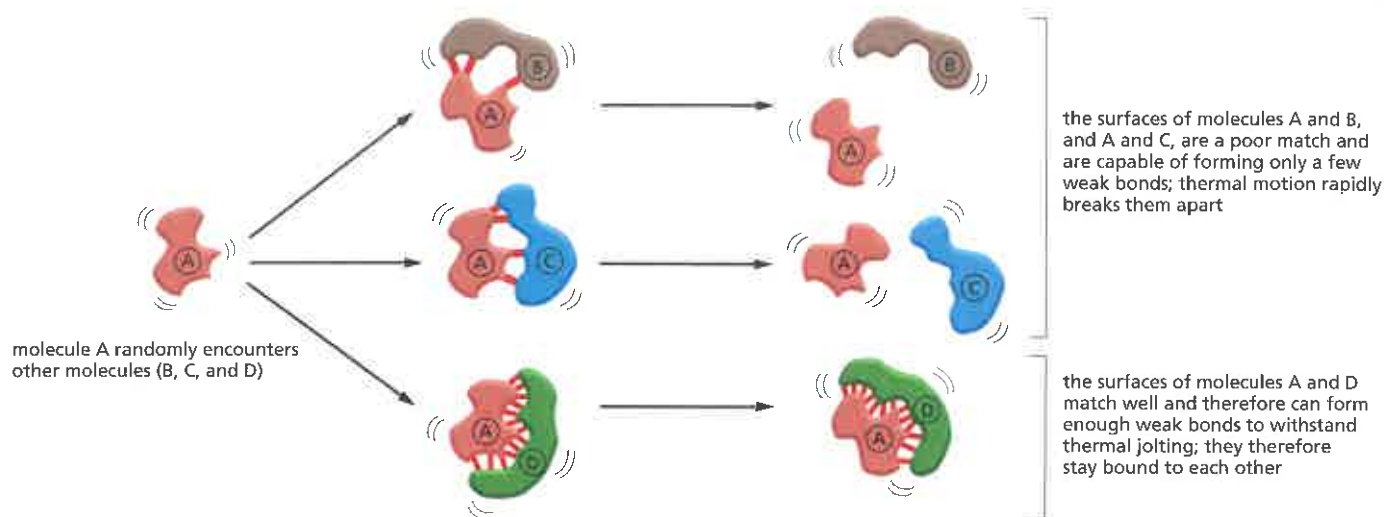


Figure 3-42 How noncovalent bonds mediate interactions between macromolecules.

between the bound and free states (Figure 3-43B and C). Even a change of a few noncovalent bonds can have a striking effect on a binding interaction, as shown by the example in **Figure 3-44**. (Note that the equilibrium constant, as defined here is also known as the association or affinity constant, K_a .)

We have used the case of an antibody binding to its ligand to illustrate the effect of binding strength on the equilibrium state, but the same principles apply to any molecule and its ligand. Many proteins are enzymes, which, as we now discuss, first bind to their ligands and then catalyze the breakage or formation of covalent bonds in these molecules.

Enzymes Are Powerful and Highly Specific Catalysts

Many proteins can perform their function simply by binding to another molecule. An actin molecule, for example, need only associate with other actin

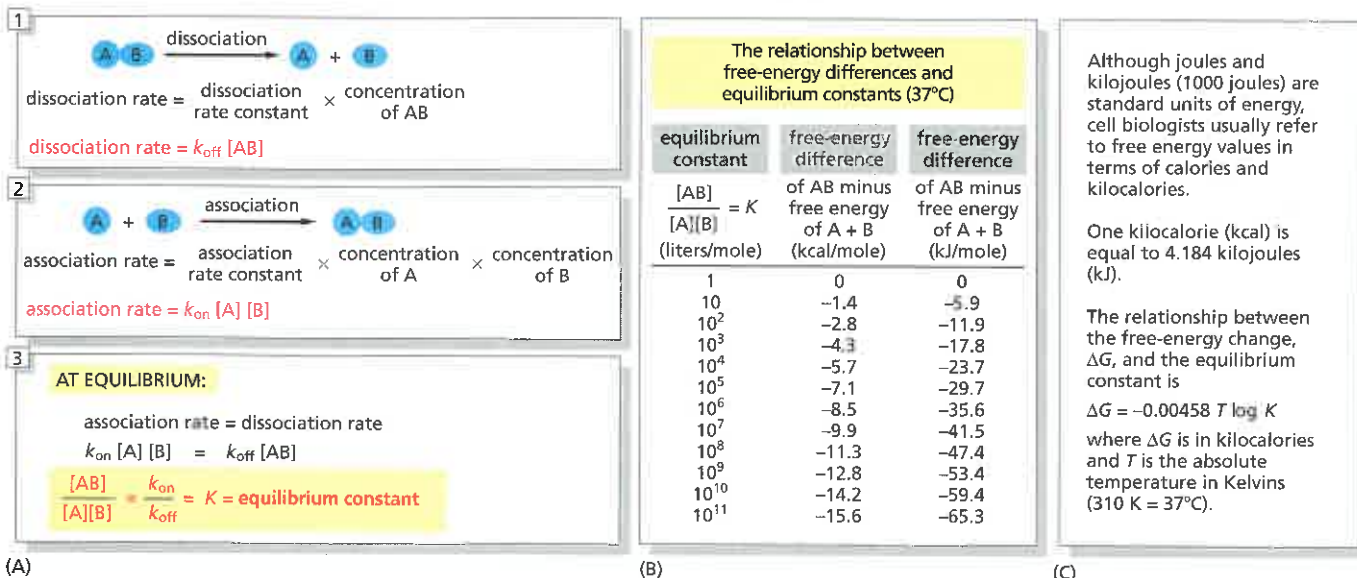


Figure 3-43 Relating binding energies to the equilibrium constant for an association reaction. (A) The equilibrium between molecules A and B and the complex AB is maintained by a balance between the two opposing reactions shown in panels 1 and 2. Molecules A and B must collide if they are to react, and the association rate is therefore proportional to the product of their individual concentrations $[\text{A}] \times [\text{B}]$. (Square brackets indicate concentration.) As shown in panel 3, the ratio of the rate constants for the association and the dissociation reactions is equal to the equilibrium constant (K) for the reaction. (B) The equilibrium constant in panel 3 is that for the reaction $\text{A} + \text{B} \rightleftharpoons \text{AB}$, and the larger its value, the stronger the binding between A and B. Note that for every 1.41 kcal/mole (5.91 kJ/mole) decrease in free energy the equilibrium constant increases by a factor of 10 at 37°C.

The equilibrium constant here has units of liters/mole; for simple binding interactions it is also called the *affinity constant* or *association constant*, denoted K_a . The reciprocal of K_a is called the *dissociation constant*, K_d (in units of moles/liter).

molecules to form a filament. There are other proteins, however, for which ligand binding is only a necessary first step in their function. This is the case for the large and very important class of proteins called **enzymes**. As described in Chapter 2, enzymes are remarkable molecules that determine all the chemical transformations that make and break covalent bonds in cells. They bind to one or more ligands, called **substrates**, and convert them into one or more chemically modified **products**, doing this over and over again with amazing rapidity. Enzymes speed up reactions, often by a factor of a million or more, without themselves being changed—that is, they act as **catalysts** that permit cells to make or break covalent bonds in a controlled way. It is the catalysis of organized sets of chemical reactions by enzymes that creates and maintains the cell, making life possible.

We can group enzymes into functional classes that perform similar chemical reactions (Table 3–1). Each type of enzyme within such a class is highly specific, catalyzing only a single type of reaction. Thus, *hexokinase* adds a phosphate group to D-glucose but ignores its optical isomer L-glucose; the blood-clotting enzyme *thrombin* cuts one type of blood protein between a particular arginine and its adjacent glycine and nowhere else, and so on. As discussed in detail in Chapter 2, enzymes work in teams, with the product of one enzyme becoming the substrate for the next. The result is an elaborate network of metabolic pathways that provides the cell with energy and generates the many large and small molecules that the cell needs (see Figure 2–35).

Substrate Binding Is the First Step in Enzyme Catalysis

For a protein that catalyzes a chemical reaction (an enzyme), the binding of each substrate molecule to the protein is an essential prelude. In the simplest case, if we denote the enzyme by E, the substrate by S, and the product by P, the basic reaction path is $E + S \rightarrow ES \rightarrow EP \rightarrow E + P$. From this reaction path, we see that there is a limit to the amount of substrate that a single enzyme molecule can process in a given time. An increase in the concentration of substrate also increases the rate at which product is formed, up to a maximum value (Figure 3–45). At that point the enzyme molecule is saturated with substrate, and the rate of reaction (V_{max}) depends only on how rapidly the enzyme can process the substrate molecule. This maximum rate divided by the enzyme concentration is

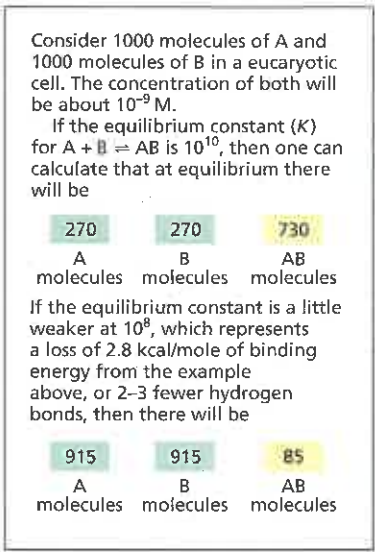
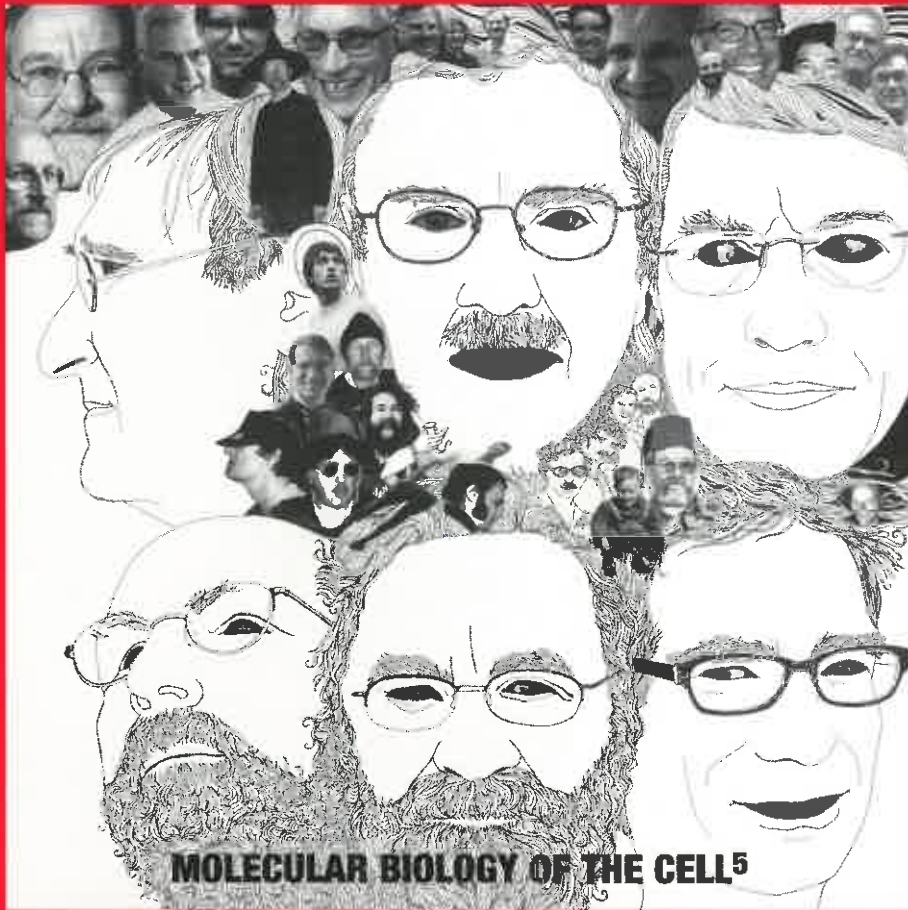


Figure 3–44 Small changes in the number of weak bonds can have drastic effects on a binding interaction. This example illustrates the dramatic effect of the presence or absence of a few weak noncovalent bonds in a biological context.

Table 3–1 Some Common Types of Enzymes

ENZYME	REACTION CATALYZED
Hydrolases	general term for enzymes that catalyze a hydrolytic cleavage reaction; <i>nucleases</i> and <i>proteases</i> are more specific names for subclasses of these enzymes.
Nucleases	break down nucleic acids by hydrolyzing bonds between nucleotides.
Proteases	break down proteins by hydrolyzing bonds between amino acids.
Synthases	synthesize molecules in anabolic reactions by condensing two smaller molecules together.
Isomerases	catalyze the rearrangement of bonds within a single molecule.
Polymerases	catalyze polymerization reactions such as the synthesis of DNA and RNA.
Kinases	catalyze the addition of phosphate groups to molecules. Protein kinases are an important group of kinases that attach phosphate groups to proteins.
Phosphatases	catalyze the hydrolytic removal of a phosphate group from a molecule.
Oxido-Reductases	general name for enzymes that catalyze reactions in which one molecule is oxidized while the other is reduced. Enzymes of this type are often more specifically named either <i>oxidases</i> , <i>reductases</i> , or <i>dehydrogenases</i> .
ATPases	hydrolyze ATP. Many proteins with a wide range of roles have an energy-harnessing ATPase activity as part of their function, for example, motor proteins such as <i>myosin</i> and membrane transport proteins such as the <i>sodium–potassium pump</i> .

Enzyme names typically end in “-ase,” with the exception of some enzymes, such as pepsin, trypsin, thrombin and lysozyme that were discovered and named before the convention became generally accepted at the end of the nineteenth century. The common name of an enzyme usually indicates the substrate and the nature of the reaction catalyzed. For example, citrate synthase catalyzes the synthesis of citrate by a reaction between acetyl CoA and oxaloacetate.



MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL⁵



Garland Science
Taylor & Francis Group

ISBN: 0-8153-4106-7



9 780815 341062



Media
DVD-ROM
inside

Chitinase

Chitinases (*chitodextrinase*, *1,4-beta-poly-N-acetylglucosaminidase*, *poly-beta-glucosaminidase*, *beta-1,4-poly-N-acetyl glucosaminidase*, *poly[1,4-(N-acetyl-beta-D-glucosaminide)] glycanohydrolase*, *(1->4)-2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucan glycanohydrolase*) are hydrolytic enzymes that break down glycosidic bonds in chitin.^[1]

As chitin is a component of the cell walls of fungi and exoskeletal elements of some animals (including worms and arthropods), chitinases are generally found in organisms that either need to reshape their own chitin^[2] or dissolve and digest the chitin of fungi or animals.

Contents

Species distribution

Classification

Function

Clinical significance

Regulation in fungi

Presence in food

Applications

See also

References

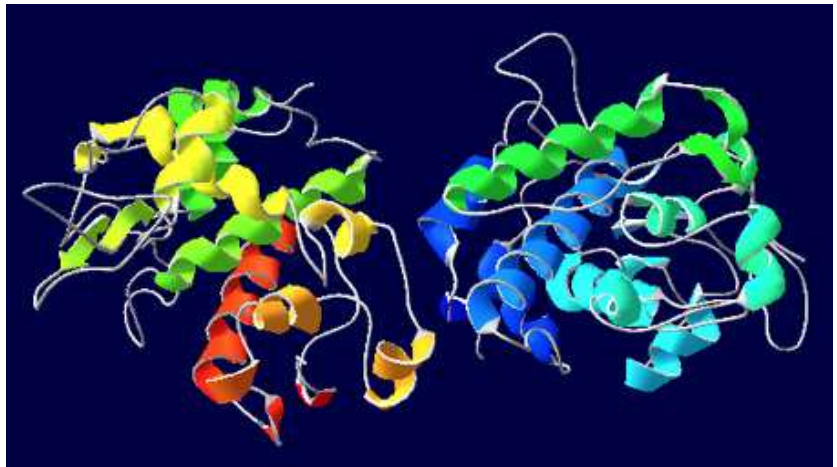
External links

Species distribution

Chitinivorous organisms include many bacteria^[3] (*Aeromonads*, *Bacillus*, *Vibrio*,^[4] among others), which may be pathogenic or detritivorous. They attack living arthropods, zooplankton or fungi or they may degrade the remains of these organisms.

Fungi, such as *Coccidioides immitis*, also possess degradative chitinases related to their role as detritivores and also to their potential as arthropod pathogens.

Chitinases are also present in plants (barley



Chitinase from barley seeds

Chitinase	
Identifiers	
EC number	3.2.1.14 (https://www.qmul.ac.uk/sbcs/iubmb/enzyme/EC3/2/1/14.html)
Databases	
IntEnz	IntEnz view (https://www.ebi.ac.uk/intenz/query?cmd=SearchEC&ec=3.2.1.14)
BRENDA	BRENDA entry (http://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.2.1.14)
ExPASy	NiceZyme view (http://www.expasy.org/enzyme/3.2.1.14)
KEGG	KEGG entry (https://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?enzyme+3.2.1.14)
MetaCyc	metabolic pathway (https://biocyc.org/META/substring-search?type=NIL&object=3.2.1.14)
PRIAM	profile (http://priam.prabi.fr/cgi-bin/PRIAM_profiles_CurrentRelease.pl?EC=3.2.1.14)
PDB structures	RCSB PDB (http://www.rcsb.org/pdb/search/smartSubquery.do?smartSearchSubtype=EnzymeClassificationQuery&Enzyme_Classification=3.2.1.14) PDBe (https://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/search/index?ec_number=3.2.1.14) PDBsum (https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/cgi-bin/enzymes/GetPage.pl?ec_number=3.2.1.14)
Search	
PMC	articles (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&term=3.2.1.14%5BEC/RN%20Number%5D%20AND%20pubmed%20pmc%20local%5Bsb%5D)
PubMed	articles (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&term=3.2.1.14%5BEC/RN%20Number%5D)

seed chitinase: PDB: 1CNS
(<https://www.rcsb.org/structure/1CNS>), EC 3.2.1.14
(<https://enzyme.expasy.org/EC/3.2.1.14>));

some of these are pathogenesis related (PR) proteins that are induced as part of systemic acquired resistance. Expression is mediated by the NPR1 gene and the salicylic acid pathway, both involved in resistance to fungal and insect attack. Other plant chitinases may be required for creating fungal symbioses.^[5]

Although mammals do not produce chitin, they have two functional chitinases, Chitotriosidase (CHIT1) and acidic mammalian chitinase (AMCase), as well as chitinase-like proteins (such as YKL-40) that have high sequence similarity but lack chitinase activity.^[6]

Classification

- Endochitinases (EC 3.2.1.14 (<https://enzyme.expasy.org/EC/3.2.1.14>)) randomly split chitin at internal sites of the chitin microfibril, forming soluble, low molecular mass multimer products. The multimer products includes di-acetylchitobiose, chitotriose, and chitotetraose, with the dimer being the predominant product.^[7]

NCBI proteins (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein?term=3.2.1.14%5BEC/RN%20Number%5D>)

chitinase, acidic

Identifiers

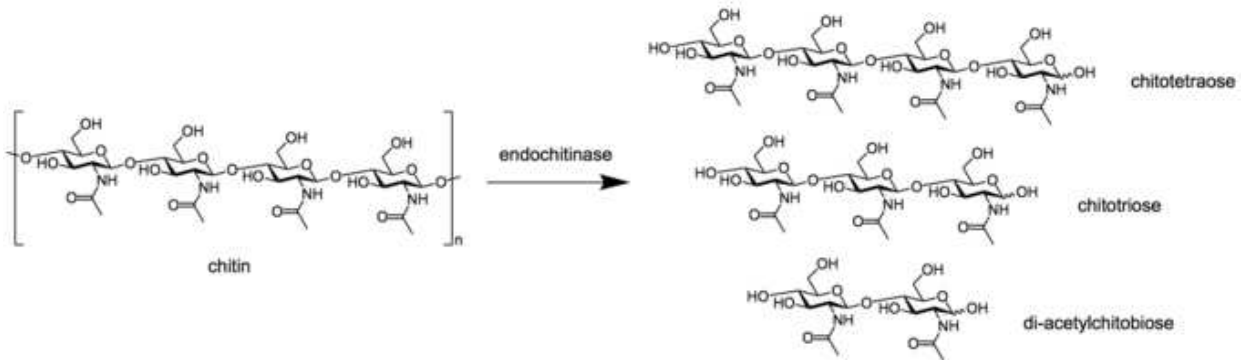
Symbol	CHIA
Entrez	27159 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=retrieve&dopt=default&list_uids=27159&rn=1)
HUGO	17432 (https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/HGNC:17432)
OMIM	606080 (http://www.omim.org/606080)
RefSeq	NM_001040623 (https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?Submit=Submit&position=NМ_001040623&rn=1)
UniProt	Q9BZP6 (https://www.uniprot.org/uniprot/Q9BZP6)
Other data	
Locus	Chr. 1 p13.1-21.3 (http://omim.org/search?index=geneMap&search=1p13.1-21.3)

chitinase 1 (chitotriosidase)

Identifiers

Symbol	CHIT1
Entrez	1118 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=retrieve&dopt=default&list_uids=1118&rn=1)
HUGO	1936 (https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/HGNC:1936)
OMIM	600031 (http://www.omim.org/600031)
RefSeq	NM_003465 (https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?Submit=Submit&position=NМ_003465&rn=1)

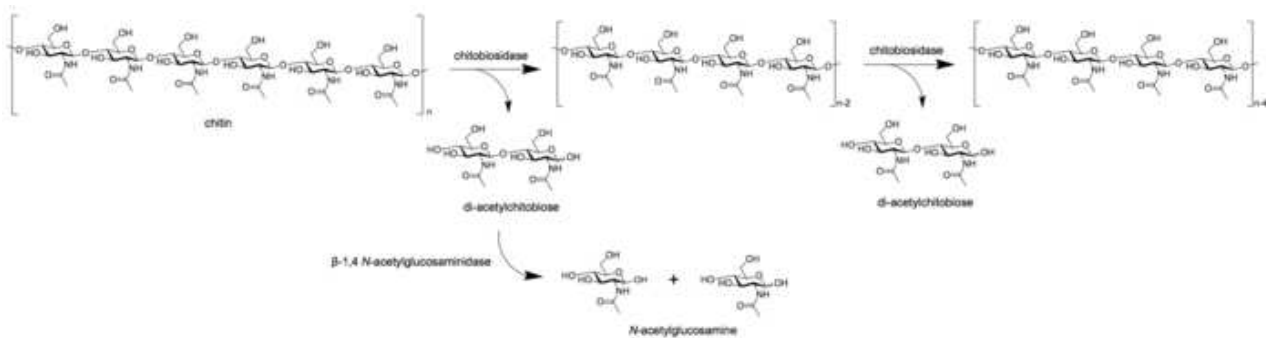
UniProt	Q13231 (https://www.uniprot.org/uniprot/Q13231)
Other data	
Locus	Chr. 1 q31-q32 (http://omim.org/search?index=geneMap&search=1q31)



Endochitinase breaking down chitin into multimer products.

2. Exochitinases have also been divided into two sub categories:

1. Chitobiosidases (EC 3.2.1.29 (<https://enzyme.expasy.org/EC/3.2.1.29>)) act on the non-reducing end of the chitin microfibril, releasing the dimer, di-acetylchitobiose, one by one from the chitin chain. Therefore, there is no release of monosaccharides or oligosaccharides in this reaction.^[8]
2. β -1,4- *N*-acetylglucosaminidases (EC 3.2.1.30 (<https://enzyme.expasy.org/EC/3.2.1.30>)) split the multimer products, such as di-acetylchitobiose, chitotriose, and chitotetraose, into monomers of *N*-acetylglucosamine (GlcNAc).^[7]



Exochitinase breaking down chitin into dimers via chitobiosidase and monomers via β -1,4 *N*-acetylglucosaminidase.

Chitinases were also classified based on the amino acid sequences, as that would be more helpful in understanding the evolutionary relationships of these enzymes to each other.^[9] Therefore, the chitinases were grouped into three families: 18, 19, and 20.^[10] Both families 18 and 19 consists of endochitinases from a variety of different organisms, including viruses, bacteria, fungi, insect, and plants. However, family 19 mainly comprises plant chitinases. Family 20 includes *N*-acetylglucosaminidase and a similar enzyme, *N*-acetylhexosaminidase.^[9]

And as the gene sequences of the chitinases were known, they were further classified into six classes based on their sequences. Characteristics that determined the classes of chitinases were the N-terminal sequence, localization of the enzyme, isoelectric pH, signal peptide, and inducers.^[9]

Class I chitinases had a cysteine-rich N-terminal, leucine- or valine-rich signal peptide, and vacuolar localization. And then, Class I chitinases were further subdivided based on their acidic or basic nature into Class Ia and Class Ib, respectively.^[11] Class 1 chitinases were found to comprise only plant chitinases and mostly endochitinases.

Class II chitinases did not have the cysteine-rich N-terminal but had a similar sequence to Class I chitinases. Class II chitinases were found in plants, fungi, and bacteria and mostly consisted of exochitinases.^[9]

Class III chitinases did not have similar sequences to chitinases in Class I or Class II.^[9]

Class IV chitinases had similar characteristics, including the immunological properties, as Class I chitinases.^[9] However, Class IV chitinases were significantly smaller in size compared to Class I chitinases.^[12]

Class V and Class VI chitinases are not well characterized. However, one example of a Class V chitinase showed two chitin binding domains in tandem, and based on the gene sequence, the cysteine-rich N-terminal seemed to have been lost during evolution, probably due to less selection pressure that caused the catalytic domain to lose its function.^[9]

Function

Like cellulose, chitin is an abundant biopolymer that is relatively resistant to degradation.^[13] It is typically not digested by animals, though certain fish are able to digest chitin.^[14] It is currently assumed that chitin digestion by animals requires bacterial symbionts and lengthy fermentations, similar to cellulase digestion by ruminants. Nevertheless, chitinases have been isolated from the stomachs of certain mammals, including humans.^[15]

Chitinase activity can also be detected in human blood^{[16][17][17]} and possibly cartilage.^[18] As in plant chitinases this may be related to pathogen resistance.^{[19][20]}

Clinical significance

Chitinases produced in the human body (known as "human chitinases") may be related in response to allergies, and asthma has been linked to enhanced chitinase expression levels.^{[21][22][23][24][25]}

Human chitinases may explain the link between some of the most common allergies (dust mites, mold spores—both of which contain chitin) and worm (helminth) infections, as part of one version of the hygiene hypothesis^{[26][27][28]} (worms have chitinous mouthparts to hold the intestinal wall). Finally, the link between chitinases and salicylic acid in plants is well established—but there is a hypothetical link between salicylic acid and allergies in humans.^[29]

Regulation in fungi

Regulation varies from species to species, and within an organism, chitinases with different physiological functions would be under different regulation mechanisms. For example, chitinases that are involved in maintenance, such as remodeling the cell wall, are constitutively expressed. However, chitinases that have specialized functions, such as degrading exogenous chitin or participating in cell division, need spatio-temporal regulation of the chitinase activity.^[30]

The regulation of an endochitinase in *Trichoderma atroviride* is dependent on a *N*-acetylglucosaminidase, and the data indicates a feedback-loop where the break down of chitin produces *N*-acetylglucosamine, which would be possibly taken up and triggers up-regulation of the chitinbiosidases.^[31]

In *Saccharomyces cerevisiae* and the regulation of ScCts1p (*S. cerevisiae* chitinase 1), one of the chitinases involved in cell separation after cytokinesis by degrading the chitin of the primary septum.^[32] As these types of chitinases are important in cell division, there must be tight regulation and activation. Specifically, *Cts1* expression has to be activated in daughter cells during late mitosis and the protein has to localize at the daughter site of the septum.^[33] And to do this, there must be coordination with other networks controlling the different phases of the cell, such as Cdc14 Early Anaphase Release (FEAR), mitotic exit network (MEN), and regulation of Ace2p (transcription factor) and cellular morphogenesis (RAM)^[34] signalling networks. Overall, the integration of the different regulatory networks allows for the cell wall degrading chitinase to function dependent on the cell's stage in the cell cycle and at specific locations among the daughter cells.^[30]

Presence in food

Chitinases occur naturally in many common foods. Bananas, chestnuts, kiwis, avocados, papaya, and tomatoes, for example, all contain significant levels of chitinase, as defense against fungal and invertebrate attack. Stress, or environmental signals like ethylene gas, may stimulate increased production of chitinase.

Some parts of chitinase molecules, almost identical in structure to hevein or other proteins in rubber latex due to their similar function in plant defense, may trigger an allergic cross-reaction known as latex-fruit syndrome.^[35]

Applications

Chitinases have a wealth of applications, some of which have already been realized by industry. This includes bio-conversion of chitin to useful products such as fertilizer, the production of non-allergenic, non-toxic, biocompatible, and biodegradable materials (contact lenses, artificial skin and sutures with these qualities are already being produced) and enhancement of insecticides and fungicides.^[36]

Possible future applications of chitinases are as food additives to increase shelf life, therapeutic agent for asthma and chronic rhinosinusitis, as an anti-fungal remedy, an anti-tumor drug and as a general ingredient to be used in protein engineering.^[36]

See also

- Chitin
- Ligninase

References

- Jollès P, Muzzarelli RA (1999). *Chitin and Chitinases*. Basel: Birkhäuser. ISBN 978-3-7643-5815-0.
- Sámi L, Pusztahelyi T, Emri T, Varecza Z, Fekete A, Grallert A, Karanyi Z, Kiss L, Pócsi I (August 2001). "Autolysis and aging of *Penicillium chrysogenum* cultures under carbon starvation: Chitinase production and antifungal effect of allosamidin". *The Journal of General and Applied Microbiology*. **47** (4): 201–211. doi:10.2323/jgam.47.201 (https://doi.org/10.2323%2Fjgam.47.201). PMID 12483620 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12483620).
- Xiao X, Yin X, Lin J, Sun L, You Z, Wang P, Wang F (December 2005). "Chitinase genes in lake sediments of Ardley Island, Antarctica" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1317360). *Applied and Environmental Microbiology*. **71** (12): 7904–9. doi:10.1128/AEM.71.12.7904-7909.2005 (https://doi.org/10.1128%2FAEM.71.12.7904-7909.2005). PMC 1317360 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1317360). PMID 16332766 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16332766).
- Hunt DE, Gevers D, Vahora NM, Polz MF (January 2008). "Conservation of the chitin utilization pathway in the *Vibrionaceae*" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2223224). *Applied and Environmental Microbiology*. **74** (1): 44–51. doi:10.1128/AEM.01412-07 (https://doi.org/10.1128%2FAEM.01412-07). PMC 2223224 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2223224). PMID 17933912 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17933912).
- Salzer P, Bonanomi A, Beyer K, Vögeli-Lange R, Aeschbacher RA, Lange J, Wiemken A, Kim D, Cook DR, Boller T (July 2000). "Differential expression of eight chitinase genes in *Medicago truncatula* roots during mycorrhiza formation, nodulation, and pathogen infection". *Molecular Plant-Microbe Interactions*. **13** (7): 763–77. doi:10.1094/MPMI.2000.13.7.763 (https://doi.org/10.1094%2FMPMI.2000.13.7.763). PMID 10875337 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10875337).
- Eurich K, Segawa M, Toei-Shimizu S, Mizoguchi E (November 2009). "Potential role of chitinase 3-like-1 in inflammation-associated carcinogenic changes of epithelial cells" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2776850). *World Journal of Gastroenterology*. **15** (42): 5249–59. doi:10.3748/wjg.15.5249 (https://doi.org/10.3748%2Fwjg.15.5249). PMC 2776850 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2776850). PMID 19908331 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19908331).
- Sahai AS, Manocha MS (1993-08-01). "Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host—parasite interaction". *FEMS Microbiology Reviews*. **11** (4): 317–338. doi:10.1111/j.1574-6976.1993.tb00004.x (https://doi.org/10.1111%2Fj.1574-6976.1993.tb00004.x).
- Harman GE (1993). "Chitinolytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*: Purification of Chitobiosidase and Endochitinase". *Phytopathology*. **83** (3): 313. doi:10.1094/phyto-83-313 (https://doi.org/10.1094%2Fphyto-83-313).
- Patil RS, Ghormade V, Deshpande MV (April 2000). "Chitinolytic enzymes: an exploration". *Enzyme and Microbial Technology*. **26** (7): 473–483. doi:10.1016/s0141-0229(00)00134-4 (https://doi.org/10.1016%2Fs0141-0229%2800%2900134-4).
- Henrissat B (December 1991). "A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1130547). *The Biochemical Journal*. 280 (Pt 2): 309–16. PMC 1130547 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1130547). PMID 1747104 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1747104).
- Flach J, Pilet PE, Jollès P (August 1992). "What's new in chitinase research?". *Experientia*. **48** (8): 701–716. doi:10.1007/BF02124285 (https://doi.org/10.1007%2FBF02124285).

12. Collinge DB, Kragh KM, Mikkelsen JD, Nielsen KK, Rasmussen U, Vad K (1993-01-01). "Plant chitinases". *The Plant Journal*. **3** (1): 31–40. doi:10.1046/j.1365-313x.1993.t01-1-00999.x (https://doi.org/10.1046%2Fj.1365-313x.1993.t01-1-00999.x).
13. Akaki C, Duke GE (2005). "Apparent chitin digestibilities in the Eastern screech owl (*Otus asio*) and the American kestrel (*Falco sparverius*)". *Journal of Experimental Zoology*. **283** (4–5): 387–393. doi:10.1002/(SICI)1097-010X(19990301/01)283:4/5<387::AID-JEZ8>3.0.CO;2-W (https://doi.org/10.1002%2F%28SICI%291097-010X%2819990301%2F01%29283%3A4%2F5%3C387%3A%3AAID-JEZ8%3E3.0.CO%3B2-W).
14. Gutowska MA, Drazen JC, Robison BH (November 2004). "Digestive chitinolytic activity in marine fishes of Monterey Bay, California". *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*. **139** (3): 351–8. CiteSeerX 10.1.1.318.6544 (https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/summary?doi=10.1.1.318.6544). doi:10.1016/j.cbpb.2004.09.020 (https://doi.org/10.1016%2Fj.cbpb.2004.09.020). PMID 15556391 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15556391).
15. Paoletti MG, Norberto L, Damini R, Musumeci S (2007). "Human gastric juice contains chitinase that can degrade chitin". *Annals of Nutrition & Metabolism*. **51** (3): 244–51. doi:10.1159/000104144 (https://doi.org/10.1159%2F000104144). PMID 17587796 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17587796).
16. Renkema GH, Boot RG, Muijsers AO, Donker-Koopman WE, Aerts JM (February 1995). "Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins". *The Journal of Biological Chemistry*. **270** (5): 2198–202. doi:10.1074/jbc.270.5.2198 (https://doi.org/10.1074%2Fjbc.270.5.2198). PMID 7836450 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7836450).
17. Escott GM, Adams DJ (December 1995). "Chitinase activity in human serum and leukocytes" (http://iai.asm.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=7591134). *Infection and Immunity*. **63** (12): 4770–3. PMC 173683 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC173683). PMID 7591134 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7591134).
18. Hakala BE, White C, Recklies AD (December 1993). "Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family". *The Journal of Biological Chemistry*. **268** (34): 25803–10. PMID 8245017 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8245017).
19. Recklies AD, White C, Ling H (July 2002). "The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 (HC-gp39) stimulates proliferation of human connective-tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signalling pathways" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1222662). *The Biochemical Journal*. **365** (Pt 1): 119–26. doi:10.1042/BJ20020075 (https://doi.org/10.1042%2FBJ20020075). PMC 1222662 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1222662). PMID 12071845 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12071845).
20. van Eijk M, van Roomen CP, Renkema GH, Bussink AP, Andrews L, Blommaert EF, Sugar A, Verhoeven AJ, Boot RG, Aerts JM (November 2005). "Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity". *International Immunology*. **17** (11): 1505–12. doi:10.1093/intimm/dxh328 (https://doi.org/10.1093%2Fintimm%2Fdxh328). PMID 16214810 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16214810).
21. Bierbaum S, Nickel R, Koch A, Lau S, Deichmann KA, Wahn U, Superti-Furga A, Heinzmann A (December 2005). "Polymorphisms and haplotypes of acid mammalian chitinase are associated with bronchial asthma" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2718453). *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. **172** (12): 1505–9. doi:10.1164/rccm.200506-890OC (https://doi.org/10.1164%2Frccm.200506-890OC). PMC 2718453 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2718453). PMID 16179638 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16179638).
22. Zhao J, Zhu H, Wong CH, Leung KY, Wong WS (July 2005). "Increased lungkine and chitinase levels in allergic airway inflammation: a proteomics approach". *Proteomics*. **5** (11): 2799–807. doi:10.1002/pmic.200401169 (https://doi.org/10.1002%2Fpmic.200401169). PMID 15996009 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15996009).
23. Elias JA, Homer RJ, Hamid Q, Lee CG (September 2005). "Chitinases and chitinase-like proteins in T(H)2 inflammation and asthma". *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **116** (3): 497–500. doi:10.1016/j.jaci.2005.06.028 (https://doi.org/10.1016%2Fj.jaci.2005.06.028). PMID 16159614 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16159614).
24. Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, Kim YK, Chen NY, Cohn L, Hamid Q, Elias JA (June 2004). "Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation". *Science*. **304** (5677): 1678–82. doi:10.1126/science.1095336 (https://doi.org/10.1126%2Fscience.1095336). PMID 15192232 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15192232).
25. Chupp GL, Lee CG, Jarjour N, Shim YM, Holm CT, He S, Dziura JD, Reed J, Coyle AJ, Kiener P, Cullen M, Grandsaigne M, Dombret MC, Aubier M, Pretolani M, Elias JA (November 2007). "A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma". *The New England Journal of Medicine*. **357** (20): 2016–27. doi:10.1056/NEJMoa073600 (https://doi.org/10.1056%2FNEJMoa073600). PMID 18003958 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18003958).
26. Maizels RM (December 2005). "Infections and allergy - helminths, hygiene and host immune regulation". *Current Opinion in Immunology*. **17** (6): 656–61. doi:10.1016/j.coi.2005.09.001 (https://doi.org/10.1016%2Fj.coi.2005.09.001). PMID 16202576 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16202576).

27. Hunter MM, McKay DM (January 2004). "Review article: helminths as therapeutic agents for inflammatory bowel disease". *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. **19** (2): 167–77. doi:10.1111/j.0269-2813.2004.01803.x (https://doi.org/10.1111%2Fj.0269-2813.2004.01803.x). PMID 14723608 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14723608).
28. Palmas C, Gabriele F, Conchedda M, Bortoletti G, Ecça AR (June 2003). "Causality or coincidence: may the slow disappearance of helminths be responsible for the imbalances in immune control mechanisms?". *Journal of Helminthology*. **77** (2): 147–53. doi:10.1079/JOH2003176 (https://doi.org/10.1079%2FJOH2003176). PMID 12756068 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12756068).
29. Feingold BF (March 1975). "Food additives in clinical medicine". *International Journal of Dermatology*. **14** (2): 112–4. doi:10.1111/j.1365-4362.1975.tb01426.x (https://doi.org/10.1111%2Fj.1365-4362.1975.tb01426.x). PMID 1123257 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1123257).
30. Langner T, Göhre V (May 2016). "Fungal chitinases: function, regulation, and potential roles in plant/pathogen interactions". *Current Genetics*. **62** (2): 243–54. doi:10.1007/s00294-015-0530-x (https://doi.org/10.1007%2Fs00294-015-0530-x). PMID 26527115 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26527115).
31. Brunner K, Peterbauer CK, Mach RL, Lorito M, Zeilinger S, Kubicek CP (July 2003). "The Nag1 N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma atroviride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol". *Current Genetics*. **43** (4): 289–95. doi:10.1007/s00294-003-0399-y (https://doi.org/10.1007%2Fs00294-003-0399-y). PMID 12748812 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12748812).
32. Kuranda MJ, Robbins PW (October 1991). "Chitinase is required for cell separation during growth of *Saccharomyces cerevisiae*". *The Journal of Biological Chemistry*. **266** (29): 19758–67. PMID 1918080 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1918080).
33. Colman-Lerner A, Chin TE, Brent R (December 2001). "Yeast Cbk1 and Mob2 activate daughter-specific genetic programs to induce asymmetric cell fates". *Cell*. **107** (6): 739–50. doi:10.1016/S0092-8674(01)00596-7 (https://doi.org/10.1016%2FS0092-8674%2801%2900596-7). PMID 11747810 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11747810).
34. Nelson B, Kurischko C, Horecka J, Mody M, Nair P, Pratt L, Zougman A, McBroom LD, Hughes TR, Boone C, Luca FC (September 2003). "RAM: a conserved signaling network that regulates Ace2p transcriptional activity and polarized morphogenesis" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC196567). *Molecular Biology of the Cell*. **14** (9): 3782–803. doi:10.1091/mbc.E03-01-0018 (https://doi.org/10.1091%2Fmbc.E03-01-0018). PMC 196567 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC196567). PMID 12972564 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12972564).
35. "Latex-Fruit Syndrome and Class 2 Food Allergy" (http://dmd.nihs.go.jp/latex/cross-e.html). *Division of Medical Devices, Japan*.
36. Hamid R, Khan MA, Ahmad M, Ahmad MM, Abdin MZ, Musarrat J, Javed S (January 2013). "Chitinases: An update" (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3612335). *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. **5** (1): 21–9. doi:10.4103/0975-7406.106559 (https://doi.org/10.4103%2F0975-7406.106559). PMC 3612335 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3612335). PMID 23559820 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23559820).

External links

- Chitinase (https://meshb.nlm.nih.gov/record/ui?name=Chitinase) at the US National Library of Medicine Medical Subject Headings (MeSH)
- The X-ray structure of a chitinase from the pathogenic fungus *Coccidioides immitis* (http://www.proteinscience.org/cgi/content/abstract/9/3/544)

Retrieved from "https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chitinase&oldid=888527975"

This page was last edited on 19 March 2019, at 18:49 (UTC).

Text is available under the Creative Commons Attribution-ShareAlike License; additional terms may apply. By using this site, you agree to the [Terms of Use](#) and [Privacy Policy](#). Wikipedia® is a registered trademark of the [Wikimedia Foundation, Inc.](#), a non-profit organization.