



УКРАЇНА

(19) UA (11) 17960 (13) A(51) 6 C 12 N 1/20ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3768-XII від 23 XII. 1993 р.Публікується  
в редакції заявника

(54) ШТАММ HALOBACTERIUM HALOBIUM KCU-97FF – ПРОДУЦЕНТ БАКТЕРІОРОДОПСИНУ

1

(21) 97020713  
(22) 19.02.97  
(24) 17.06.97  
(46) 31.10.97. Бюл. № 5  
(47) 17.06.97  
(72) Корчагін Владімір Васильєвич (RU)  
(73) Товариство з обмеженою відпові-  
дальністю "Фірма" КонСТІС ЛТД" (UA),  
Статніков Давид Самійлович (UA)

2

(57) Штамм Halobacterium halobium KCU-97FF  
для продуцирования бактериородопсина,  
который депонирован и хранится под номе-  
ром ИМВ В7008 в депозитарии Института  
микробиологии и вирусологии им. Д.К.Забол-  
отного, г.Киев, Украина.

Изобретение относится к микробиоло-  
гии, а именно к штаммам галофильных  
бактерий, которые продуцируют белок бак-  
териородопсин. Галофильные бактерии жи-  
вут в насыщенной солевой смеси южных  
соленых озер. Эти бактерии очень устойчи-  
вы к повреждающим воздействиям: высокой  
температуре, кислотам, щелочам, фотоокси-  
лению и химическим окисляющим агентам.  
Галофильные бактерии состоят на 75% из  
белка бактериородопсина и на 25% из фос-  
фолипидов, заполняющих промежутки меж-  
ду молекулами этого белка.

Бактериородопсин – называют фотосин-  
тетическим белком, который за счет энергии  
света осуществляет активное перемещение  
протонов через мембрану и способствует  
образованию электрохимического потен-  
циала, т.е. является преобразователем свето-  
вой энергии в электрическую на клеточном  
уровне.

Продуцентами бактериородопсина яв-  
ляются известные штаммы галофильных

бактерий, например, штаммы Halobacterium  
halobium. (Реферативный журнал-92, Био-  
технология, № 5, 1992, 5P1315, с.38 [1],  
авт.св. № 770184, кл. С 12 К 1/00, заявлено  
19.06.78 [2]), а также Halobacterium halobium  
distributed sp. nov. Natronobacterium  
pharaonis (Реферативный журнал-91, Био-  
технология, № 5, 1991, 5.97221, с.25 [3]).

Прототипом предложенного изобре-  
тения является штамм Halobacterium halobium  
353 пушинский – продуцент бактериородоп-  
сина [2]. Известный штамм хранится в музее  
культур промышленных микроорганизмов  
Института "ВНИИгенетика" под номером  
ЦМПМ В-1739. Он характеризуется опреде-  
ленными культурально-морфологическими,  
физиолого-биохимическими и энергетиче-  
скими признаками, а именно:

– величина клеток трехсуточной культу-  
ры 2–5х0,5–0,9 мкм, одиночные палочки,  
максимум подвижности 3–3,5 суток, на 4,5  
сутки роста заметно слабое помутнение;

(19) UA (11) 17960 (13) A

– факультативный аэроб, желатину не разжижает, сахарозу, мальтозу, лактозу, фруктозу не подкисляет, лизирует в гипотоническом растворе, при содержании соли менее 16% клетки теряют свою окраску;

– антагонистических свойств не обнаружено.

Этот штамм является стабильным источником продуцирования бактериородопсина.

Однако время достижения максимального выхода бактериородопсина достаточно продолжительное – 70–80 часов, а выход бактериородопсина составляет не более 2,5 мкмоль/г.

В основу изобретения поставлена задача создать штамм *Halobacterium halobium*, который обеспечивает ускорение и повышение выхода бактериородопсина путем совершенствования его культурально-морфологических, физиолого-биохимических и энергетических признаков. Технический результат достигается благодаря созданию нового штамма *Halobacterium halobium* KCU-97FF – продуцента бактериородопсина, который депонирован и хранится в депозитарии Института микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного, г.Киев, Украина под (номер штамма ИМВ В7008).

Новый штамм характеризуется следующими культурально-морфологическими, физиолого-биохимическими и энергетическими признаками.

Культурально-морфологические признаки.

Величина клеток трехсуточной культуры – 6х0,6–1,0 мкм, одиночные палочки.

Мясопептонный бульон.

На 4,5 сутки роста слабые помутнения.

Мясопептонный агар.

Малопрозрачные колонии с неравномерными краями, хорошо снимаются петлей.

Среда Гиббонса и Шегала.

Полупрозрачные колонии красно-фиолетового цвета с неравномерными краями, в среду слабо вырастают, хорошо снимаются петлей.

Среда Онисхи.

Слабо прозрачные колонии красно-фиолетового цвета, хорошо снимаются петлей.

Физиолого-биохимические признаки.

Факультативный аэроб.

Желатину не разжижает, сахарозу, мальтозу, лактозу, фруктозу не подкисляет. На картофеле не растет.

Лизирует в гипотоническом растворе при содержании соли менее 16%, при концентрации соли ниже 18% клетки теряет свою окраску.

Энергетические признаки.

Уровень термогенеза составляет 0,7–0,8 кал/сек/л.

Сравнение признаков, характеризующих новый штамм и штамм-прототип, показывает, что общими признаками являются некоторые физиолого-биохимические признаки (факультативный аэроб, желатину не разжижает, сахарозу, мальтозу, лактозу, фруктозу не подкисляет), а также отсутствие антагонистических свойств.

Отличие в характеристике рассматриваемых штаммов определяется культурально-морфологическими и энергетическими показателями, а именно: у нового штамма больше величина клеток трехсуточной культуры, максимум подвижности наступает быстрее, а термогенез проходит менее активно.

Технический результат заключается в увеличении выхода конечного продукта, ускорении процесса его продуцирования и достигается за счет всей совокупности культурально-морфологических, физиолого-биохимических и энергетических признаков.

**Пример 1.** Культуру галофильных бактерий *Halobacterium halobium* KCU-97FF выращивают в плоском фотореакторе объемом 10 л с заполнением 5 л при 38°C, pH 7,2. Питательную среду для посевного материала готовят следующего состава, г/л: 250 г хлористого натрия, 20 г сернокислого магния, 2 г хлористого калия, 3 г лимоннокислого натрия (трехзамещенного), 10 г ферментализата бесклеточного осветленного, 0,5 г дрожжевого экстракта. При достижении в фотореакторе температуры 39°C засевают 0,75 л среды культуры из колб. Включают аэрацию воздухом и освещение лампами дневного света. Время выращивания 3 суток при контроле процесса по термогенезу. Далее культуральную жидкость центрифугируют при 15 тыс. об/мин в течение 20 минут. Выделяют бактериородопсин по известной методике. Выход конечного продукта – 3,2 мкмоль/г.

**Пример 2.** Культуру галофильных бактерий *Halobacterium halobium* KCU-97FF выращивают в плоском фотореакторе объемом 10 л с заполнением 5 л при 40°C, pH 7,4. Питательную среду для посевного материала готовят следующего состава, г/л: 255 г хлористого натрия, 25 г сернокислого магния, 2,5 г хлористого калия, 2,5 г лимоннокислого натрия (трехзамещенного), 9 г ферментализата бесклеточного осветленного, 0,3 г дрожжевого экстракта, помещают. При достижении в фотореакторе температуры 39°C засевают 0,75 л от 5 л

среды культуры из колб. Включают аэрацию воздухом и освещение лампами дневного света. Время выращивания 2 суток при контроле процесса по термогенезу. Далее культуральную жидкость центрифугируют при 15 тыс. об/мин в течение 20 минут. Выделяют бактериородопсин по известной методике. Выход конечного продукта – 3 мкмол/г.

Разработанный штамм благодаря своим свойствам обеспечивает выход бактериородопсина 3–3,5 мкмол/л, а время получения – 50–60 часов. Следовательно, новый штамм

как продуцент бактериородопсина является более производительным: большее количество (на 20–30%) конечного продукта получают за меньший (на 15–20 часов) период времени. Получаемый бактериородопсин отличается высокой стабильностью и устойчивостью. Этот белок благодаря способности под действием света генерировать электрический ток, преобразовывать и хранить оптическую информацию, может использоваться при создании электронных компонентов в оптических компьютерах, процессорах и цифровых накопителях информации.

---

Упорядник

Техред Є.Копча

Коректор М. Самборська

---

Замовлення 4259

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

---

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101

