

# Nový spôsob produkcie rekombinantnej hypertermostabilnej katalázy-peroxidázy

Nový spôsob produkcie enzýmu s označením AfKatG otvára možnosť jeho produkcie vo veľkom objeme, s prijateľnými nákladmi a s využitím rozsiahlej tepelnej tolerance tohto enzýmu pri procesoch, kde sa bežne dostupné enzýmy nedajú uplatniť.

## Enzýmy so širokým spektrom využitia

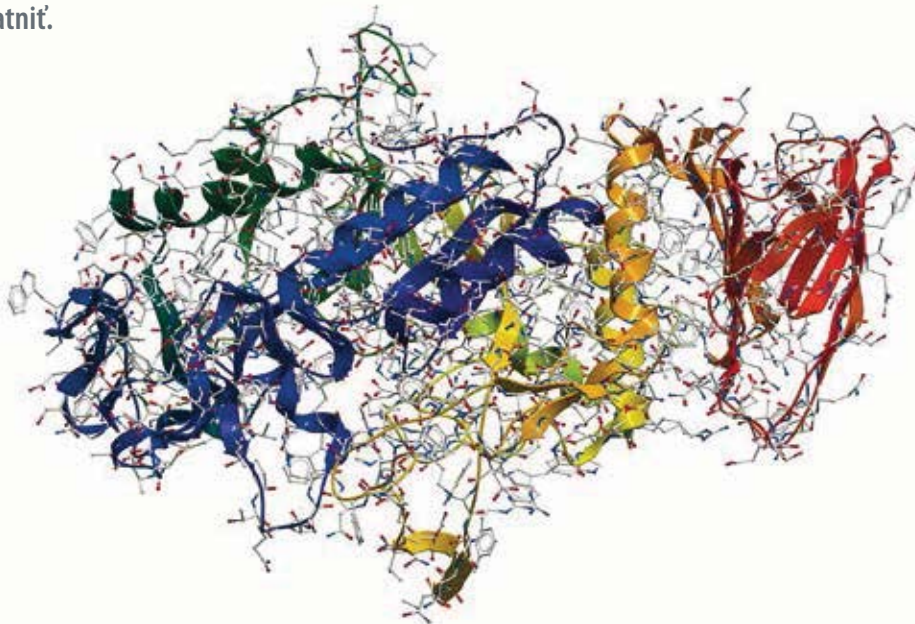
Katalázy-peroxidázy sú bifunkčné hémové enzýmy a jediné zatiaľ známe peroxidázy s vysokou katalázovou aktivitou pri neutrálnom pH. Rôzne typy kataláz sa nachádzajú vo všetkých aeróbných organizmoch od baktérií, archeónov a húb až po človeka. Ich úlohou je katalýza rozkladu peroxidu vodíka na molekulárny kyslík a vodu. Kataláza-peroxidáza AfKatG z *Archaeoglobus fulgidus* predstavovala v roku 2001 prvý takýto enzým izolovaný z hypertermofilného archeóna. Tento enzým vykazuje peroxidázovú aj katalázovú aktivitu, s optimálnymi podmienkami pH 4,5 a 80 °C pre peroxidázovú a pH 6,0 a 70 °C pre katalázovú aktivitu. Bifunkčnosť kataláz-peroxidáz umožňuje využívať ich excelentnú katalytickú aktivitu na degradáciu peroxidu vodíka, zatiaľ čo ich peroxidázová aktivita otvára nové možnosti ich využitia. Katalázy majú schopnosť katalyzovať aj iné typy redoxných reakcií. Keďže väčšina kataláz sú robustné enzýmy s nezvyčajne rýchlou a efektívnou katalýzou, našli uplatnenie v mnohých priemyselných aplikáciách ako efektívny nástroj na odstránenie toxického peroxidu vodíka.<sup>1</sup>

## Nevýhody súčasných riešení

Väčšinou sa doposiaľ využívali enzýmy z mezofilných organizmov, kde bol však problém zabezpečiť ich dostatočne vysokú a reprodukovateľnú produkciu. V prípade produkcie z ich prirodzených pôvodcov, či sa už jednalo o baktérie alebo huby, navyše kvalita izolovaných produktov kolísala v závislosti od priebehu ich väčšinou dlhodobejšej kultivácie. Taktiež pri termolabilných enzýmoch je veľký problém zabezpečiť ich dlhodobejšiu stabilitu v roztokoch.

## Nové riešenie z UK a SAV

Tímu pôvodcov z Univerzity Komenského v Bratislave a Ústavu molekulárnej biológie



SAV sa podarilo vyššie uvedené nedostatky v podstatnej miere odstrániť novým spôsobom produkcie rekombinantnej hypertermostabilnej katalázy-peroxidázy AfKatG. Novosť predstaveného riešenia spočíva v účinnom a efektívnom spôsobe produkcie a purifikácie hypertermostabilnej katalázy-peroxidázy AfKatG zo syntetického génu heterológnu expresiou v kmeni baktérie *Escherichia coli*. Takáto produkcia, ktorá zabezpečuje vysokú reprodukovateľnosť a pomerne rýchlu produkciu daného enzýmu vo vysokých výťažkoch, je pomerne nenáročná aj z pohľadu nákladov na produkčné kultivačné médium.

## Výhody nového riešenia

Predstavené inovatívne riešenie sa vyznačuje predovšetkým nasledujúcimi **konkurenčnými výhodami**:

- lacná produkcia,
- vysoká výťažnosť,
- jednoduchá a priamočiara purifikácia,
- vysokočistý produkt,
- hypertermostabilný enzým,
- vhodné pre veľkoobjemovú produkciu,
- ekologický spôsob produkcie.

## Hľadá sa partner

Použitie enzýmu AfKatG je rôznorodé, primárne pri procesoch, kde je žiaduce odbúranie peroxidu vodíka ako vedľajšieho produktu, v biokatalytických konverziách aromatických látok a pri ochrane pred oxidačným stresom. Veľkoobjemová produkcia AfKatG by umožnila široké uplatnenie tohto enzýmu s rozsiahlou tepelnou toleranciou aj pri procesoch, kde sa bežne dostupné enzýmy nedajú uplatniť. Jednoduchý proces kultivácie mikrobiálneho producenta a následná jednoduchá purifikácia enzýmu umožňujú relatívne nízke náklady a zvýšenie pridanej hodnoty výsledného produktu. Ten je následne možné použiť pri monitorovaní mikrobiálnej aktivity, pri oxidačných reakciách aromatických zlúčenín a pri odbúraní peroxidu vodíka, kde je jeho prítomnosť nežiaduca (napr. odpadové vody z bieliacich roztokov).

Na predstavený nový spôsob produkcie rekombinantnej hypertermostabilnej katalázy-peroxidázy AfKatG je podaná národná (SK) patentová prihláška PP 50015-2019. Pôvodcovia hľadajú priemyselných partnerov pre licencovanie danej technológie. **KTt SAV**

[www.ktt.sav.sk](http://www.ktt.sav.sk) ●

<sup>1</sup> Úrad priemyselného vlastníctva Slovenskej republiky: Polypeptid rekombinantnej katalázy-peroxidázy, spôsob jej produkcie v bunkách *Escherichia coli* a jej použitie. Prihlasovatelia: Univerzita Komenského v Bratislave, Ústav molekulárnej biológie SAV. Pôvodcovia: Stuchlík Stanislav, Zámocký Marcel, Struhárňanská Eva, Levarski Zdenko, Turňa Ján. Zverejnená patentová prihláška PP 50015-2019. 02.10.2020.