

Bakteria *Aromatoleum aromaticum* to niezwykle wszechstronny mikroorganizm, zdolny do życia zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Badania genetyczne wykazały, że bakteria ta jest niezwykle wszechstronna i może „spożywać” (czyli wykorzystywać jako źródło węgla i energii) szereg dość egzotycznych i toksycznych dla większości organizmów substancji, takich jak toluen, etylobenzen, p-krezol, aceton, kwas benzoesowy, fenol czy aminokwasy aromatyczne. O ile w warunkach tlenowych *A. aromaticum* wykorzystuje typowe enzymy, znane z innych organizmów tlenowych, to już w warunkach beztlenowych musi radzić sobie w sposób znacznie bardziej oryginalny. Większość bowiem metod metabolizowania węglowodorów polega na ich utlenianiu za pomocą  $O_2$ . W takich reakcjach pozyskiwana jest niezbędna do życia energia oraz powstają potrzebne chemiczne cegiełki (jak np. acetylo-CoA), potrzebne do syntezy ważnych elementów komórki (takich jak tłuszcze, aminokwasy, zasady nukleinowe, cukry, kofaktory). Chociaż sama cząsteczka tlenu nie jest zbyt reaktywna, istnieją specjalne enzymy, które potrafią go aktywować i prowadzić reakcję utlenienia w bardzo skuteczny sposób. Enzymy takie, często wykorzystujące atom żelaza, kofaktor hemowy lub flawinowy, są rozpowszechnione we wszystkich formach życia (od bakterii aż po zwierzęta i ludzi)

W warunkach beztlenowych sytuacja jest znacznie bardziej skomplikowana, gdyż nie można wykorzystać powszechnie dostępnego na naszej planecie utleniacza –  $O_2$ . Dlatego bakterie, które żyją w takich warunkach, wypracowały zupełnie inne strategie katalityczne (lub też zachowały stare dobre sposoby, z czasów gdy na naszej planecie występowały zupełnie inne warunki). Enzymy takie również katalizują reakcje utleniania związków organicznych, dostarczając bakteriom energii i cegiełek budulcowych, ale w swoim centrum aktywnym posiadają często specjalne kofaktory zdolne do pozyskiwania atomu tlenu z wody i dzięki reakcjom redoks (przenoszenia elektronów) są w stanie przenieść go na cząsteczkę węglowodoru.

Jednym z takich rozwiązań umożliwiających prowadzenie tego typu reakcji są tak zwane kofaktory metalopterynowe molibdenu bądź wolframu. Są to dość skomplikowane kompleksy atomu Mo lub W, umieszczone wewnątrz białka, których właściwości chemiczne ułatwiają dwuelektrodową reakcję redoks, potrzebną do zamiany atomu tlenu z cząsteczki  $H_2O$  w reaktywny ligand  $Mo=O$  lub  $W=O$ , a następnie do aktywowania węglowodoru i przeniesienia do niego atomu tlenu.

Obiektem projektu jest oksydoreduktaza wolframowa aldehydów (AOR) – enzym utleniający aldehydy do kwasów karboksylowych w warunkach beztlenowych. W reakcji redoks tlen pochodzi z cząsteczki wody, zaś elektrony, pozyskane z aldehydowego substratu, transportowane są swoistym molekularnym przewodem (złożonym z centrów żelazo-siarkowych) do specjalnego białka służącego do przenoszenia elektronów – ferredoksynę. Atom wolframu to najcięższy pierwiastek występujący w organizmach żywych i dość mało wiadomo na temat biochemii kofaktora wolframowego, pomimo tego, że poznano jego strukturę ponad 20 lat temu. Również w przypadku enzymu AOR nie za bardzo jasna jest jego rola fizjologiczna w *A. aromaticum*, mechanizm katalizowanej przez niego reakcji czy nawet dokładna struktura enzymu i kofaktora. W projekcie zamierzam przyjrzeć się bliżej enzymowi AOR, sprawdzić jakie substraty z jaką szybkością jest w stanie utleniać, przebadać szczegółowo kinetykę reakcji w zależności od temperatury, pH, stężenia substratów i reutleniaczy enzymu, które w laboratorium zastępują ferredoksynę. Będę również starać się uzyskać kryształ AOR i poznać dokładną jego strukturę dzięki metodom rentgenograficznym, tak aby ostatecznie możliwe było zaprzęgnięcie najnowocześniejszych metod obliczeniowych i wykorzystanie polskiej sieci superkomputerów PL-Grid do zgłębienia tajemnic katalitycznych tego enzymu.

Zgłębienie tych tajemnic jest niezwykle istotne dla naszego rozumienia metabolizmu bakterii, które poniekąd sprzątają po naszej cywilizacji, pieczołowicie metabolizując wysięki ropy pod stacjami benzynowymi i rafineriami, czyszcząc dna rzek i jezior z toksycznych produktów przemysłowych, czy oczyszczając miejskie ścieki. Co więcej nietypowe strategie katalityczne wykorzystywane w warunkach beztlenowych czasami okazują się niezwykle interesujące dla przemysłu biotechnologicznego, w szczególności zaś przy syntezie drogich związków do produkcji leków. Ale przede wszystkim poznanie tych dziwnych enzymów to bardzo ciekawe wyzwanie – w pewnym sensie daje możliwość badania życia jak nie z tej planety, bez potrzeby lotu kosmicznego ku innym gwiazdom.