



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

209 569

(11) (B 1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené 29 02 80

(21) PV 1400-80

(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
a KOLINA JOZEF ing. CSc., PRAHA

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

Vynález rieši spôsob prípravy (U - ¹⁴C)
D-glukózy hydrolytickým natrávením buneč-
ných stien riasy Chlorella.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa
na celé bunky Chlorella nakultivovanej
v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného
¹⁴C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu ce-
lulázy a β-glukozidázy pufovaným na pH
4,5 až 6, pričom (U - ¹⁴C) D-glukóza sa zís-
ka z roztoku papierovou chromatografiou.

Vynález má význam pre prípravu (U - ¹⁴C)
značenej D-glukózy, zaujímavej z hľadiska
chémie a biochémie sacharidov a pre bakte-
riologickú a klinickú prax.

Vynález rieši spôsob prípravy ($U - ^{14}C$) značenej D-glukózy hydrolytickým natrávením bunečných stien riasy *Chlorella* účinkom enzýmov celulózy (EC 3.2.1.4, β -1,4-glukán glukohydroláza) a β -glukozidázy (EC 3.2.1.21, β -D-glukozid glukohydroláza) 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 v čs. autorskom osvedčení č. 189 471, ($U - ^{14}C$) maltózy v čs. autorskom osvedčení č. 187 882, ($U - ^{14}C$) D-glukónovej kyseliny v čs. autorskom osvedčení č. 188 626 a ($U - ^{14}C$) α -D-glukopyranozyl-fosfátu v čs. autorskom osvedčení č. 194 58 pričom základnou východiskovou 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 vhodným enzýmových systémov bez toho, že by došlo k podstatnému narušeniu zvyšku bunky.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na celé bunky riasy *Chlorella* nakultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ^{14}C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu celulózy a β -glukozidázy pufovaným na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom uvoľnená ($U - ^{14}C$) D-glukóza sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy ($U - ^{14}C$) značenej D-glukózy je, že využíva nesppracovaný 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 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 mM citrát-fosfátového roztoku (pH 4,5) s rozpustenou celulázou (0,5 mg, 2U) a β -glukozidázou (3,2 mg, 2,4 U) a reakčná zmes sa nechá pretrepávať po dobu 6 hodín pri 30 °C. Po prebehnutí hydrolytickej reakcie sa zmes naniesie na chromatografický papier (Whatman 1) a chromatografické delenie sa prevádza v systéme acetón-n-butanol-vođa, po dobu 16 hodín. Zóna odpovedajúca pohyblivosťou D-glukóze sa vystrihne a eluuje 50 % vodným roztokom etanolu. Rádiochemický výťažok D-glukózy bol 2,1 kBq (10 %).

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. Po 8 hodinách priebehu reakcie pri 30 °C je ďalšie spracovanie reakčnej zmesi tak, ako je uvedené v príklade 1. Rádiochemický výťažok D-glukózy je ako v príklade 1.

Príklad 3

Postupovalo sa ako v príklade 1 s tým rozdielom, že reakcia prebieha v destilovanej vode. Pre získanie výťažku, ako v príklade 1 musí však reakcia prebiehať 24 hodín.

Vynález má význam pre prípravu (U - ^{14}C) značenej D-glukózy, 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-glukózy, vyznačujúci sa tým, že sa na celé bunky riasy *Chlorella* kultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ^{14}C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmov celulózy a β -glukozidázy pufrovaným na pH hodnotu 4,5 až 7, pričom uvoľnená (U - ^{14}C) D-glukóza sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.