

Tytuł polski: „Wolframowa Oksydoreduktaza Aldehydów - nowa hydrogenaza. Badania mechanizmu reakcji i potencjalnych zastosowań biokatalitycznych..”

Tytuł angielski: "Tungsten Aldehyde Oxidoreductase - a novel hydrogenase. Studies of reaction mechanism and potential biocatalytic applications"

Kierownik Projektu: prof. dr hab. Maciej Szaleniec

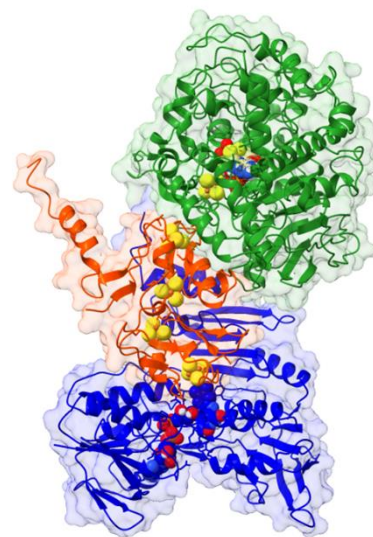
Numer projektu: 2023/51/B/ST4/01224

Jednym z ambitnych celów zrównoważonej gospodarki jest opracowanie metod syntezy związków chemicznych, które wykorzystują jako substraty związki pochodzące z odnawialnych surowców, w szczególności z przeróbki biomasy, oraz które nie wymagają wysokich nakładów energetycznych i nie generują niepotrzebnych odpadów chemicznych. Nasz projekt zakłada opracowanie nowej biokatalitycznej metody redukcji związków organicznych, która realizuje wiele z tych ważnych zasad.

Obiektem badań jest niezwykle enzym, bakteryjna oksydoreduktaza aldehydowa, która w swoim centrum aktywnym zawiera kofaktor wolframowy. Kofaktor wolframowy zbudowany jest z atomu wolframu na +6 lub +4 stopniu utlenienia, dwóch organicznych ligandów pterynowych oraz dwóch ligandów tlenowych. To właśnie ten kofaktor katalizuje reakcję, której enzym zawdzięcza swoją nazwę - utlenianie aldehydów do kwasów karboksylowych. Dzięki szczęśliwemu zbiegowi okoliczności udało nam się odkryć zupełnie inną aktywność tej oksydoreduktazy – okazała się ona zdolna do utleniania cząsteczkowego wodoru i wykorzystania tak pozyskanych elektronów do katalizowania reakcji odwrotnej, czyli redukcji kwasów karboksylowych do aldehydów. Enzym też umożliwia wykorzystanie wodoru do redukcji koenzymu NAD^+ do NADH , cząsteczki powszechnie wykorzystywanej przez inne enzymy do napędzania reakcji redukcji. Dzięki temu możliwe są dwa zastosowania oksydoreduktazy aldehydów – do syntezy szerokiej gamy aldehydów, które są cennymi substratami do innych reakcji chemicznych lub cennymi produktami (np. wanilia), oraz do bezodpadowego odtwarzania bardzo kosztownego NADH . Dzięki temu odkryciu możliwe jest skonstruowanie tak zwanych układów kaskadowych, w których enzym zarówno ułatwia syntezę aldehydów i odtwarza NADH a inny enzym przemienia aldehydy w inne cenne związki (alkohole, aminy, hydroksykwas) wykorzystując do tego NADH . W ten sposób możliwe jest uzyskanie cennych związków chemicznych bez jakichkolwiek odpadów, gdyż w kaskadowej redukcji wykorzystane zostają zarówno elektrony jak i protony z utlenionego wodoru, który może być ekologicznie pozyskiwany z odnawialnych źródeł energii.

W projekcie planujemy nie tylko znaleźć nowe zrównoważone zastosowania dla badanego enzymu ale także zrozumieć źródło jego nowo odkrytej aktywności. Ponieważ nikt wcześniej na świecie nie zaobserwował hydrogenazowej aktywności enzymów wolframowych, nie wiadomo w jaki sposób miałyby zachodzić ta reakcja. W celu zrozumienia co umożliwia ten proces katalityczny planujemy przeprowadzić szeroką gamę eksperymentów kinetycznych oraz zaawansować modelowanie molekularne. Bardzo ważne jest również dokładne poznanie skomplikowanej struktury enzymu oraz zrozumienie zmian jakim ulega kofaktor wolframowy w czasie reakcji. Aby to osiągnąć zamierzamy wykorzystać nowoczesne techniki strukturalne, takie jak mikroskopia elektronowa pojedynczej cząsteczki w warunkach kriogenicznych (cryo-EM) czy spektroskopii drobnej struktury o rozszerzonej absorpcji promieniowania rentgenowskiego (EXAFS). Dzięki tym technikom będziemy mogli przekonać się, w jaki sposób enzym utlenia aldehydy i redukuje kwasy karboksylowe a przede wszystkim w jaki sposób utlenia cząsteczkę wodoru.

Wyniki naszych badań są bardzo ważne dla przemysłu biotechnologicznego, który bardzo potrzebuje efektywnych katalizatorów do czystych transformacji cząsteczek chemicznych. Związki takie mogą być wykorzystane do produkcji leków, substancji agrochemicznych, dodatków do żywności czy substancji zapachowych. Bardzo istotne jest również wyjaśnienie, czy zaobserwowana aktywność hydrogenazy w wolframowym enzymie jest przypadkowa, czy też pełni jakąś biologiczną rolę. Jest to tym bardziej istotne, że podobne enzymy zostały wykryte w wielu bakteriach, w tym również w takich które znajdują się w naszym jelicie. Ponieważ w naszym jelicie występują również bakterie produkujące wodór



Rys. 1. Struktura enzymu średniej rozdzielczości z mikroskopii cryo-EM.

oksydoreduktaza wolframowa może działać tam jako hydrogenaza. Bakterie jelita, produkujące oksydoreduktazy wolframowe, najprawdopodobniej używają je do usuwania toksycznych aldehydów. Być może jednak ich rola jest inna, a dostępność wodoru umożliwia pracę enzymu w odwrotnym kierunku? Na pewno warto by się dowiedzieć jaka jest prawda...