



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

209 572

(11) (B 1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené 29 02 80

(21) PV 1403-80

(51) Int. Cl.³ C 07 H 3/02

(40) Zverejnené 27 02 81

(45) Vydané 15 02 82

(75)

Autor vynálezu ZEMEK JURAJ ing. CSc., KUČÁR ŠTEFAN RNDr. CSc., BRATISLAVA,
KOLINA JOSEF ing. CSc., PRAHA

(54) Spôsob prípravy (U - ¹⁴C) D-galaktózy

Vynález rieši spôsob prípravy (U - ¹⁴C) značenej D-galaktózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na celé bunky riasy Chlorella nakultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ¹⁴C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu β-galaktozidázy, pufovaným na pH 4,5 až 6, pričom (U - ¹⁴C) D-galaktóza sa izoluje chromatografiou na papieri.

Vynález má význam na prípravu (U - ¹⁴C) značeného cukru D-galaktózy zaujímavej z hľadiska ohémie a biochémie sacharidov a pre bakteriologickú a klinickú prax.

Vynález sa týka spôsobu prípravy ($U - ^{14}C$) značenej D-galaktózy hydrolytickým natrávením bunečných stien riasy *Chlorella* účinkom enzýmu β -galaktozidázy (EC 3.2.1.23, β -D-galaktozid galaktohydroláza po predchádzajúcej kultivácii riasy *Chlorella* v prostredí ^{14}C značeného kyslíčnika uhličitého.

Z biochemických metód prípravy ($U - ^{14}C$) značených mono- a oligosacharidov je popisovaná príprava ($U - ^{14}C$) D-glukózy (čs. AO 189 471), ($U - ^{14}C$) maltózy (čs. AO 187 882), ($U - ^{14}C$) D-glukónovej kyseliny (čs. AO č. 188 626) a ($U - ^{14}C$) α -D-glukopyranozylfosfátu (čs. AO č. 194 587), pričom základnou východnou látkou pre prípravu týchto sacharidov bol intracelulárny α -1,4(6)glukán ($U - ^{14}C$) izolovaný z riasy *Chlorella*, kultivovanej v prostredí ^{14}C značeného kyslíčnika uhličitého. Vhodným zdrojom mono- a oligosacharidov sú však aj bunečné steny mikroorganizmov, pričom mono- a oligosacharidy možno z nich uvoľniť účinkom vhodných enzýmových systémov bez toho, že by došlo k podstatnému narušeniu zvyšku bunky.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že na celé bunky riasy *Chlorella* nekultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ^{14}C rádionuklidom sa pôsobí roztokom enzýmu β -galaktozidázy (β -D-galaktozid galaktohydroláza, EC 3.2.1.23), pufovaným na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom ($U - ^{14}C$) D-galaktóza sa izoluje chromatografiou na papieri.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy ($U - ^{14}C$) značenej D-galaktózy je, že: využíva doteraz nespracovávaný stenový materiál (odpad); umožňuje spracovanie zvyšného bunečného materiálu (intracelulárny obsah, nukleové kyseliny a pod.) bez zmeny zaužívaného technologického postupu; celý postup prípravy je v technickom prevedení veľmi jednoduchý a všetky enzýmy potrebné k hydrolytickému štiepeniu bunečnej steny riasy *Chlorella* sú komerčne dostupné, a to izolované, ale aj v zmesi.

Príklad 1

K 0,5 ml suspenzie riasy *Chlorella* o aktivite 20 kBq sa pridalo 0,5 ml 50 mM citrát-fosfátového roztoku pH = 4,5 s rozpustenou β -galaktozidázou (3 mg, 4,2 U) a reakčná zmes sa nechá pretrepávať po dobu 6 hodín pri 30 °C. Po prebehnutí hydrolytickej reakcie sa zmes nanesie na chromatografický papier Whatman 1 a chromatografické delenie sa prevádza v systéme acetón-n-butanol-voda po dobu 16 hodín. Zóna odpovedajúca pohyblivosťou D-galaktóze sa vystrihne a eluuje 50 % vodným roztokom etanolu. Rádiochemický výťažok D-galaktózy bol 0,4 kBq (2 %).

Príklad 2

Postupovalo sa ako v príklade 1, s tým rozdielom, že sa hydrolytické štiepenie bunečnej steny prevádza 0,5 ml riedeného enzýmového systému (1:5) slimáka (*Helix pomatia*) čerstvo pripravený z tráviaceho traktu 50 mM citrát-fosfátovým pufrom o pH 6,0. Po 8 hodinách priebehu reakcie pri 30 °C bolo ďalšie spracovanie reakčnej zmesi tak, ako je uvedené v príklade 1. Rádiochemický výťažok D-galaktózy je ako v príklade 1.

Príklad 3

Postupovalo sa ako v príklade 1, s tým rozdielom, že reakcia prebieha v destilovanej

vode. Pre získanie rovnakých výťažkov, ako v príklade 1 musí však reakcia prebiehať 24 hodín.

Vynález má význam pre prípravu (U - ^{14}C) značeného cukru D-galaktózy zaujímavej z hľadiska chémie a biochémie sacharidov a pre bakteriologickú a klinickú prax.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob prípravy (U - ^{14}C) D-galaktózy vyznačujúci sa tým, že na celé bunky riasy *Chlorella* kultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ^{14}C rádionuklidom sa pôsobí roztokom enzýmu β -galaktozidázy, pufovaným na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom z bunečných stien sa uvoľňuje do roztoku D-galaktóza (U - ^{14}C), ktorá sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.