



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENÍU

214 447

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavná priorita

(22) Prihlášené 09 02 81

(21) PV 926-81

(40) Zverejnené 15 09 81

(45) Vydané 01 07 84

(51) Int. Cl.³ C 07 H 3/02

(75)

Autor vynálezu

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

(54)

Spôsob prípravy ($U-^{14}C$) D-xylózy

Vynález sa týka spôsobu prípravy ($U-^{14}C$) značenej D-xylózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že na celé bunky rias s výhodou zelených, modrozelených alebo červených nakultivovaných v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného ^{14}C rádionuklidom sa pôsobí roztokom enzýmu celulózy, xylanázy a β -D-xylozidázy, pufrovanými na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom uvoľnená D-xylóza ($U-^{14}C$) sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.

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

Vynález rieši spôsob prípravy ($U-^{14}C$) značenej D-xylózy hydrolytickým natrávením bunčných stien rias účinkom enzýmu celulózy (EC 3.2.1.4/ β -1,4-glukan glukanohydroláza), xylanázy EC 3.2.1.8. β -1,4-xylan xlanohydroláza a β -D-xylozidázy (EC 3.2.1.37 β -D-xylozid xylohydroláza) po predchádzajúcej kultivácii riasy v prostredí ^{14}C značeného kyslíčnika uhlíčitého.

Z biochemických metód prípravy ($U-^{14}C$) značených mono a oligosacharidov je popisovaná príprava ($U-^{14}C$) D-glukózy (čs. AO š. 189 471), ($U-^{14}C$) maltózy (čs. AO č. 187 882), ($U-^{14}C$) D-glukónovej kyseliny (čs. AO č. 188 626) a ($U-^{14}C$) α -D-glukopyranozylofosfátu (čs. AO č. 194 587), 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 uhlíčitého. Vhodným zdrojom mono- a oligosacharidov sú však aj buncné steny mikroorganizmov, pričom mono- a oligosacharidy možno z nich uvoľniť účinkom vhodných enzýmových systémov bez toho, že by došlo k narušeniu zvyšku podstatnej časti buniek.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že na celé bunky rias s výhodou zelených, modrozelených alebo červených, nakultivovaných v prostredí kyslíčnika uhlíčitého značeného ^{14}C rádionuklidom sa pôsobí roztokom enzýmu celulózy, xylanázy a β -D-xylozidázy, pufovanými na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom uvoľnená D-xylóza ($U-^{14}C$) sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy ($U-^{14}C$) D-xylózy je, že:

- využíva doteraz nespracovaný stenový materiál (odpad);
- umožňuje prípravu ($U-^{14}C$) D-xylózy o vysokej špecifickej rádioaktivity;
- umožňuje spracovanie zvyšného buncného 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 štepeniu buncnej steny rias sú komerčne dostupné a to izolované ale aj v zmesi.

Príklad 1

K 0,5 ml suspenzie riasy *Chlorella vulgaris* o aktivite 20 kBq sa pridalo 0,5 ml 50 mM citrát-fosfátového tlmivého roztoku (pH 4,5) s rozpustenou celulázou (0,5 mg), xylanázou (0,5) a β -D-xylozidázou (1 mg) o aktivite každého z enzýmov 0,05 μ kat 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 (7:2:1, v objemových pomeroch), po dobu 16 hodín. Zóna zodpovedajúca pohyblivosťou D-xylóze sa vystrihne a eluuje 50 % vodným roztokom etanolu. Rádiochemický výťažok D-xylózy bol 0,08 kBq (0,5 %).

Príklad 2

Postupovalo sa tak, ako v príklade 1, s tým rozdielom, že na hydrolytické štepenie buncnej steny *Chlorella vulgaris* sa použilo 0,5 ml riedeného enzýmového systému (1 : 5)

slimáka (*Helix pomatia*), pripraveného z tráviaceho traktu a 50 mM citrát-fosfátového pufru o pH 6,0. Po 8 hodinách prebiehu reakcie pri 30 °C je ďalšie spracovanie reakčnej zmesi také, ako je uvedené v príklade 1. Rádiochemický výťažok D-xylózy je ako v príklade 1.

Príklad 3

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

Príklad 4

Postupovalo sa tak, ako v príklade 1, s tým rozdielom, že namiesto zelenej riasy *Chlorella vulgaris* sa použila červená riasa *Porphyridium cruentum*. Rádiochemický výťažok bol 0,205 kBq (1 %).

Príklad 5

Postupovalo sa tak, ako v príklade 2, s tým rozdielom, že namiesto zelenej riasy *Chlorella vulgaris* sa použila červená riasa *Porphyridium cruentum*. Rádiochemický výťažok D-xylózy bol taký, ako v príklade 4.

Vynález má význam pre prípravu ($U-^{14}C$) D-xylózy, 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-xylózy, vyznačujúci sa tým, že na celé bunky rias, s výhodou zelených, modrozelených alebo červených nakultivovaných v prostredí kyslíčnika uhlíčitého značeného ^{14}C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu celulózy, xylanázy a β -D-xylozidázy pufrovaným na pH hodnotu 4,5 až 6,0, pričom uvoľnená ($U-^{14}C$) D-xylóza sa získa z roztoku chromatografiou na papieri.