



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

для служебного пользования ЭКЗ №

(19) SU (11) 1593232 A1

(51)5 C 12 N 15/56

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ  
ПРИ ГКНТ СССР

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4654868/30-13

(22) 20.01.89

(71) Институт молекулярной биологии и генетики АН УССР

(72) В.А.Кордюм, С.И.Черных, И.Ю.Славченко и В.Г.Коробко

(53) 575.224.2 (088.8)

(56) Кордюм В.А. и др. ДАН СССР т. 225, № 3, с. 760-763, 1980.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ  $\beta$ -ГАЛАКТОЗИДАЗЫ

Изобретение относится к получению ферментных препаратов, например  $\beta$ -галактозидазы из микроорганизмов, и может быть широко использовано для медицинских целей и пищевой промышленности.

Цель изобретения - увеличение целевого продукта, в данном случае  $\beta$ -галактозидазы.

Заражают штамм-продуцент фагом с геном  $\beta$ -галактозидазы и с мутациями, задерживающими лизис штамма-продуцента, способствуя тем самым более длительному функционированию целевого гена,  $\lambda$ plac5CI857Qam117Ram54, причем штамм-продуцент содержит плазмиду с геном  $\beta$ -галактозидазы, инкубация штамма-продуцента после заражения его фагом осуществляется при 37°C в течение 7-12 ч.

Способ осуществляют следующим образом.

Культуру E.coli CA 77 SU<sup>o</sup>, содержащую плазмиду pZ56, кодирующую синтез  $\beta$ -галактозидазы, заражают фагом  $\lambda$ plac5CI857Qam117Ram54, содержащим ген  $\beta$ -галактозидазы, со множественностью 10-

2

(57) Изобретение относится к медицинской и пищевой промышленности и может быть использовано для получения ферментных препаратов, в частности  $\beta$ -галактозидазы. Цель изобретения - увеличение выхода целевого продукта и упрощение способа. Способ заключается в том, что штамм E.coli, содержащий плазмиду pZ 56, заражают фагом  $\lambda$ plac5CI857Qam117Ram54, причем штамм-продуцент содержит плазмиду с геном  $\beta$ -галактозидазы, а инкубация штамма-продуцента после заражения его фагом осуществляется при 34°C в течение 7-17 ч.

50 фаговых корпускул на 1 бактериальную клетку и продолжают культивирование при 37°C в течение 7-12 ч до максимального накопления  $\beta$ -галактозидазы в культуральной жидкости. При таком способе ведения процесса в 1 л культуральной жидкости накапливается до 2 г  $\beta$ -галактозидазы (600 Е в 1 мл).

Пр и м е р. Штамм E.coli 77SU<sup>o</sup> (pZ56) выращивают на среде LB при 37°C в условиях интенсивной аэрации до плотности  $\sim 1 \times 10^8$  кл/мл. Культуру E.coli RLM1 ( $\lambda$ plac5CI857Qam117Ram54) выращивают на среде LB при 30°C в условиях интенсивной аэрации до плотности  $1 \times 10^8$  кл/мл, нагревают до 43°C и продолжают инкубацию при этой температуре 20 мин, затем температуру снижают до 37°C и через  $\sim 1$  ч наступает лизис бактериальных клеток с образованием фага в количестве  $1 \times 10^{10}$  БОЕ/мл. К 40 л культуры E.coli CA77 SU<sup>o</sup> (pZ56), выросшей до плотности  $\sim 1 \times 10^8$  клеток в 1 мл, приливают 10 л фаголизата, содержащего  $\sim 1 \times 10^{10}$  корпускул фага  $\lambda$ plac5CI857Qam117Ram54 в 1 мл.





Таким образом, множественность заражения составляет 25, т.е. на 1 бактериальную клетку приходится 25 корпускул фага. Культивирование продолжают при 37°C в течение 7 ч. Выход  $\beta$ -галактозидазы составил 1,9 в 1 л культуральной жидкости.

**Формула изобретения**

Способ получения  $\beta$ -галактозидазы путем заражения штамма бактерий

5 *Escherichia coli* фагом с геном  $\beta$ -галактозидазы и с мутациями, задерживающими лизис клеток,  $\lambda$  placCI857Qam<sub>117</sub>Ram<sub>54</sub> с последующим культивированием штамма, отличающийся тем, что, с целью повышения выхода  $\beta$ -галактозидазы, фагом заражают штамм, содержащий плазмиду pZ56 с геном  $\beta$ -галактозидазы, а культивирование проводят при 37°C в течение 7–12 ч.

Редактор С.Рекова

Составитель С.Бандрин  
Техред М.Моргентал

Корректор О.Кравцова

Заказ 3000/ДСП

Тираж 318

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР  
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101