

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02.11.2007**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.05.2009**  
(Věstník č. 19/2009)

(21) Číslo dokumentu:

**2007-766**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

**C12N 1/12** (2006.01)

**C12R 1/89** (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha 4, CZ

(72) Původce:

Doušková Irena Ing., Říčany u Prahy, CZ  
Hlavová Monika Mgr., Bratislava, SK  
Umysová Dáša Mgr., Bratislava, SK  
Vítová Milada RNDr. PhD., Třeboň, CZ  
Zachleder Vilém RNDr. CSc., Třeboň, CZ

(74) Zástupce:

Středisko společných činností AV ČR, v. v. i. Patentové  
a licenční služby, Národní 1009/3, Praha 1, 11000

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Průmyslový kmen Scenedesmus quadricauda  
SeVI zelené chlorokokální řasy Scenedesmus  
quadricauda (Turp.) Bréb**

(57) Anotace:

Kmen Scenedesmus quadricauda SeVI, který je schopen růst v přítomnosti vysokých koncentrací selenanu ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ), které jsou letální pro buňky sbírkových (kontrolních) kmenů. Tento kmen roste i při extrémně vysokých koncentracích selenu stejnou nebo vyšší rychlostí a je schopen absorbovat významně vyšší množství organicky vázaného selenu než kontrolní kmen. Kromě autotrofního růstu ve fotobioreaktorech může růst i heterotrofně ve fermentorech. Přítomnost seleničitanu ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) je však pro tento kmen toxická.

02.11.07

65 739

Průmyslový kmen *Scenedesmus quadricauda* SeVI zelené chlorokokální řasy  
*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb.

PK 266-07

#### Oblast techniky

Vynález se týká kmene *Scenedesmus quadricauda* SeVI zelené jednobuněčné řasy *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. s vysokou produkcí organicky vázaného selenu a současně rezistentního vůči vysokým koncentracím selenanu v prostředí.

#### Dosavadní stav techniky

Selen je esenciální mikroelement v dietě mnoha organismů, včetně lidí. Tomuto prvku je přisuzován značný zdravotní přínos. Epidemiologické studie ukázaly významnou roli selenu v prevenci a zpomalení vývoje rakoviny prsu, prostaty a tlustého střeva. Selen hraje také důležitou roli ve vývoji savců, v imunitních funkcích a zpomalení procesu stárnutí, funkci štítné žlázy, v léčbě neplodnosti kardiovaskulárních a neurologických onemocnění. Podílí se na detoxikaci těžkých kovů a organických karcinogenů a je ve formě peroxidáz jednou z neaktivnějších složek antioxidační a antiradikálové ochrany organismu. Doplnění selenu při jeho nedostatku má imunostimulační efekt zejména u pacientů prodávajících chemoterapii.

Jednobuněčné mikroskopické sladkovodní řasy se vyznačují schopností absorbovat a kumulovat ve svých strukturách látky, které se nacházejí v živném prostředí. Uvedené produkty našly uplatnění například v lékařské diagnostice, farmacii a potravinářství. Na schopnosti řasových kultur vázat do svých struktur požadované prvky v závislosti na jejich koncentraci v živném roztoku a na technologii jejich kultivace je založeno i obohacování řas selenem.

V řasách bylo identifikováno několik sloučenin selenu (selenomethionin, dimetylselenopropionát, Se-allylselenocystein). Za míru kvality řas jako zdroje "organického selenu" se považuje obsah selenomethioninu jak volného tak vázaného v bílkovinách. Vedle těchto sloučenin selenu se v řasách vyskytují i další využitelné formy selenových sloučenin jak nízkomolekulárních derivátů aminokyselin a metabolitů tak vysokomolekulární biomolekuly (proteiny, peptidy).

Řasové buňky obohacené selenem mohou sloužit jako vynikající levný zdroj těchto látek. Zájem o kultury mikroskopických řas a jejich využití ve výživě lidí a zvířat, ve farmacii, kosmetice a dalších aplikacích se ve světě postupně zvyšuje.

Současná výkonná kultivační technologie a dosud získané poznatky v oblasti řasových preparátů jsou podkladem pro rozšíření jejich využití i pro ekonomicky výhodnou výrobu selenem obohacených řas.

Komplikací jsou však toxicita anorganických sloučenin selenu, která brání jejich technologicky a ekonomicky výhodnějšímu použití ve vyšších koncentracích a poměrně nízký příjem selenu do buněk řas. Řešením je použití vyšlechtěných kmenů řas s odolností buněk vůči vysokým koncentracím anorganických sloučenin selenu a se schopností vázat vyšší množství sloučenin selenu.

#### Podstata vynálezu

Výše uvedené nedostatky odstraňují řasy podle tohoto vynálezu. Vyšlechtěný kmen *Scenedesmus quadricauda* SeVI jednobuněčné zelené řasy *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. je rezistentní vůči vysokým koncentracím selenanu. Tento kmen byl získán pasážováním a selekcí sbírkového kmene *Scenedesmus quadricauda* Gr/15 tak, že na něj bylo působeno selenanem v živném roztoku jako mutačním a selekčním agens.

K charakterizaci vyšlechtěného kmene byly sledovány růstové křivky při různých koncentracích selenanu a srovnány s růstovými křivkami sbírkového kmene (viz Graf 1).

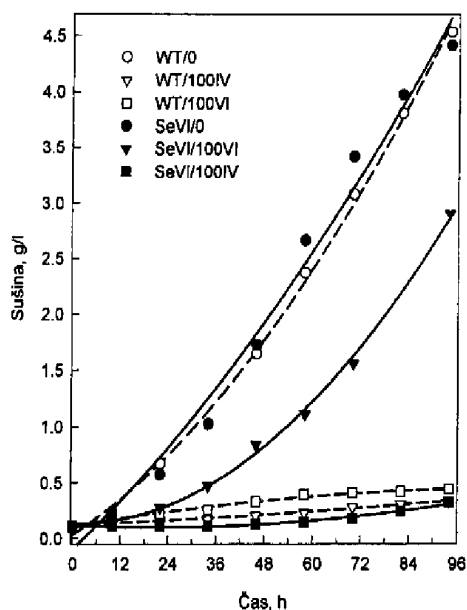
Vyšlechtěný rezistentní kmen je schopný růst do vysokých sklizňových hustot (kolem 5 g sušiny/l) při koncentracích selenanu do 5,2 mM (tj. 400 mg Se/l živného roztoku), zatímco inhibiční koncentrace selenanu pro divoký kmen je 0,13 mM (tj. 10 mg Se/l živného roztoku). Rychlost růstu při vysokých koncentracích selenanu je u rezistentního kmene mírně nižší než u kontrolního kmene v nepřítomnosti selenanu (Graf 1). Genetická stabilita rezistentního kmene byla ověřena dvouletým pasážováním na agarovém médiu bez selekčního tlaku, t.j. v nepřítomnosti selenanu.

Pokusy prokázaly, že kmen roste do vysokých sklizňových hustot i heterotrofně ve fermentoru. Jako zdroj energie uhlíku slouží glukóza.

Příklady provedení vynálezu:

**Graf 1 Přírůstek sušiny (g/l) u sbirkového a rezistentního kmene *Scenedesmus quadricauda* SeVI při různé koncentraci  $\text{Na}_2\text{SeO}_4$  v živném roztoku**

Křivky WT/0, WT/100IV, WT/100VI, SeVI/0, SeVI/100IV, SeVI/100VI: kultury kontrolního (WT) a selenan rezistentního (SeVI) kmene při koncentracích seleničitanu (IV) či selenanu (VI): 0; 1,3 mM (tj. 0, 100 mg Se/l).

Průmyslová využitelnost:

Kmen *Scenedesmus quadricauda* SeVI se může využít například při výrobě selenem obohacené biomasy řas pro humánní výživu a pro výživu zvířat. Současné, postupy produkční kultivace s řízeným chemickým složením řasové buňky mohou být využity pro velkoobjemovou produkci řas s vysokým obsahem organicky vázaného selenu.

Kromě vysoce aktuálního využití organicky vázaného selenu v biomedicině je velmi atraktivní využití těchto sloučenin jako doplňkové stravy hospodářských zvířat, u nichž se nedostatek selenu projevuje zhoršením zdravotního stavu a váhovým úbytkem. Kromě toho zvýšení obsahu selenových sloučenin u hospodářských zvířat umožní dodávat přes potravní řetězec selenové sloučeniny i do lidské populace.

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Průmyslový kmen *Scenedesmus quadricauda* SeVI zelené chlorokokální řasy  
*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb., uložený ve Sbírce autotrofních organismů,  
Botanický ústav, Akademie věd ČR, Dukelská 135, CZ-379 82, Třeboň.
2. Průmyslový kmen *Scenedesmus quadricauda* SeVI zelené chlorokokální řasy  
*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Bréb. podle nároku 1, vyznačující se tím, že je  
schopný akumulovat do svých buněčných struktur selen ze selenanu za současné  
rezistence vůči selenanu ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ) v okolním prostředí s koncentrací do 5,2 mM.