

ABSTRAKT

Extracelulární α -*N*-acetylgalaktosaminidasa byla izolována hlavně ze zvířecích zdrojů a minimálně z mikrobiálních zdrojů (*Clostridium perfringens*, *Aspergillus niger*, *Acremonium* sp. No. 413). Kultivace patogenní bakterie *Clostridium perfringens* je obtížná, protože vyžaduje anaerobní podmínky. Produkční kmeny *Aspergillus niger* a *Acremonium* sp No. 413 nejsou veřejně dostupné a mimoto není zcela jisté, že jsou oba kmeny správně taxonomicky determinovány.

Proto byl proveden screening producentů α -*N*-acetylgalaktosaminidasy vybraných kmenů mikroskopických vláknitých hub z veřejně dostupných sbírek (CCF a CCIM). Za aerobních podmínek byly houby kultivovány v submersním médiu obsahující sójovou mouku jako zdroj uhlíku. Potencionálně dobří producenti α -*N*-acetylgalaktosaminidasy jsou zástupci rodu *Aspergillus* ze sekce *Nigri* a nejlepším producentem α -*N*-acetylgalaktosaminidasy byl *Aspergillus niger* CCIM K2.

α -*N*-Acetylgalaktosaminidasa izolovaná z *Aspergillus niger* CCIM K2 je relativně stabilní v rozmezí pH 2 – 6 a její stabilita při teplotě 35 °C se vzrůstající hodnotou pH klesá. **pH Optimum enzymu je 1,5 při teplotě 35 °C.** Teplotní optimum enzymu je 55 °C při pH 2,5 a 45 °C při pH 1,5. Enzym v přítomnosti redučních činidel merkaptoethanolu a dithiothreitolu vykazuje vysokou stabilitu. Enzym v koncentrovaných roztocích neztrácí aktivitu ani po 14 dnech uchovávání při teplotě 4 °C. Enzym akceptoval *p*NP- α -GalpNAc a *o*NP- α -GalpNAc jako své substráty.

α -*N*-Acetylgalaktosaminidasa z *Aspergillus niger* CCIM K2 byla v kombinaci katexové (Fractogel EMD SO₃⁻ (S)) a gelové chromatografie (Sephacryl S-200 a Superdex 200) purifikována. Přesto byla v purifikovaném podílu přítomna vedlejší α -galaktosidasová aktivita, která může být způsobena částečnou nespecifitou α -*N*-acetylgalaktosaminidasy, nebo kontaminací α -galaktosidasou. Metodou SDS-PAGE bylo zjištěno, že molekulová velikost majoritní denaturované jednotky α -*N*-acetylgalaktosaminidasy je kolem 116 kDa.