

Badanie enzymów chitynolitycznych zmierzające do skonstruowania sztucznego chitynosomu.

Głównym celem projektu jest skonstruowanie „sztucznego chitynosomu”, czyli kompleksu połączonych enzymów, który by degradował chitynę wydajniej niż mieszanka indywidualnych enzymów. Aby dojść do tego celu, najpierw zbadamy wybrane enzymy chitynolityczne pod kątem ich struktury, właściwości katalitycznych i stabilności w zmiennych warunkach, szczególnie temperaturowych. Enzymy do badań wytypowaliśmy z organizmów ekstremofilnych, zwłaszcza hipertermofilnych i zimmolubnych, oraz, dla porównania, mezofilnych, czyli żyjących w umiarkowanych temperaturach. Przygotujemy i zbadamy również specyficzne mutanty tych białek. Badania te mają na celu nie tylko charakterystykę tych naturalnych enzymów, ale także wytypowanie z nich elementów odpowiednich do składowania metodą „lego” w większe struktury enzymatyczne o pożądanym właściwościach. Wybraliśmy do badań enzymy termofilne, gdyż są one szczególnie stabilne, oraz enzymy zimmolubne, gdyż są szczególnie wydajne jako biokatalizatory. Z wybranych elementów skonstruujemy enzymy, które będą posiadały rozszerzoną funkcjonalność względem enzymu wyjściowego. Na przykład dzięki doczepieniu domeny wiążącej chitynę chcemy otrzymać zwiększone powinowactwo do tego substratu albo dzięki doczepieniu „domeny wysięgnikowej” (Ig-like) zwiększymy możliwość enzymu do eksplorowania powierzchni chityny, co też powinno zwiększyć skuteczność enzymu. Chcemy też podwyższać stabilność enzymów wymieniając ich termolabilne elementy na bardziej termostabilne odpowiedniki pochodzące z białek termofilnych. Następnie planujemy pójść o krok dalej i skonstruować enzymy złożone czyli katalizujące więcej niż jedną reakcję w procesie degradacji chityny. Spodziewamy się, że dzięki sąsiedztwie katalitycznych domen produkt jednej domeny będzie łatwiej trafiał do drugiej, aby tam ulec dalszej degradacji, zatem taki multienzym powinien być skuteczniejszy niż mieszanina indywidualnych enzymów.

Chcemy udowodnić, że dzięki połączeniu nowoczesnych metod badawczych oraz wyborze odpowiedniego modelu badawczego można racjonalnie manipulować nawet tak złożonymi i delikatnymi strukturami jakimi są białka i konstruować funkcjonalne struktury nieistniejące w naturze. Ważne dla powodzenia projektu jest to, że pracujemy nad dobrze zdefiniowanym procesem metabolicznym oraz, że enzymy chitynolityczne często mają wielodomenową strukturę, dzięki czemu łatwiej nimi manipulować. Wskazują na to badania wstępne, w których wykazaliśmy, że specjalnie skonstruowane mutanty delecyjne, z których usunięto jedną lub więcej domen, zachowują stabilność strukturalną na tyle, że można je z powodzeniem krystalizować i badać szczegółowo metodami krystalografii.

Innym powodem dlaczego wybraliśmy enzymy chitynolityczne jako materiał badawczy jest to, że katalizują one jeden z ważniejszych procesów zachodzących w biosferze, gdyż chityna jest drugim najczęściej występującym biopolimerem. Globalna produkcja chityny szacowana jest na 10^{10} - 10^{11} ton. Chityna jest materiałem budulcowym ścian komórkowych grzybów, egzoszkieletów owadów i skorupiaków, a także elementów organizmu niektórych głowonogów i mięczaków. Chityna jest pochodną glukozy i składa się z długich łańcuchów połączonych reszt cukrowych. Jako polimer jest podobna do celulozy i tworzy gęstą sieć wiązań wodorowych między łańcuchami, co skutkuje zwartą i trwałą strukturą, co czyni ją nadzwyczaj opornym substratem. Enzymy chitynolityczne są zatem ciekawym przykładem optymalizacji enzymatycznej. Oprócz miejsca, gdzie zachodzi reakcja enzymatyczna, mogą posiadać zdolność do destabilizacji zwartej struktury chityna, aby reakcja enzymatyczna mogła łatwiej przebiegać. Chityna jest degradowana przez bakterie, archeony i w mniejszym stopniu przez grzyby, dla których jest ona cennym źródłem energii i podstawowych pierwiastków potrzebnych do życia. Chityna jest w niewielkim stopniu wykorzystywana przez człowieka.

Nie odkryto naturalnych multienzymów do degradacji chityny, ale odkryto takie struktury – celulosomy – w organizmach degradujących celulozę, która jest podobna do chityny i jest produkowana na jeszcze większą skalę. Mamy nadzieję, że praca nad stworzeniem „sztucznego chitynosomu” wzbogaci naszą wiedzę o ważnym procesie biologicznym i przyczyni się do rozwoju nowej specjalności naukowej zwanej biologią syntetyczną, której celem jest projektowanie i tworzenie sztucznych systemów biologicznych wzorowanych na naturalnych.