



## Żelatynowe matryce hydrożelowe jako barwne testy do detekcji enzymu $\beta$ -galaktozydazy

Przedmiotem oferty technologicznej jest sposób wytwarzania i wykorzystania żelatynowych matryc hydrożelowych jako nowego, prostego oraz szybkiego testu do wykrywania enzymu  $\beta$  – galaktozydazy odpowiedzialnego za rozkład laktozy. Test ten można wykorzystać do detekcji oraz oceny aktywności enzymu w hodowlach mikrobiologicznych, jak również podczas produkcji preparatów  $\beta$ -galaktozydazy przeznaczonych do użytku między innymi w przemyśle mleczarskim. Wynalazek został zgłoszony do ochrony pod numerem P421412.

### 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  $\beta$  – galaktozydazy do barwnego (żółtego) produktu - *orto*-nitrofenolu. Dzięki wysokiej selektywności test może zostać wykorzystany do detekcji  $\beta$  - 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  $\beta$ -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 –  $\beta$ -galaktozydazy. Przedstawiona technologia może zostać zastosowana do:



- ✓ barwnego testu w procesie uzyskiwania komercyjnych preparatów enzymatycznych  $\beta$ -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- $\beta$ -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  $4^{\circ}\text{C}$
- ✓ 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](mailto:anna.szczypka@pwr.edu.pl)

ul. Smoluchowskiego 48 / 50-372 Wrocław



Politechnika Wrocławska



Wrocławskie Centrum  
Transferu Technologii



Fundusze  
Europejskie  
Inteligentny Rozwój

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI FUNDUSZ  
ROZWOJU REGIONALNEGO

