



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21)(22) Заявка: 2015113473, 26.09.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
27.09.2012 CZ PV 2012-664

(43) Дата публикации заявки: 20.11.2016 Бюл. № 32

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 27.04.2015(86) Заявка РСТ:
CZ 2013/000116 (26.09.2013)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/048406 (03.04.2014)

Адрес для переписки:

119019, Москва, Гоголевский б-р, 11, этаж 3,
"Гоулингз Интернэшнл Инк.", Гизатуллина
Евгения Михайловна

(71) Заявитель(и):

КОНТИПРО БИОТЕК С.Р.О. (CZ)

(72) Автор(ы):

**КНОРОВА Ленка (CZ),
СМИРНУ Джианис (CZ),
ЛЕЙЕРОВА Вероника (CZ),
КРЧМАР Мартин (CZ),
ФРАНКЕ Лукаш (CZ),
ВЕЛЕБНЫ Владимир (CZ)****(54) ФЕРМЕНТ ГИАЛУРОНАНЛИАЗА, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ, ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ И
СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ГИАЛУРОНАНА****(57) Формула изобретения**

1. Способ получения гиалуронанлиазы, отличающийся тем, что ее получают посредством глубинного культивирования гриба, принадлежащего к роду *Fistulina*, при температуре от 20 до 30°C в течение от 5 до 11 дней.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что грибом, принадлежащим к роду *Fistulina*, является вид *Fistulina hepatica*.

3. Способ по п. 1 или 2, отличающийся тем, что культуральная среда содержит источник углерода, источник азота и неорганические соли.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что источником углерода является сахароза, источником азота является дрожжевой аутолизат, а неорганическими солями являются $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

5. Способ по любому из пп. 1, 2 или 4, отличающийся тем, что фермент выделяют из культуральной среды после удаления мицелия и/или посредством экстракции из мицелия после разрушения мицелия.

6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что фермент по меньшей мере один раз дополнительно промывают при помощи буфера с pH 7,0.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что фермент дополнительно очищают посредством хроматографического разделения.

8. Гиалуронанлиаза, получаемая посредством способа по п. 1 путем глубинного культивирования в культуральной среде гриба, принадлежащего к роду *Fistulina*.

9. Гиалуронанлиаза по п. 8, отличающаяся тем, что грибом рода *Fistulina* является *Fistulina hepatica*.

10. Гиалуронанлиаза по п. 8 или 9, отличающаяся тем, что она обладает оптимальной активностью при pH 4,0 и при температуре 20°C.

11. Применение фермента гиалуронанлиаза, полученного с помощью способа по п. 1 путем культивирования гриба, принадлежащего роду *Fistulina*, для разложения гиалуронана или его производного.

12. Применение фермента гиалуронанлиаза, полученного с помощью способа по п. 1 путем культивирования гриба, принадлежащего роду *Fistulina*, для получения фармацевтических или косметических композиций в качестве вещества, способствующего проникновению веществ в ткани.

13. Способ получения низкомолекулярного гиалуронана, отличающийся тем, что готовят 0,1-10 вес.% водного раствора высокомолекулярной гиалуроновой кислоты, ее соли или ее производного с pH 3,5-8,0, добавляют водный раствор фермента гиалуронанлиаза, полученного способом по п. 1 путем культивирования гриба, принадлежащего роду *Fistulina*, и позволяют протекать реакции при температуре 5-50°C в течение от 1 мин до 30 дней.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что реакции позволяют протекать при pH 4,0 и температуре 20°C в течение 24-168 ч.

15. Способ по п. 13 или 14, отличающийся тем, что высокомолекулярная гиалуроновая кислота, ее соль или ее производное имеет молекулярную массу в пределах 1,5-2,2 МДа.

16. Способ по п. 13 или 14, отличающийся тем, что солью гиалуроновой кислоты является натриевая или калиевая соль, а производным гиалуронана является ацилированный гиалуронан.

17. Способ по п. 13 или 14, отличающийся тем, что к 0,1-10%-ному раствору высокомолекулярной гиалуроновой кислоты, ее соли или ее производного и фермента гиалуронанлиаза добавляют 5-20 mM соли, выбранной из группы, включающей $MgSO_4$, $MnCl_2$, KCl , $CuSO_4$.