



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Marta Jankowska
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu/Katedra Biotechnologii i
Mikrobiologii Żywności

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Wpływ zmian w sekwencji nukleotydowej genu *dhaT* z *Clostridium butyricum* na aktywność oksydoreduktazy 1,3-propanodiolu

Geneza problemu badawczego zasadza się na potrzebie produkcji biopaliw (biodiesel). W procesie jego produkcji powstają bardzo duże ilości odpadowego związku o nazwie glicerol. Celem projektu „Biotechnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksylowych”, w ramach którego realizowana jest niniejsza praca jest stworzenie wydajnej technologicznie i ekonomicznie konwersji odpadowego glicerolu do 1,3-propanodiolu (1,3-PD), erytrytolu oraz kwasów bursztynowego i fumarowego, które są surowcem do produkcji sztucznych tworzyw (syntetycznych polimerów) oraz dla przemysłu spożywczego i farmaceutycznego.

Znane są mikroorganizmy zdolne do mikrobiologicznej syntezy 1,3-PD z glicerolu i opisany został prowadzony przez nie proces metabolizowania glicerolu (proces dysymilacji), jednakże jak dotąd nie została jeszcze opracowana wydajna i ekonomiczna technologia produkcji 1,3-PD z wykorzystaniem biokatalizatorów (np. enzymów lub mikroorganizmów w formie zawiesiny bądź unieruchomione). Zainteresowanie biotechnologów zastosowaniem enzymów w procesach syntez chemicznych spowodowane jest właściwościami tych biomolekuł takimi jak: wysoka specyficzność katalizowanych reakcji, chemo- oraz regio- selektywność a także enancjoselektywność. Enzymy umożliwiają przeprowadzenie reakcji z dużą szybkością w środowisku wodnym, w łagodnych warunkach ciśnienia i temperatury. Warunki te są przyjazne dla środowiska ze względu na niski pobór energii, co jest problemem przemysłu chemicznego, szczególnie petrochemicznego opartego na ropie naftowej. Znane i powszechnie wykorzystywane są metody opracowywania modyfikowanych mikroorganizmów posiadających nowe szlaki metaboliczne umożliwiające przekształcanie surowców odnawialnych do szerokiej gamy chemikaliów i paliw. Jednakże aby konkurować z surowcami kopalnymi proces musi być odpowiednio wydajny. Niektóre z ograniczeń w inżynierii metabolicznej można przezwyciężyć stosując inżynierię enzymów składowych.

Istotnym problemem nie pozwalającym na wydajną produkcję 1,3-PD z użyciem biokatalizatorów jest niedostateczna aktywność enzymu oksydoreduktazy 1,3-propanodiolu. Enzym ten jest jednym z dwóch odpowiedzialnych za konwersję glicerolu do 1,3-PD. Niedostateczna jego aktywność prowadzi do akumulacji 3-hydroksypropanalu (3-HPA), który jest toksycznym produktem pośrednim w szlaku redukcyjnym fermentacji glicerolu. Jego akumulacja powoduje nieodwracalne zatrzymanie procesów fermentacyjnych i procesów wzrostu. Ponadto enzymy szlaku są wrażliwe na wysokie stężenia 3-HPA. Wzrost stężenia 3-HPA powoduje obniżenie aktywności oksydoreduktazy 1,3-propanodiolu i dalszą akumulację 3-HPA. (tę część zdania).

Udoskonalanie enzymów technikami mutagenizacji w warunkach *in vitro* wykorzystywane w wielu ośrodkach naukowych, pozwala na uzyskanie nowych biokatalizatorów lepiej spełniających swoje funkcje. Technika ta wykorzystywana była już do uzyskiwania enzymów o wyższej aktywności enzymatycznej. Polega ona na zastosowaniu: przypadkowej mutagenyzy, technologii rekombinacji DNA oraz przeszukiwania uzyskanych nowych białek w celu wybrania wariantów o pożądanych właściwościach.

Prowadzone przeze mnie badania przyczynią się do wytworzenia nowych enzymów o znaczeniu przemysłowym. Badania mają na celu uzyskanie w warunkach laboratoryjnych nowej, wydajniejszej cząsteczki białka zaangażowanego w szlak dysymilacji glicerolu do 1,3-propanodiolu. Jest to bardzo silny aspekt praktyczny, umożliwiający zastosowanie biokatalizatorów w reakcjach syntezy. Ponadto wyniki badań uzyskane w pracy przyczynią się do zwiększenia stanu wiedzy nad wpływem sekwencji nukleotydowej na aktywność enzymatyczną białka. Uzyskane nowe cząsteczki poszerzą ogólną dostępną bazę danych sekwencji nukleotydowych Narodowego Centrum Informacji Biotechnologicznej USA. Dane te będą mogły być wykorzystywane przez firmy bioinformatyczne w analizach strukturalnych enzymatycznych cząsteczek białkowych oraz w celach projektowania *In silico* aktywnych enzymów. Ponadto poszerzą bazę danych pozwalających na projektowanie strukturalne nowych cząstek, tworzeniu nowych biokatalizatorów, umożliwiających przeprowadzenie reakcji niemożliwych dotąd do przeprowadzenia, co z kolei przydaje się do tworzenia nowych substancji.