



MD 4048 B1 2010.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4048** <sup>(13)</sup> **B1**

(51) Int. Cl.: *C12N 1/16* (2006.01)  
*C12R 1/865* (2006.01)  
*C12P 19/04* (2006.01)  
*C12P 39/00* (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

| Hotărârea de acordare a brevetului de invenție poate fi<br>revocată în termen de 6 luni de la data publicării                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| (21) Nr. depozit: a 2010 0019<br>(22) Data depozit: 2010.02.11                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | (45) Data publicării hotărârii de<br>acordare a brevetului:<br>2010.06.30, BOPI nr. 6/2010 |
| (71) Solicitant: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE<br>A MOLDOVEI, MD<br>(72) Inventatori: CHISELIȚA Oleg, MD; USATÎI Agafia, MD; TARAN Nicolae, MD; RUDIC Valeriu, MD;<br>CHISELIȚA Natalia, MD; ADAJUC Victoria, MD<br>(73) Titular: INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A<br>MOLDOVEI, MD |                                                                                            |

(54) Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* - sursă de  $\beta$ -glucani

(57) Rezumat:

1

Invenția se referă la biotehnologie, în particular  
la o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*,  
utilizată pentru obținerea  $\beta$ -glucanilor.

Se propune o tulpină de drojdie *Saccharomyces  
cerevisiae*, depozitată în Colecția Națională de

2

5 Microorganisme Neputogene a Institutului de  
Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul  
CNMN-Y-20 în calitate de sursă de  $\beta$ -glucani.

Revendicări: 2

## MD 4048 B1 2010.06.30

3

### Descriere:

Invenția se referă la biotehnologie, în particular la o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae*, utilizată pentru obținerea  $\beta$ -glucanilor.

5 Este cunoscută o tulpină de drojdie din genul *Saccharomyces* ce conține 10 % de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată [1].

Este cunoscută o tulpină de drojdie din genul *Saccharomyces cerevisiae* ce conține până la 13 % de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată [2].

Însă aceste tulpini posedă capacitatea joasă de sinteză a hidraților de carbon.

10 Soluția cea mai apropiată este tulpina *Saccharomyces cerevisiae*, care sintetizează 127,4  $\mu\text{g}/\text{mg}$  de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată [3].

Dezavantajul celei mai apropiate soluții constă în cantitatea mică de  $\beta$ -glucani sintetizați.

Problema pe care o rezolvă invenția constă în obținerea unei tulpini cu posibilități sporite de biosinteză a  $\beta$ -glucanilor.

15 Esența invenției constă în aceea că se propune o tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 în calitate de sursă de  $\beta$ -glucani.

Tulpina a fost obținută prin metoda selecției în mai multe etape pe mediul must de bere de 7% lichid și agarizat, având ca material primar sedimentele levurilor provenite de la fermentarea vinului roșu Cabernet – 5 (sedimente oferite de Institutul de Vinificație a Republicii Moldova).

20 Caracteristicile morfologice ale tulpinii: celule ovale sau rotunde, înmugurire polară, uneori formează pseudohife.

Caracteristicile culturale ale tulpinii: tipul respirației – aerob, formează asce persistente direct din celula diploidă, ascospori neeliberați, rotunzi sau ovali netezi. Pe mediu solid formează cloni alb - roz, suprafața lucioasă, netedă, plată, diametrul 4...6 mm.

25 Caracteristicile fiziologo-biochimice ale tulpinii: nu formează peliculă. Fermentația +: nitrat-; urează-; testul diazonium blue B (DBB). Asimilează glucidele: D-glucoză, zaharoză, fructoză, D-maltoză, D-galactoză, D-manoză, D-tregaloză, D-xiloză.

Temperatura optimă de dezvoltare a culturii de drojdie este de +20...25°C, pH-ul inițial 5,5.

Pentru obținerea unei cantități sporite de  $\beta$ -glucani, tulpina *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 se cultivă în următoarele medii de cultură:

30 1) YPC, care conține, g/L: peptonă 20,0; glucoză 20,0; extract de drojdie 10 mL; apă potabilă 1000 mL.

La cultivare în profunzime pe mediul dat timp de 120 ore, tulpina sintetizează până la 15,3%  $\beta$ -glucani în biomasa uscată, ceea ce este cu 20,5% mai mult față de cea mai apropiată soluție.

35 2) Rieder, care conține, g/L: glucoză 30,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; NaCl 0,5;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4; autolizat de drojdie 10 mL; apă potabilă până la 1000 mL.

La cultivare în profunzime pe mediul dat timp de 120 ore, tulpina sintetizează până la 22,5 %  $\beta$ -glucani în biomasa uscată, ceea ce este cu 77,2% mai mult față de cea mai apropiată soluție.

40 Tulpina *Saccharomyces cerevisiae* este izolată în cultură pură și depozitată în Colecția națională de microorganisme nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM cu numărul CNMN-Y-20.

Rezultatul invenției constă în obținerea până la 22,5 % de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată.

*Exemple de realizare a invenției*

*Exemplul 1*

45 În baloane Erlenmeyer de 500 mL, în mediu de inoculare care cuprinde must de bere de 7%, în condiții aseptice, timp de 3 zile, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 mL mediu de cultură steril YPG, care conține, g/L: peptonă 20,0; glucoză 20,0; extract de drojdie 10 mL; apă potabilă 1000 mL.

Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C este de 120 ore.

50 Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 15,3% de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată.

*Exemplul 2*

55 În baloane Erlenmeyer de 500 mL, în mediul de inoculare care cuprinde must de bere de 7%, în condiții aseptice timp de 3 zile, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +20°C se prepară o suspensie de germeni, care se inoculează în 200 mL mediu de cultură steril Rieder, ce conține, g/L: glucoză – 30,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,7;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,0; NaCl 0,5;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,4; autolizat de drojdie 10 mL; apă potabilă până la 1000 mL.

Durata cultivării în profunzime, pe agitator (200 rot/min), la temperatura de +25°C este de 120 ore.

Cultivarea în mediul și condițiile indicate asigură acumularea a 22,5 % de  $\beta$ -glucani în biomasa uscată.

## MD 4048 B1 2010.06.30

4

### (57) Revendicări:

Tulpină de drojdie *Saccharomyces cerevisiae* CNMN-Y-20 - sursă de  $\beta$ -glucani.

5

### (56) Referințe bibliografice:

1. RU 2216595 C1 2003.11.20
2. Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble  $\beta$ -glucan from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39, p. 496-500
3. Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology, 2003, 37, p. 268-274

**Șef Secție:**

GROSU Petru

**Examinator:**

BAZARENCO Tatiana

**Redactor:**

UNGUREANU Mihail

## RAPORT DE DOCUMENTARE

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| (21) Nr. depozit: a 2010 0019                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
| (22) Data depozit: 2010.02.11                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
| (51) : <b>Int. Cl.: C12N 1/16</b> (2006.01)<br><b>C12R 1/865</b> (2006.01)<br><b>C12P 19/04</b> (2006.01)<br><b>C12P 39/00</b> (2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                 |  |
| (54) <b>Titlul :</b> Tulpină de drojdie <i>Saccharomyces cerevisiae</i> - sursă de $\beta$ - glucani                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| (71) Solicitantul : <b>INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                           |  |
| Termeni caracteristici :<br>a) limba română: tulpină, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , $\beta$ - glucani<br>b) limba engleză: strain, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , $\beta$ - glucan                                                                                                                                                                                                                |  |
| I. Minimul de documente consultate ( sistema clasificării și indici de clasificare Int. Cl.)                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |
| <b>Int. Cl.: C12N 1/16</b> (2006.01)<br><b>C12R 1/865</b> (2006.01)<br><b>C12P 19/04</b> (2006.01)<br><b>C12P 39/00</b> (2006.01)                                                                                                                                                                                                                                                                        |  |
| II. Literatura tehnico-științifică consultată adăugător la minim de documentație (autori, titluri, editura, țara și data publicării)                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
| 1. Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble $\beta$ -glucan from the cell wall of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Enzyme and Microbial Technology. 2006, 39, p. 496-500<br>2. Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology. 2003, 37, p. 268-274 |  |
| III. Baze de date electronice consultate (denumirea BD și termen de documentare)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |
| 1. MD 1993-2010<br>2. RU ФИПС 1994-2010<br>3. Esp@cenet<br>4. <a href="http://www2.viniti.ru/Биология">http://www2.viniti.ru/Биология</a> , вып. микробиология общая; микробиология прикладная 1981-2010                                                                                                                                                                                                 |  |

| IV. Documente considerate ca relevante                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Categoria*                                                                                                                                                                                        | Date de identificare ale documentelor citate si indicarea pasajelor pertinente                                                                                                                                | Numărul revendicării vizate                                                                                                                                                                                                                                                         |
| A                                                                                                                                                                                                 | RU 2216595 C1 2003.11.20                                                                                                                                                                                      | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| A                                                                                                                                                                                                 | Kwang Suk Kim, Hyun Shik Yun. Production of soluble $\beta$ -glucan from the cell wall of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Enzyme and Microbial Technology, 2006, 39, p. 496-500                             | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| A                                                                                                                                                                                                 | Aguilar-Uscanga B. and Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letters in Applied Microbiology, 2003, 37, p. 268-274 | 1                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <input type="checkbox"/> Documentele următoare sunt indicate în rubrica IV                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                               | <input type="checkbox"/> Informația referitoare la brevete paralele se anexează                                                                                                                                                                                                     |
| * categoriile speciale ale documentelor consultate:                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                               | <b>P</b> - document publicat înainte de data depozit, dar după data priorității invocate                                                                                                                                                                                            |
| <b>A</b> - document care definește stadiul anterior general                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                               | <b>T</b> - document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția                                                    |
| <b>E</b> - document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta data                                                                                              |                                                                                                                                                                                                               | <b>X</b> - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat de unul singur                                                                                                           |
| <b>L</b> - document care poate pune în discuție data priorității invocate sau poate contribui la determinarea datei publicării altor divulgări sau pentru un motiv expres ( se va indica motivul) |                                                                                                                                                                                                               | <b>Y</b> - document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe alte documente de aceeași natură, aceasta combinație fiind evidentă pentru o persoană de specialitate |
| <b>O</b> - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expunere sau orice altă divulgare                                                                                    |                                                                                                                                                                                                               | <b>&amp;</b> - document care face parte din aceeași familie de documente                                                                                                                                                                                                            |
| Data finalizării documentării                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                               | 2010.04.15                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Examinatorul                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                               | Bazarenco Tatiana                                                                                                                                                                                                                                                                   |

RAPORT DE DOCUMENTARE

| Informația referitoare la brevete paralele                   |                    | (21) Nr. depozit:   |                    |
|--------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| Date de identificare<br>ale documentelor citate<br>în raport | Data<br>publicării | Brevete<br>paralele | Data<br>publicării |
| 1                                                            | 2                  | 3                   | 4                  |
|                                                              |                    |                     |                    |