

Struktura biologicky důležitého enzymu objasněna

Enzym β -N-acetylhexosaminidasa katalyzuje rozklad některých polysacharidů vyskytujících se napříč všemi doménami života. Účastní se například recyklace bakteriální buněčné stěny, klíčení semen a dozrávání plodů u rostlin, přestavby exoskeletu při metamorfóze hmyzu, nebo procesu oplodnění u savců. Příbuzné enzymy jsou také spojeny se vznikem některých typů bakteriální resistance na antibiotika. V lidském organismu zajišťují rozkládání některých signálních molekul a jejich vrozené poruchy vedou k rozvoji závažných poruch nervových buněk. U plísní umožňují přestavbu buněčné stěny a jsou tedy zásadní pro jejich růst.

Plíseň *Aspergillus oryzae* (kropidlák rýžový) je jedním z prvních hospodářky využívaných mikroorganismů na světě. Byla domestikována již před asi dvěma tisíci lety ve východní Asii pro fermentaci sóji a rýže a od té doby se používá mimo jiné k výrobě sojové omáčky a rýžového vína saké, což jí v Asii vyneslo značnou popularitu a stala se dokonce hlavním hrdinou oblíbeného japonského komiksu ze zemědělského prostředí. Pěstování této plísně v laboratorních podmínkách je velmi dobře zvládnuté a umožňuje laboratorní přípravu a studium jejích enzymů, včetně β -N-acetylhexosaminidasy. Plísňové hexosaminidasy, podobně jako jiné enzymy, se dají v laboratoři „přinutit“ k obrácení katalyzované reakce opačným směrem a jsou pak schopny místo štěpení sacharidy naopak syntetizovat. Mohou tedy velmi efektivně a specificky vytvářet různé typy modifikovaných sacharidů, které jsou jinak klasickou chemickou syntézou obtížně získatelné.

β -N-acetylhexosaminidasa z *Aspergillus oryzae* je výjimečně robustní a odolný enzym, který je aktivní v širokém rozmezí teplot a hodnot pH, což z něj dělá vhodného kandidáta pro průmyslové využití. Vědci z Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, Ústavu molekulární genetiky AV ČR a Mikrobiologického ústavu AV ČR, ve spolupráci s kolegy z University of Texas, tento zajímavý a prakticky důležitý enzym izolovali z jeho přirozeného zdroje ve vysoké čistotě, připravili krystaly této bílkoviny a pomocí rentgenostrukturní analýzy a s využitím pokročilých technik hmotnostní spektrometrie určili její trojrozměrnou strukturu.

Vyřešení struktury vysvětluje vysokou stabilitu tohoto enzymu. K té přispívá především velmi pevná vazba mezi dvěma molekulami enzymu, které se tak vzájemně stabilizují, a také mohutná glykosylace, tedy modifikace proteinové molekuly přídatnými „ochrannými“ řetězci sacharidů. Dvě molekuly enzymu se navíc navzájem „přidrží“ pomocí svých koncových částí, takzvaných propeptidů – asi tak, jako když se dva přátelé vezmou vzájemně pažemi kolem ramen (třeba po konzumaci saké). Tato interakce rovněž reguluje katalytickou aktivitu enzymu. Detailní strukturní informace o architektuře aktivního centra enzymu, které se bezprostředně podílí na katalyzované chemické reakci, umožní do budoucna geneticky inženýrské zásahy do enzymu, které mohou upravit jeho katalytickou aktivitu pro biotechnologické účely.

Výsledky této práce byly publikovány v časopise Federace evropských biochemických společností (FEBS Journal).

Odkaz na publikaci:

Škerlová J, Bláha J, Pachel P, Hofbauerová K, Kukačka Z, Man P, Pompach P, Novak P, Otwinowski Z, Brynda J, Vanek O, Řezáčová, P. **Crystal structure of native β -N-acetylhexosaminidase isolated from *Aspergillus oryzae* sheds light onto its substrate specificity, high stability, and regulation by propeptide.** FEBS J. 2017, 285(3):580-598.

Kontakt:

Dr. Ondřej Vaněk, tel: 221951272, e-mail: ondrej.vanek@natur.cuni.cz

Dr. Pavlína Řezáčová, tel: 220183144, e-mail: rezacova@img.cas.cz

Dr. Jana Škerlová, tel: 220183389, e-mail: jana.skerlova@img.cas.cz