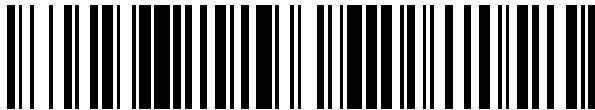


(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



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

(21) Número de solicitud: 201301169

(51) Int. Cl.:

C12N 1/00 (2006.01)

(12)

SOLICITUD DE PATENTE

A2

(22) Fecha de presentación:

21.03.2013

(30) Prioridad:

21.03.2013 ES 201300290

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

25.09.2014

(62) Número y fecha presentación solicitud principal:

P 201300290 21.03.2013

(71) Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA (100.0%)
PABELLÓN DE BRASIL, PASEO DE LAS
DELICIAS, S/Nº
41013 SEVILLA ES**

(72) Inventor/es:

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

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

(57) Resumen:

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

DESCRIPCIÓN

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

20 **Objeto de la invención**

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

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

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

55 **Estado de la técnica**

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

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

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

Descripción del contenido de las figuras

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

- 5 1 - Membrana de bioplástico transparente.
- 10 2 - Soporte reticulado con celdas de bioplástico o caucho reciclado.
- 15 3 - Espacio para agar y poblaciones de *Vibrio fischeri*.

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

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

- 20 25 1 - Estructura tubular flexible de bioplástico transparente, rellena de agar y bacterias de la especie *Vibrio fischeri*.

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

Descripción de la invención

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

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

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

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

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

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

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

35 Modo de realización de la invención

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

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

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

5
10
15
20
25
30
35

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

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

Reivindicaciones

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

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

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

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

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

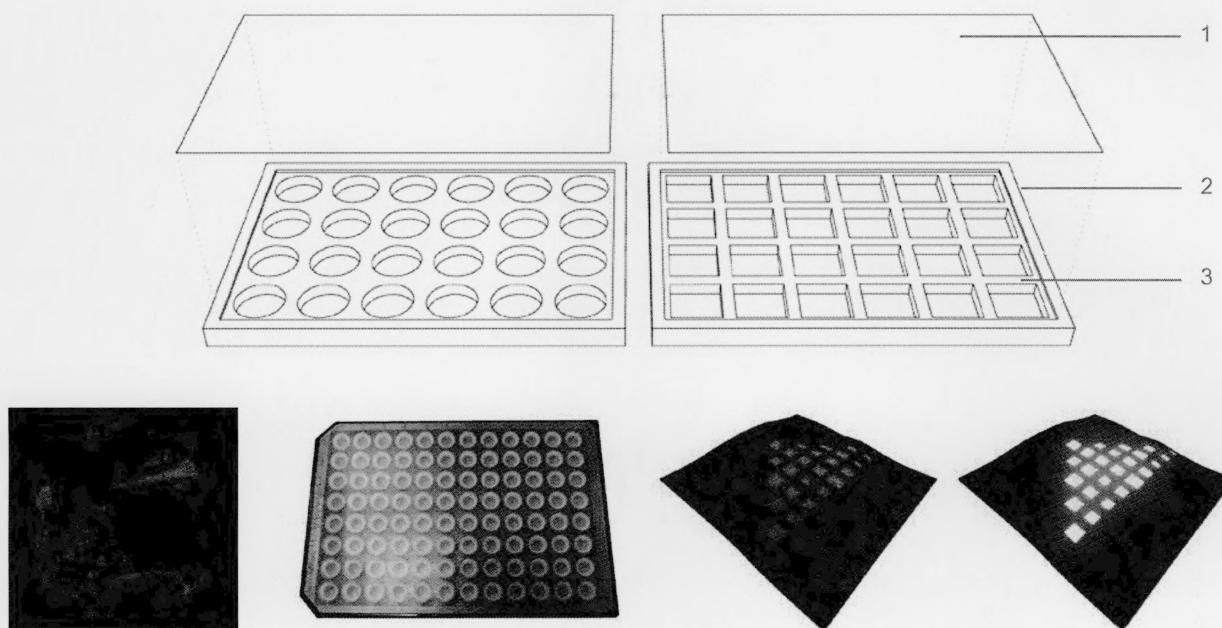


Figura 1.A



Figura 1.B

ES 2 498 739 A2

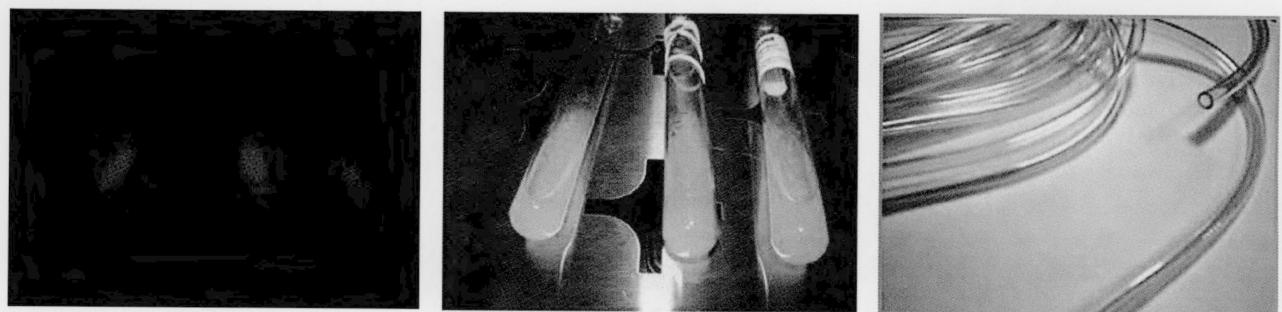
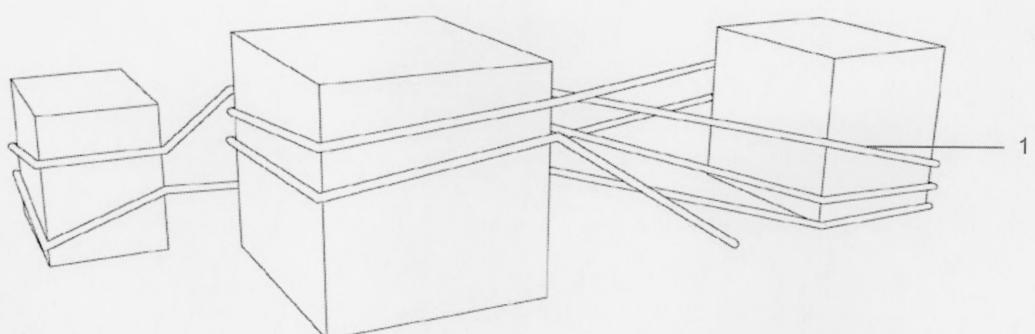


Figura 2.A

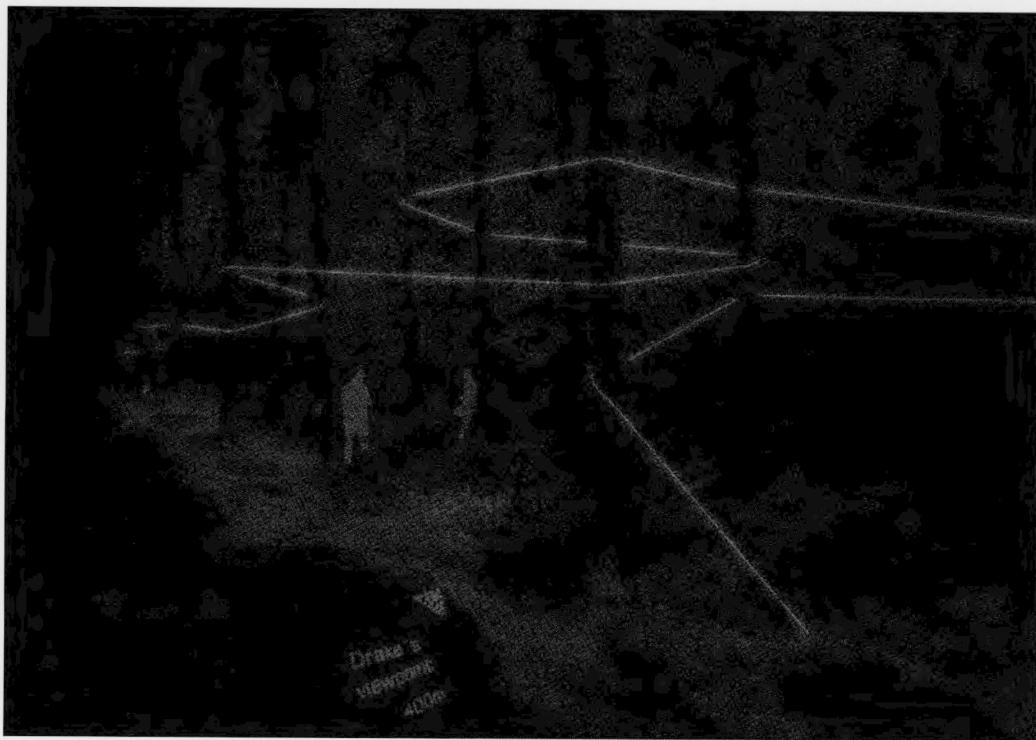


Figura 2.B