

ČESKOSLOVENSKÁ
SOCIALISTICKÁ
REPUBLIKA
(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

(22) Prihlášené 26 11 84
(21) (PV 9006-84)

(40) Zverejnené 14 05 87

(45) Vydané 15 11 88

254011
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
C 12 N 5/02

(75)

Autor vynálezu

HRBKA AUGUSTÍN MUDr. CSc., PREŠOV

(54) Médium pre bunkové kultúry

1

2

Riešenie sa týka použitia solubílného extraktu z gluténu alebo aleuronátu po rozštiepení bolamylázou a trypsínom do médií pre bunkové kultúry namiesto laktalbumín-hydrolyzátu. V udržiavacích médiách sa dajú použiť na množenie vírusu bez pridania séra, resp. fetálneho séra. Sú neantigénne.

Vynález sa týka média pre bunkové kultúry s náhradou laktalbumínhydrolyzáta.

Doteraz sa používa do médií pre kultiváciu bunkových kultúr laktalbumínhydrolyzát (Lennette, B. H., Schmidt N. J.: Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Diseases, Third edition, American Public Health Association, Inc., 1790 Broadway, New York, N. Y. 10019, 1964, str. 91, 96, 97, 102, 103, 104, 105, 117, 119, 133). Laktalbumínhydrolyzát vyrába niekoľko firiem. Tieto firmy sa nachádzajú v nesocialistických štátoch. Preto sa musí buď médiá alebo laktalbumínhydrolyzát do socialistických štátov dovážať. Z celej rady vyrábaných prípravkov laktalbumínhydrolyzáta sa hodia pre prípravu médií pre bunkové kultúry len niektoré. Pri použití médií s laktalbumínhydrolyzátom alebo médií syntetických je nutné pri množení vírusov použiť do udržiavacích médií sérum. Ak sérum obsahuje inhibítory pre množenie daného vírusu, je nutné použiť fetálne sérum, ktoré je veľmi drahé. Ak ide o vakcíny pre humánne použitie, aby sa zabránilo alergizácii ľudí, je treba použiť ľudský albumín.

Uvedené problémy s používaním laktalbumínhydrolyzáta do médií pre bunkové kultúry rieši médium pre bunkové kultúry vyznačujúce sa tým, že v médiu je laktalbumínhydrolyzát nahradený solubilným extraktom z gluténu alebo aleuronátu po rozštiepení bolamylázou a trypsínom. Jedná sa o vedľajšie produkty škrobárenského priemyslu ako rafinovaného kukuričného gluténu a pšeničného lepku — aleuronátu. Z týchto surovín sa fermentatívnou cestou pripraví solubilný extrakt, ktorý môže byť použitý ako základná živná látka v mikrobiologických pôdach, ale rovnako sa hodí ako náhrada laktalbumínhydrolyzáta v pôdach pre bunkové kultúry. Je to prípravok vyrábaný v Československu, relatívne lacný, vhodný pre prípravu rastových médií. Udržiavacie médiá pre množenie vírusu je možné pripraviť bez séra. Ide o prípravok v ktorom sú bielkoviny rozložené, takže je neantigénny.

Spôsob fermentácie gluténu resp. aleuronátu je nasledovný:

30 kg gluténu sa vpraví do 300 l vody, upraví sa pH na hodnotu 6,3—6,5, pridá sa 200 g bolamylázy a fermentuje sa pri teplote 60—65 °C 4 hod. Potom sa do reakčnej zmesi pridá 300 g trypsínu o aktivite 10 000

až 15 000 mU/g a fermentuje sa 4 až 6 hod. pri pH 7,6 až 7,8 a teplote 40—45 °C. Potom sa upraví pH na 4,5 až 5,5 a reakčná zmes sa zahreje do varu na dobu 15 minút. Nerozpustné podiely sa odfiltrujú a číry roztok sa upraví na pH 7,0 až 7,5 a nechá sa sedimentovať pri teplote 50—95 °C. Supernatant sa zahustí na vákuovej odparke na 10 až 20 % sušiny a po prípadnom prefiltrovaní suší sa na sprayovej sušiarňi pri vstupnej teplote 150 až 170 °C, výstupnej teplote 80 až 90 °C za mierneho podtlaku. Získa sa tým svetložltý voluminózný prášok o nasledujúcich chemických parametroch: celkový dusík 9 až 12 %, aminodusík 2,2 až 3,6 %, množstvo solí 5 až 10 %, ktorý je dobre rozpustný vo vode na číry až žltohnedý, svetlý roztok.

Príklad 2

Ako v príklade 1 s tým rozdielom, že miesto gluténu sa použije 30 kg aleuronátu. Získaný produkt má podobné vlastnosti ako produkt pripravený z gluténu.

Laktalbumínhydrolyzátové médium má nasledujúce zloženie:

chlorid sodný	6,8000 g
chlorid draselný	0,4000 g
kyslý fosforečnan sodný ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	0,1250 g
chlorid vápenatý ($\text{Cl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	0,2650 g
síran horečnatý ($\text{MgSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$)	0,2000 g
laktalbumínhydrolyzát	2,2000 g
glukóza	1,000 g
fenolová červeň	0,0100 g
[+] biotín	0,0020 g
d-pantotenát vápenatý	0,0020 g
riboflavín	0,0002 g
kyselina listová	0,0020 g
cholínchlorid	0,0020 g
l-inozitol	0,0036 g
nikotínamid	0,0020 g
pyridoxal HCl	0,0020 g
tiamín HCl	0,0020 g
redestilovaná voda	ad 2 000 ml

Médium podľa predloženého vynálezu je rovnaké len laktalbumínhydrolyzát je nahradený gluténom alebo aleuronátom. Toto médium je možné použiť na kultiváciu rôznych druhov buniek či už ide o primokultúry alebo bunkové línie.

PREDMET VYNÁLEZU

Médium pre bunkové kultúry vyznačujúce sa tým, že v médiu je laktalbumínhydrolyzát nahradený solubílnym extraktom z

gluténu alebo aleuronátu po rozštiepení bo-lamylázou a trypsínom.