

Jednym z ważnych i ciągle aktualnych problemów jest zachowanie struktury makrocząsteczek biologicznych (kwasów nukleinowych czy białek) w wysokich ciśnieniach. Problem ten w szczególności dotyczy enzymów białkowych, które potencjalnie mogą mieć zastosowania w biotechnologii. W ich przypadku istotne jest zachowanie zarówno struktury czwartorzędowej (multimeru) jak i trzeciorzędowej w warunkach ekstremalnych, w których potencjalnie zachodzić może zarówno rozpad struktur oligomerów jak i struktury przestrzennej.

Celem niniejszego projektu jest zbadanie zachowania w warunkach wysokich ciśnień wybranych białek modelowych (ksylanazy, izomerazy glukozy) zarówno w kryształach jak i w roztworze. Izomeraza ksylozy/glukozy ze *Streptomyces rubiginosus* jest tetramerem zbudowanym z czterech identycznych podjednostek (homotetramer) i katalizuje odwracalną reakcję izomeryzacji cukrów prostych (ksylozy i glukozy). Kolejnym z wybranych do badań enzymów jest jednodomenowe białko - ksylanaza z *Trichoderma longibrachiatum*, który katalizuje reakcję przypadkowej hydrolizy wewnętrznych połączeń (β -1,4-D-ksylozydowych) w ksylanie będącym głównym komponentem roślinnej hemicelulozy.

Struktury tych białek zostały już wcześniej poznane, jednak zaplanowane badania wysokociśnieniowe tych struktur są już nowością. Białka te zostaną wykryształizowane i w oparciu o uzyskane kryształy przeprowadzone zostaną eksperymenty dyfrakcyjne w wysokich ciśnieniach (do 2 GPa) przy użyciu promieniowania synchrotronowego. Uzyskane dane dyfrakcyjne posłużą do rozwiązania i udokładnienia ich struktur krystalicznych. Równoległe do badań dyfrakcyjnych przeprowadzone zostaną analizy struktury tych białek w roztworze w wysokich ciśnieniach przy użyciu techniki małokątowego rozpraszania promieniowania synchrotronowego. Pozwoli to na zbadanie potencjalnych zmian strukturalnych ksylanazy i izomerazy glukozy zachodzących w roztworze.

Eksperymenty dyfrakcyjne i SAXS prowadzone będą zarówno na liniach pomiarowych w synchrotronach europejskich jak i w Narodowym Centrum Promieniowania Synchrotronowego „SOLARIS” w Krakowie. Obecnie w NCPS „SOLARIS” konstruowana jest linia badawcza SOLCRYST dedykowana do badań dyfrakcyjnych białek (PX) oraz pomiarów małokątowego rozpraszania promieniowania synchrotronowego (SAXS). Na linii SOLCRYST możliwe będą również badania struktury biomakrocząsteczek w wysokich ciśnieniach. W ramach planowanych badań SAXS i PX przewidzianych w niniejszym projekcie możliwa będzie weryfikacja możliwości badawczych linii SOLCRYST.