



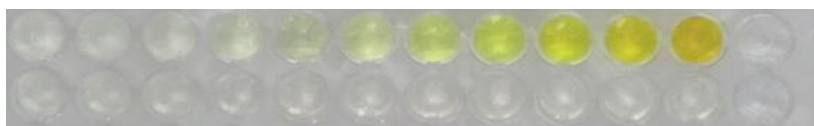
Żelatynowe matryce hydrożelowe jako barwne testy do detekcji enzymu β -galaktozydazy

Przedmiotem oferty technologicznej jest sposób wytwarzania i wykorzystania żelatynowych matryc hydrożelowych jako nowego, prostego oraz szybkiego testu do wykrywania enzymu β – galaktozydazy odpowiedzialnego za rozkład laktozy. Test ten można wykorzystać do detekcji oraz oceny aktywności enzymu w hodowlach mikrobiologicznych, jak również podczas produkcji preparatów B-galaktozydazy przeznaczonych do użytku między innymi w przemyśle mleczarskim.

Wynalazek został zgłoszony do ochrony pod numerem P421412, jak również spisane zostało poufne know-how.

SZCZEGÓŁY TECHNICZNE

Procedura otrzymywania żelatynowych matryc hydrożelowych polega na reakcji sieciowania roztworu żelatyny o zadanym pH, zawierającego syntetyczny substrat ONPG, w obecności czynnika sieciującego. W wyniku zachodzącej reakcji cały związek (ONPG) jest immobilizowany metodą pułapkowania w sieci żelu. Unieruchomiony w ten sposób substrat wykazuje zdolność konwersji w obecności β – galaktozydazy do barwnego (żółtego) produktu - *ortho*-nitrofenolu. Dzięki wysokiej selektywności test może zostać wykorzystany do detekcji β - galaktozydazy w płynnych hodowlach mikrobiologicznych, zawierających mieszaninę białek o różnych właściwościach katalitycznych. Sposób przeprowadzenia testu polega na aplikacji analizowanego roztworu na matrycę hydrożelową umieszczoną uprzednio w probówkach Eppendorf lub na płytkach szklanych/ dołkowych. Obecność enzymu β -galaktozydazy obserwuje się jako zmianę zabarwienia matrycy z bezbarwnej na żółtą. Wynalazek został przetestowany na skalę laboratoryjną w probówkach Eppendorf jak również na płytkach szklanych i mikrolitrowych płytkach dołkowych.



Rysunek 1. Test na obecność enzymu przeprowadzony w dołkach mikrolitrowych



Rysunek 2. Test na obecność enzymu przeprowadzony w probówkach Eppendorf

Technologia została przetestowana na poziomie laboratoryjnym.

ZASTOSOWANIA /RYNKI

Docelową grupą odbiorców wynalazku są producenci testów diagnostycznych stosowanych w przemyśle spożywczym, a także odczynników do analiz, w szczególności znajdujących zastosowanie w określaniu czystości preparatów enzymatycznych oraz analizach płynnych hodowli mikrobiologicznych pod kątem obecności enzymu – β -galaktozydazy. Przedstawiona technologia może zostać zastosowana do:



- ✓ barwnego testu w procesie uzyskiwania komercyjnych preparatów enzymatycznych β -galaktozydazy. Preparaty te wykorzystywane są głównie w przemyśle mleczarskim, w szczególności podczas procesu wytwarzania produktów z niską zawartością laktozy.
- ✓ barwnego testu w badaniu czystości preparatów enzymatycznych podczas produkcji
- ✓ izolacji rekombinowanego enzymu, oczyszczania i produkcji białek – oznaczanie aktywności enzymu poprzez porównanie koloru po reakcji, między poszczególnymi próbkami i z kontrolą negatywną – lizatem z bakterii, w którym enzym ten w ogóle nie jest produkowany
- ✓ różnicowania mikroorganizmów np. podczas reakcji fermentacji laktozy

INNOWACYJNOŚĆ/KORZYŚCI

Żelatynowe matryce hydrożelowe, dzięki dużym rozmiarom łączących się ze sobą porów, umożliwiają dużym cząsteczkom docelowym szybki transport do wnętrza żelu i związanie się z immobilizowanymi w jego objętości biomolekułami. Do głównych zalet żelatynowych matryc hydrożelowych zawierających ONPG (orto- β -D-galaktopiranozyd) w myśl wynalazku należą:

- ✓ efektywna detekcja enzymu o stężeniu $> 0,6 \text{ mg/dm}^{-3}$
- ✓ zastosowanie w szerokim zakresie pH 4,0-9,0
- ✓ bardzo krótki czas oczekiwania na wynik wynoszący maksymalnie 30 minut
- ✓ łatwa i szybka procedura wykonania testu - poniżej 1 minuty
- ✓ dla pH w zakresie 6-9 wynik widoczny już po 10 minutach
- ✓ krótki czas inkubacji próbki od 2 - 20 minut w przypadku roztworu buforowego enzymu
- ✓ trwałość matrycy z „zamkniętym substratem” do 90 dni potwierdzona dla przechowywania w 4°C
- ✓ intensywność barwy pozwalająca na wstępną ocenę ilościową enzymu
- ✓ niski koszt wykonania testu w warunkach laboratoryjnych 14 PLN

STATUS IP

- Zgłoszenie patentowe
- Patent
- Know-how
- Inne

FORMA KOMERCJALIZACJI

- Sprzedaż
- Umowa wdrożeniowa
- Udzielenie licencji
- Spin off
- Inna umowa

POZIOM GOTOWOŚCI WDROŻENIOWEJ

- Koncepcja i model teoretyczny
- Eksperymentalna walidacja koncepcji
- Wstępna technologia / demonstrator
- Testy w warunkach laboratoryjnych
- Testy w warunkach rzeczywistych
- Finalna technologia / prototyp
- Technologia zweryfikowana w warunkach operacyjnych

KONTAKT

Anna Szczypka

Wrocławskie Centrum Transferu Technologii

tel.: 71 320 43 51 / anna.szczypka@pwr.edu.pl

ul. Smoluchowskiego 48 / 50-372 Wrocław

