

Ludzkość wykorzystywała biokatalizatory już od wielu wieków, nie znając ani natury, ani mechanizmu ich działania. Już w czasach starożytnych używane były do produkcji wina, piwa, pieczywa, serów, sosu sojowego, itp. Na początku XIX wieku pojawiły się doniesienia stopniowo charakteryzujące mechanizmy rządzące tymi procesami i dopiero w 1878 roku termin „enzym” został użyty po raz pierwszy. Obecnie szacuje się, że poznanych jest ponad 3 tysiące enzymów, a dogłębne poznanie wielu z nich pozwoliło na zaprojektowanie procesów biokatalizy, w wyniku których, w powtarzalnych warunkach otrzymuje się produkty wysokiej jakości.

W ostatnich latach enzymy zimnolubne, psychrofilne i psychrotropowe, zaczynają konkurować z enzymami mezofilnymi i termofilnymi w wielu gałęziach przemysłu, szczególnie spożywczego i farmaceutycznego. Wraz ze wzrostem dostępności do enzymów zimnolubnych poszerza się wiedza na ich temat. Jednak nadal mechanizm przystosowania enzymów do zimna nie został kompleksowo scharakteryzowany. Trudno też przeprowadzić dogłębną analizę tego zagadnienia, gdyż na tę chwilę zdeponowanych w Bazie Struktur Białkowych (PDB) jest zaledwie około 40 struktur przestrzennych enzymów zimnolubnych na 120 tysięcy zdeponowanych struktur makrocząsteczek.

Rozwój przemysłu jest uzależniony od wprowadzania nowych technologii, w których rolę katalizatorów reakcji chemicznych pełnią enzymy. Posiadając jak najwięcej informacji dotyczących ich aktywności katalitycznej i specyficzności działania można zaprojektować reakcje katalizowane enzymatycznie z odpowiednią szybkością, w zaplanowanych warunkach uzyskując pożądany produkt z dużą wydajnością, a w przypadku wykorzystania enzymów zimnolubnych dodatkowo przy zmniejszonych nakładach energetycznych.

Celem projektu jest określenie struktur krystalicznych kilku zimnolubnych enzymów, w tym czterech hydrolaz i dwóch transferaz. Analiza otrzymanych struktur przestrzennych tych enzymów, zarówno w formie *apo* bądź mutantów, jak i kompleksów z substratami/ produktami i inhibitorami, pozwoli na scharakteryzowanie ich centrów katalitycznych oraz strukturalnych czynników wpływających na ich przystosowanie do katalizowania reakcji w niskiej temperaturze.

Główne badania będą opierały się na otrzymaniu kryształów wybranych enzymów zimnolubnych, pomiarze dyfrakcyjnym tychże kryształów z wykorzystaniem rentgenowskiego promieniowania synchrotronowego, procesowaniem danych dyfrakcyjnych z kilkudziesięciu pomiarów, rozwiązaniem i udokładnianiem tych struktur, ich walidacją i zdeponowaniem najlepszych z nich w Bazie Struktur Białkowych (PDB). Badane zimnolubne enzymy będą otrzymywane w dwóch zespołach, z którymi współpracujemy: prof. M. Turkiewicz z Instytutu Biochemii Technicznej Politechniki Łódzkiej oraz prof. J. Kura z Katedry Mikrobiologii Politechniki Gdańskiej. Część z białek będziemy musieli nadprodukować w swoim laboratorium według opracowanej przez te zespoły procedury. Na sześć zaplanowanych do badań w projekcie enzymów, mamy już ustalone warunki krystalizacyjne dla czterech z nich: β -D-galaktozydazy z *Paraccocus* sp. 32d, β -D-galaktozydazy z *Arthrobacter* sp.32cB, aminotransferazy z *Psychrobacter* sp. B6 i MTA fosforylazy z metagenomowej biblioteki ziemi Antarktycznej, a dla trzech z nich posiadamy już dane strukturalne formy natywnej.

Poznanie struktur przestrzennych enzymów aktywnych w niskiej temperaturze pozwoli na identyfikację cech strukturalnych odpowiedzialnych za tę właściwość. Możliwe będzie również porównanie z ich analogami z organizmów mezofilnych i termofilnych. Uzyskane z określonych struktur przestrzennych informacje wzbogacą wiedzę podstawową o enzymach i dodatkowo mogą posłużyć do projektowania enzymów o specyficznych właściwościach, określonej specyfice substratowej i zdolności działania w niskich temperaturach, które potencjalnie mogą być wykorzystane w procesach biotechnologicznych.