



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

209 570

(11) (B 1)

(51) Int. Cl. <sup>3</sup> C 07 H 3/02

(61)

(23) Výstavná priorita  
(22) Prihlášené 29 02 80  
(21) PV 1401-80

(40) Zverejnené 27 02 81  
(45) Vydané 15 02 82

(75)

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

(54) Spôsob prípravy (U - <sup>14</sup>C) celobiózy

Vynález rieši spôsob prípravy  
(U - <sup>14</sup>C) značenej celobiózy.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že sa na celé bunky riasy Chlorella nakultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného <sup>14</sup>C rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu celulózy pufrovaným na pH 4,5 až 6, pričom uvoľnená celobióza (U - <sup>14</sup>C) sa získa z roztoku papierovou chromatografiou.

Vynález má význam pre prípravu (U - <sup>14</sup>C) značenej celobiózy, zaujímavej z hľadiska chémie a biochémie sacharidov a pre bakteriologickú a klinickú prax.

Vynález rieši spôsob prípravy (U -  $^{14}\text{C}$ ) značenej celobiózy hydrolytickým natrávením bunečných stien riasy *Chlorella* účinkom enzýmu celulózy (EC 3.2.1.4,  $\beta$ -1,4-glukán glukano-hydroláza) po predchádzajúcej kultivácii riasy *Chlorella* v prostredí  $^{14}\text{C}$  značeného kyslíč-níka uhličitého.

Z biochemických metód prípravy (U -  $^{14}\text{C}$ ) značených mono- a oligosacharidov je popisova-ná príprava (U -  $^{14}\text{C}$ ) D-glukózy (čs. AO č. 189 471), (U -  $^{14}\text{C}$ ) maltózy (čs. AO č. 187 882) (U -  $^{14}\text{C}$ ) D-glukónovej kyseliny (čs. AO č. 188 626) a (U -  $^{14}\text{C}$ )  $\alpha$ -D-glukopyranozylfosfátu (čs. AO č. 194 587), pričom základnou východiskovou látkou pre prípravu týchto sacharidov bol intracelulárny  $\alpha$ -1,4 (6) glukán (U -  $^{14}\text{C}$ ) izolovaný z riasy *Chlorella*, kultivovanej v prostredí  $^{14}\text{C}$  značeného kyslíč-níka uhličitého. Vhodným zdrojom mono- a oligosacharidov sú však aj bunečné steny mikroorganizmov, pričom mono- a oligosacharidy možno z nich uvoľ-niť účinkom vhodných 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 kyslíč-níka uhličitého značeného  $^{14}\text{C}$  rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu celu-lázy pufrovaným na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom uvoľnená celobióza (U -  $^{14}\text{C}$ ) sa získa z roz-toku papierovou chromatografiou.

Výhodou navrhovaného spôsobu prípravy (U -  $^{14}\text{C}$ ) značenej celobiózy je, že:

- využíva doteraz nespracovaný stenový materiál (odpad),
- umožňuje spracovanie zvyšného bunečného materiálu (intracelulárny obsah, nukleové kyseli-ny a pod.) bez zmeny zaužívaného technologického postupu,
- celý postup prípravy je v technickom prevedení veľmi jednoduchý a enzýmy potrebné k hyd-rolytickému 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 50 mM citrát-fosfátového roztoku (pH = 4,5) s rozpustenou celulózou (0,5 mg, 2U) 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 ace-tón-n-butanol-voda, po dobu 16 hodín. Zóna odpovedajúca pohyblivosťou celobióze sa vystrih-a eluuje 30 % vodným roztokom etanolu. Rádiochemický výťažok celobiózy bol 0,97 kBq (5 %).

#### Príklad 2

Postupovalo sa ako v príklade 1, s tým rozdielom, že sa hydrolytické štiepenie buneč-ných stien prevádza 0,5 ml riedeného enzýmového systému (1:5) slimáka (*Helix pomatia*) priprave-ného z tráviaceho traktu 50 mM citrát-fosfátovým pufrom o pH 6,0. Po 8 hodinách priebehu reakcie pri 30 °C je ďalšie spracovanie reakčnej zmesi také, ako je uvedené v príklade 1. Rádiochemický výťažok celobiózy je ako v príklade 1.

## Príklad 3

Postupovalo sa 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.

Vynález má význam pre prípravu (U -  $^{14}\text{C}$ ) značenej celobiózy, 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 -  $^{14}\text{C}$ ) celobiózy, vyznačujúci sa tým, že sa na celé bunky riasy *Chlorella* kultivovanej v prostredí kyslíčnika uhličitého značeného  $^{14}\text{C}$  rádionuklidom pôsobí roztokom enzýmu celulózy pufrovaným na pH hodnotu 4,5 až 6, pričom uvoľnená (U -  $^{14}\text{C}$ ) celobióza sa získa z roztoku chromatografiou na papieri.