



(12) Wirtschaftspatent

(11) DD 243 045 B1

Teilweise bestätigt gemäß § 18
Absatz 1 Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 P 13/00
C 12 P 21/00
C 12 N 1/00

DEUTSCHES PATENTAMT

| | | | | | |
|------|-----------------------|------|----------|------|----------|
| (21) | DD C 12 P / 283 321 6 | (22) | 27.11.85 | (45) | 14.08.91 |
| | | | | (44) | 18.02.87 |

(72) Heine, Willi, Prof. Dr. sc. med.; Wutzke, Klaus-Dieter, Dr. rer. nat.; Friedrich, Manfred, Dr. sc. nat., DE
(71) Universität Rostock, Direktorat für Forschung, Schwaansche Straße 2, O - 2500 Rostock, DE

(54) Verfahren zur Herstellung von hochangereicherten [¹⁵N]-Amino-Säuregemischen und/oder niedermolekularen [¹⁵N]-Peptidgemischen

(57) Das technische Problem lag in der Gewinnung eines durch den Gastrointestinaltrakt vollständig resorbierbaren [¹⁵N]Aminosäure-Peptidgemisches. Die Lösung des Problems erfolgte dadurch, daß die Hefezellen durch Mahlbehandlung in einer Zelmühle bei einem pH-Wert von 8 bis 9 behandelt werden, anschließend eine Zentrifugation vorgenommen und im Supernatant des Hefeprotein mit Trichloressigsäure isoelektrisch gefällt wird, daß danach in an sich bekannter Weise die Hydrolyse des Hefeproteins in wäßrigem Medium nach pH-Einstellung im Bereich von 7 bis 8,5, vorzugsweise 7,5, und nach dem Aufkochen der Lösung bei einer Temperatur von 40 bis 60°C, vorzugsweise 55°C, mit Thermitase, einer bekannten Protease aus *Thermoactinomyces vulgaris*, erfolgt, danach eine Inaktivierung durch Erhitzen auf 100°C vorgenommen wird und unerwünschte ungelöste Stoffe abgetrennt und ggf. die niedermolekularen [¹⁵N]Peptide und [¹⁵N]Aminosäuren aus der Lösung isoelektrisch ausgefällt werden. Das Anwendungsgebiet dieses hochangereicherten [¹⁵N]Aminosäuregemisches erstreckt sich vorwiegend auf Proteinumsatzmessungen und Untersuchungen zur intestinalen Verdauung und Absorption an Menschen (sowohl Erwachsenen als auch Säuglingen und Frühgeborenen) und Tieren. Es gelingt damit, Proteinstoffwechselfparameter sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin exakter als mit der konventionellen Applikation von [¹⁵N]Glycin, kostengünstiger als mit einem Gemisch synthetisch gewonnener [¹⁵N]Aminosäuren und verlustloser als mit einem [¹⁵N]Hefeprotein bzw. dessen Pepsin-Trypsin-Hydrolysat zu bestimmen. ¹⁵N-markierte Oligopeptidgemische können außerdem als Substrat für intestinale Digestions- und Absorptionsversuche dienen.