



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

195 021

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 16 02 77
(21) PV 1020 - 77

(51) Int. CP

C 12 D-13/10

N 9/14

(40) Zverejnené 28 04 79
(45) Vydané 01 2 82

(75)

Autor vynálezu

ZEMEK JURAJ ing. CSc., LEHNICA
KUNIAK ĽUDOVÍT ing. CSc., BRATISLAVA
AUGUSTÍN JOZEF PHMr., BRATISLAVA
PÁČOVÁ ZDENA dr., BRNO

(54) Spôsob produkcie β -glukán glukánohydrolázy pomocou baktérií *Streptomyces* SPP

1

Vynález sa týka produkcie enzýmu β -glukán glukánohydrolázy /EC 3.2.1.4/pomocou bakteriálnych kmeňov *streptomyces* spp. kultivovaných na vhodných živných pôdach.

Pre priemyselnú produkciu β -glukán glukánohydrolázy sa používajú najčastejšie nasledujúce mikroorganizmy: *Trichoderma viride*, *Trichoderma koningii*, *Neurospora crassa* a iné.

Sú však aj iné mikroorganizmy o ktorých doposiaľ nebolo známe, že majú schopnosť produkcie β -glukán glukánohydrolázy. Pomocou gélovej metódy /Čs. AO č. 183 169/testovania mikroorganizmov na celulázovú aktivitu v priebehu kultivácie mikroorganizmov sme zistili, že z 21 kmeňov rodu *Streptomyces* 14 produkuje β -glukán glukánohydrolázu.

Žiadny z uvedených kmeňov rodu *Streptomyces* nie je v literatúre známy ako producent celulázových enzýmov, aj keď celý rad kmeňov rodu *Streptomyces* sa využíva k produkcii antibiotík, pričom nahromadená bakteriálna biomasa obsahuje celulázové enzýmy. Podstata vynálezu spočíva v tom, že kultiváciou nasledovných 14 kmeňov rodu *Streptomyces*:

<i>Streptomyces flavovirens</i>	CCM 3243
" <i>vinaceus</i>	CCM 3005
" <i>distatochromogenes</i> subst. <i>luteus</i>	CCM 3013
" <i>griseus</i>	CCM 406
" <i>griseoluteus</i>	CCM 3242

195 021

Streptomyces	californicus	CCM 3016
"	gelaticus	CCM 3177
"	olivaceus	CCM 3181
"	fradiae	CCM 3174
"	venezuelae	CCM 3198
"	flaveolus	CCM 3171
"	albogriseolus	CCM 3227
"	viridochromogenes	CCM 3201
"	scabies	CCM 3197

jednotlivo alebo ich zmesí na živnej pôde obsahujúcej celulózu alebo jej deriváty /hydroxyetyl, karboxymetyl, hydroxypropyl/ pri teplote 37 °C a výhodom pH 7,5 po dobu 10 až 20 hodín produkuje enzým β -glukán glukánohydrolázu /E.C. 3.2.1.4/, ktorý sa získa v surovom stave odparením rastovej pôdy prípadne v čiastočne zušľachtenom stave zrážaním síranom amonným /60%-né nasýtenie/, etanolom alebo acetónom /1:1/. Všetky uvedené mikroorganizmy sú uložené v Čs. zbierke mikroorganizmov Univerzity J.E.Purkyně v Brně, trieda Obránců míru 10.

Príklady prevedenia

Príklad 1

Streptomyces gelaticus CCM 3177 sa pomnoží na rastovej pôde obsahujúcej 2g gélu pripraveného sieťovaním /J.Zemek a Ľ.Kuniak: Čs. AO č. 183 169/ ponoreného do polovice výšky v 20 ml Yeast Nitrogen Base rastovej pôde /0,6 g/100 ml/ a kultivuje sa povrchovo po dobu 3 dní pri 37 °C kedy dochádza k stekutiu gélu. Nahromadená biomasa Streptomyces gelaticus sa použije ako inokulum pôdy obsahujúcej 20 g CORN-STEEDU, 5 g hydroxyetylcelulózy /pH 7,8/ na 1 liter pôdy po dobu 15 hodín. Po 15. hodině sa hrubý Streptomyces gelaticus odcentrifuguje pri 5000 g, po dobu 10 minút a surový enzým sa získa odparením kultivačnej pôdy na vákuovej odparke /celková aktivita 40 IU, špecifická aktivita 0,26 IU/mg proteínu/.

Príklad 2

Tak ako uvedené v príklade 1 s tým rozdielom, že k pomnoženiu sa použije zmes Streptomyces olivaceus a Streptomyces fradiae. Získa sa surový enzým a celkovej aktivity 38 IU a špecifickej aktivity 0,32 IU/1 mg proteínu.

Príklad 3

Tak ako uvedené v príklade 1 s tým rozdielom, že pomnožená kultúra Streptomyces gelaticus sa použije ako inokulum na rastovú pôdu obsahujúcu 20 % gluténových výpalkov a 7 g voľnorozpustnej karboxymetylcelulózy na 1 liter pôdy /pH 7,5/ po dobu 16 hodín. Ďalšie zpracovanie tak ako v príklade 1. Získa sa surový enzým o celkovej aktivity 29 IU a špecifickej aktivity 0,24 IU/1 mg proteínu.

Výnález má použitie pri produkcii β -glukán glukánohydrolázy ako jedného z dôležitých polysacharid hydrolázového enzýmu, ktorý má možnosti aplikácie tak v základnom výskume ako i v praxi pri zužitkovaní rôznych drevných a poľnohospodárskych odpadov obsahujúcich polysacharidy.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob produkcie β -glukán glukánohydrolázy pomocou baktérií *Streptomyces* spp. vyznačujúci sa tým, že kultiváciou nasledovných 14 kmeňov rodu *Streptomyces* :

<i>Streptomyces flavovirens</i>	CCM 3243
" <i>vinaceus</i>	CCM 3004
" <i>distatochromogenes subst.luteus</i>	CCM 3013
<i>Streptomyces griseus</i>	CCM 406
" <i>griseoluteus</i>	CCM 3242
" <i>californicus</i>	CCM 3016
" <i>gelaticus</i>	CCM 3177
" <i>olivaceus</i>	CCM 3181
" <i>fradiae</i>	CCM 3174
" <i>venezuelae</i>	CCM 3198
" <i>flaveolus</i>	CCM 3171
" <i>albogriseolus</i>	CCM 3227
" <i>viridochromogenes</i>	CCM 3201
" <i>scabies</i>	CCM 3197

jednotlivo alebo ich zmesí na živnej pôde obsahujúcej celulózu alebo jej hydroxypropyl-, karboxymetyl-, hydroxyetyl deriváty pri teplote 37 °C a výhodnom pH 7,5 po dobu 10 až 20 hodín, produkuje enzým β -glukán glukánohydrolázu, ktorý sa získava v surovom stave odparením rastovej pôdy, prípadne v zušľachtenom stave zrážaním síranom amonným alebo organickým rozpúšťadlom s výhodou etanolu a acetónu.