



УКРАЇНА

(19) UA (11) 42939 (13) U  
(51) МПК (2009)  
C12N 1/20МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту(54) СПОСІБ ВИРОЩУВАННЯ КУЛЬТУР ПРОМИСЛОВИХ ТА ЛАБОРАТОРНИХ ШТАМІВ *ESCHERICHIA COLI* З ВИКОРИСТАННЯМ ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ЛУРІЯ-БЕРТАНІ

1

2

(21) u200902211

(22) 13.03.2009

(24) 27.07.2009

(46) 27.07.2009, Бюл.№ 14, 2009 р.

(72) ПЕРЕРВА ТАМАРА ПЕТРІВНА, ДВОРНИК  
АНЖЕЛА СТЕПАНІВНА, МИРЮТА ГАННА ЮРІЇВ-  
НА, МОЖИЛЕВСЬКА ЛЮДМИЛА ПЕТРІВНА, КУ-  
НАХ ВІКТОР АНАТОЛІЙОВИЧ(73) ІНСТИТУТ МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ І ГЕНЕ-  
ТИКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ(57) Спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *Escherichia coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані, що містить операцію культивування клітин на живильному середовищі Лурія-Бертані, який **відрізняється** тим, що до живильного середовища Лурія-Бертані додають рідкий екстракт унгернії Віктора до створення концентрації 0,5-10%.

Пропонована корисна модель відноситься до мікробіології та біотехнології, а більш конкретно, до засобів вирощування культур промислових та лабораторних штамів *E.coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані.

Найбільш близьким до варіантів пропонованого способу за сукупністю суттєвих ознак є спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *E.coli*, що містить операцію культивування клітин на живильному середовищі Лурія-Бертані (далі LB-середовище) / Методы генной инженерии. Молекулярное клонирование. Пер. с англ./ Маниатис Т., Фриз Э., Сэмбрук Дж. - М.: Мир, 1984. - С.84/.

Недолік описаного способу полягає у його недостатній продуктивності, зумовленій тим, що LB-середовище містить мінімальний набір компонентів, необхідних для розмноження бактерій, але через відсутність мікроелементів, буферної системи, що підтримує стабільну кислотність - рН, вуглеводів (джерел енергії), не забезпечує максимального можливого накопичення біомаси.

В основу пропонованої корисної моделі поставлено задачу створення такого способу вирощування культур промислових та лабораторних штамів *E.coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані, який би дозволив суттєво підвищити продуктивність способу. Згадана задача вирішується за рахунок створення умов для підтримки здатності культури довше перебувати у стадії логарифмічного росту і виходу її на стаціонарну стадію при більш високій оптичній

густині.

Поставлена задача вирішується пропонованим способом, який, як і відомий спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *E.coli* з використанням живильного середовища Лурія-Бертані, містить операцію культивування клітин на живильному середовищі Лурія-Бертані, а, відповідно до корисної моделі, до живильного середовища Лурія-Бертані додають рідкий екстракт унгернії Віктора до створення концентрації 0,5-10%.

Авторами експериментально виявлений той факт, що додавання екстракту унгернії до середовища сприяє збільшенню виходу біомаси за рахунок створення умов для підтримки здатності культури довше перебувати у стадії логарифмічного росту і виходу її у стаціонарну стадію при більш високій оптичній густині. Оптимальною виявилася концентрація розчину 0,5-10%. При виході за межі згаданої концентрації розчину збільшення виходу біомаси було незначним.

У пропонованому способі використовували екстракт, отриманий із біомаси культивованих клітин унгернії Віктора *Ungernia victoris* Vved. Ex Artjuschenko із сімейства *Amarillidaceae* (штам UV-2, колекційний №10, ККК ІМБіГ НАН України, Київ) - далі екстракт *U.victoris*. Екстракт отримували у вигляді 40%- етанольної витяжки методом перколяції сухої біомаси. Кінцеве співвідношення спирт : біомаса складало 10:1.

Спосіб ілюструється наступними прикладами.  
Приклад 1

(13) U  
(11) 42939  
(19) UA

Вирощування штаму M17 «Колібактерин» - антагоніста патогенних бактерій на LB-середовищі з додаванням екстракту *U.victoris*.

Рідке живильне середовище LB готували наступним чином, аби 1л його містив:

триптон	10г;
дріжджового екстракту	5г;
NaCl	10г;
деіонізованої води	до 1л.

Середовище автоклали при 0,5атм. 30хв.

Штам зберігався у висушеному ліофілізаційному стані. Для одержання інокуляту частину висушеної біомаси аптечного препарату вносили у рідке живильне середовище, вирощували впродовж 18-24год. при 37°C, після чого культуру ресуспендували у співвідношенні 1:100 у такому ж живильному середовищі, розподіляли по пробірках, куди вносили екстракт унгернії Віктора в заданих концентраціях. Як контроль використовували таку ж бактеріальну суспензію без екстракту. Всі культури вирощували протягом 18-24год. при температурі 37°C з аерацією.

Екстракт унгернії Віктора сприяє підвищенню

виходу біомаси штаму M17 до 134,05 і 152,37% при концентраціях екстракту 5 і 10% відповідно (див. табл.).

Приклад 2

Вирощування штаму-реципієнта HB101 на LB-середовищі з додаванням екстракту *U.victoris*.

Процедури приготування живильного середовища та культивування штаму-реципієнта аналогічні описаним у прикладі 1.

Екстракт унгернії Віктора стимулює підвищення виходу біомаси штаму HB101 до 130,58% і 157,89% при концентраціях екстракту 5 і 10% відповідно (див. табл.).

Приклад 3

Вирощування штаму-реципієнта JM109 на LB-середовищі з додаванням екстракту *U.victoris*.

Процедури приготування живильного середовища та культивування штаму-реципієнта аналогічні описаним у прикладі 1.

Екстракт унгернії Віктора стимулює підвищення виходу біомаси штаму JM109 до 136,94; 137,54; 145,95; 170,27 і 209,01% при концентраціях екстракту 0,5; 1; 2; 5 і 10% відповідно (див. табл.).

Таблиця

Вплив різних концентрацій екстракту унгернії Віктора на вихід біомаси штамів M17, HB101, JM109 на середовищі LB

Концентрація екстракту, %	ОГ <sub>550</sub> , % від контролю		
	M17	HB101	JM109
0,5	102,80±4,57	104,26±5,40	136,94±8,22*
1	104,31±5,14	115,04±6,13	137,54±9,14*
2	110,56±5,49	116,04±5,72	145,95±8,99*
5	134,05±8,74*	130,58±8,45*	170,27±9,45*
10	152,37±9,88*	157,89±9,18*	209,01±12,54*

Примітка: \* - P<0,05

Таким чином, зважаючи на наведені вище приклади, запропонований спосіб дозволив суттєво підвищити продуктивність за рахунок створення умов для підтримки здатності культури довше пе-

ребувати у стадії логарифмічного росту і виходу її на стаціонарну стадію при більш високій оптичній густині.