

## Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

**APVV-15-0227****Imobilizované rekombinantné mikroorganizmy pre biotechnologickú produkciu chemických špecialít pomocou biokatalytických kaskádových reakcií**Zodpovedný riešiteľ **Ing. Marek Bučko, PhD.**Príjemca **Chemický ústav SAV****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**

Chemický ústav Slovenskej akadémie vied, Bratislava  
Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Bratislava  
Ústav polymérov Slovenskej akadémie vied, Bratislava  
Medzinárodné laserové centrum, Bratislava

**Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**

Oddelení elektronové mikroskopie, Ústav prístrojové techniky Akadémie vied České republiky, Brno, Česká republika  
Institute of Applied Synthetic Chemistry, Vienna University of Technology, Viedeň, Rakúsko

**Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu**

nie sú

**Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače**

1. BUČKO, Marek - GEMEINER, Peter - KRAJČOVIČ, Tomáš - HAKAROVÁ, Marietta - CHORVÁT, Dušan Jr. - MARČEK CHORVÁTOVÁ, Alžbeta - LACÍK, Igor - RUDROFF, Florian - MIHOVILOVIČ, Marko D. Immobilized cell physiology imaging and stabilization of enzyme cascade reaction using recombinant cells Escherichia coli entrapped in polyelectrolyte complex beads by jet break-up encapsulator. In CATALYSTS, 2020, vol. 10, art. no. 1288, [12]p. (2019: 3.520 - IF, Q2 - JCR, 0.722 - SJR, Q2 - SJR). ISSN 2073-4344.
2. NEDĚLA, Vilém – TIHLAŘÍKOVÁ, Eva – MAXA, Jiří – IMRICOVA, Kamila – BUČKO, Marek - GEMEINER, Peter. Simulation-based optimisation of thermodynamic conditions in the ESEM for dynamical in-situ study of spherical polyelectrolyte complex particles in their native state. In: Ultramicroscopy, 2020, vol. 211, 112954. OI:10.1016/j.ultramic.2020.112954
3. KRAJČOVIČ, Tomáš – BUČKO, Marek – VIKARTOVSKÁ, Alica – LACÍK, Igor – UHELSKÁ, Lucia – CHORVÁT, Dušan – NEDĚLA, Vilém – TIHLAŘÍKOVÁ, Eva - GERICKE, Martin – HEINZE, Thomas – GEMEINER, Peter. Polyelectrolyte Complex Beads by Novel Two- Step Process for Improved Performance of Viable Whole- Cell Baeyer-Villiger Monooxygenase by Immobilization. In Catalysts, 2017, vol 7, p. 353. (3.082 - IF2016). (2017 - Current Contents). ISSN 2073-4344.
4. POLAKOVIČ, Milan – ŠVITEL, Juraj – BUČKO, Marek – FILIP, Jaroslav – NEDĚLA, Vilém – ANSORGE-SCHUMACHER B. Marion – GEMEINER, Peter. Progress in

- biocatalysis with immobilized viable whole cells: systems development, reaction engineering and applications. In *Biotechnology Letters*, 2017, vol 39, p. 667–683. ISSN 0141-5492.
5. BUČKO, Marek - VIKARTOVSKÁ, Alica - SCHENKMAYEROVÁ, Andrea - TKÁČ, Ján - FILIP, Jaroslav - CHORVÁT Jr., Dušan - NEDĚLA, Vilém - ANSORGE-SCHUMACHER B. Marion - GEMEINER, Peter. Progress in emerging techniques for characterization of immobilized viable whole-cells biocatalysts. In *Chemical Papers*, 2017, vol 71, p. 2309-2324. ISSN 0366-6352.
6. Bučko, M., Gemeiner, P., Schenk Mayerová, A., Krajčovič, T., Rudroff, F., Mihovilovič, M.D. (2016). Baeyer-Villiger oxidations: biotechnological approach. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100: 6585-6599. DOI 10.1007/s00253-016-7670-x
7. LORENCOVA, Lenka - BERTOK, Tomas – FILIP, Jaroslav – JERIGOVA, Monika – VELIC, Dusan – KASAK, Peter – MAHMOUD, Khaled A. – TKAC, Jan. Highly stable Ti3C2Tx (MXene)/Pt nanoparticles-modified glassy carbon electrode for H2O2 and small molecules sensing applications. In *Sensors & Actuators: B. Chemical*, 263, 2018, p. 360-368. (5,667 – IF 2017). (2018 - Current Contents).

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Originálne výsledky projektu našli uplatnenie v podobe publikovaných nových poznatkov z hľadiska vývoja imobilizovaných biokatalyzátorov na báze najnovšej generácie rekombinantných buniek s koexprimovanou sériou redoxných enzýmov pre zvýšenie produktivity chemických špecialít. Dosiahnuté poznatky je tiež možné využiť jednak v ďalšom výskume biokatalyzátorov flexibilnou voľbou druhu požadovaného produktu a biokatalyzátora ako aj na vývoj ekologicky prijateľných technológií produkcie chemických špecialít. Vyvinuté unikátne techniky zobrazovania a charakterizácie materiálových a fyziologických vlastností imobilizovaných biokatalyzátorov môžu byť adaptované na ďalší výskum a to aj v príbuzných oblastiach. Využitie metód bioreaktorového inžinierstva prinieslo originálne výsledky s významným dopadom z hľadiska zefektívnenia produktivity celobunkových kaskádových biokatalyzátorov. Projekt prispel k vytvoreniu siete spolupracujúcich pracovísk s kompetenciami oprávňujúcimi ich ďalšie zapojenie do projektových výziev v rámci výskumu imobilizovaných biokatalyzátorov.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

Stanovené ciele boli splnené v rámci časových etáp. Je možné konštatovať, že celkový cieľ projektu - vývoj originálnych imobilizovaných biokatalyzátorov na báze najnovšej generácie rekombinantných buniek s koexprimovanou sériou redoxných enzýmov pre zvýšenie produktivity modelových chirálnych stavebných blokov, vývoj unikátnych charakterizačných techník a metód bioreaktorového inžinierstva a biosenzorov sa podarilo splniť. V prvej etape boli pripravené funkčné PEC častice s dostatočnou operačnou a mechanickou stabilitou. V spolupráci s tímom ÚPT AV ČR v Brne bola originálne zobrazená morfológia povrchu PEC častíc s imobilizovanými bunkami *E. coli* technikou ESEM. V druhej etape boli adaptované bunky s enzýmovými kaskádami v spolupráci s partnermi z VUT vo Viedni. Zároveň boli vyvíjané nové biosenzory. Prvýkrát sa úspešne otestovala operačná stabilita imobilizovaných buniek *E. coli* s enzýmovou kaskádou LK-ADH, XenB a CHMO v polyelektrolytových časticiach. Využitím výkonného laboratórneho enkapsulátora bolo možné kontrolované pripraviť uniformné PEC častice. V spolupráci s MLC sa v tejto etape dosiahli unikátne merania zmien fyziológie imobilizovaných buniek. V poslednej etape spolupracovníci z FChPT STU pomocou simulácií objasnili zvýšenie operačnej stability imobilizovaného biokatalyzátora a optimalizovali podmienky vsádzkovej kultivácie. Zistil sa inhibičný vplyv substrátu, bola preukázaná limitácia rýchlosti biotransformácie kyslíkom, bol matematicky opísaný vplyv substrátu na priebeh reakcie, porovnaná efektivita reakcie použitím imobilizovaných a voľných buniek a bol sledovaný prestup kyslíka simulačnými výpočtami v prostredí COMSOL. Materiálové, mechanické a fyzikálne charakteristiky imobilizátorov boli zistené v spolupráci s ÚPo SAV. Je možné konštatovať prekročenie očakávaných výstupov projektu.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

The set goals were met within the time stages. It can be stated that the overall goal of the project - development of original immobilized biocatalysts based on the latest generation of recombinant cells with co-expressed series of redox enzymes to increase productivity of model chiral building blocks, development of unique characterization techniques and bioreactor engineering methods and biosensors was met. In the first stage, functional PEC particles with sufficient operational and mechanical stability were prepared. In cooperation with the team of ÚPT AV ČR in Brno, the surface morphology of PEC particles with immobilized *E. coli* cells by ESEM technique was originally displayed. In the second stage, cells with enzyme cascades were adapted in cooperation with partners from VUT Vienna. At the same time, new biosensors were developed. For the first time, the operational stability of immobilized *E. coli* cells with the LK-ADH, XenB and CHMO enzyme cascade in polyelectrolyte particles was successfully tested. Using a high-performance encapsulator it was possible to prepare uniform PEC particles in a controlled manner. In cooperation with MLC, unique measurements of changes in the physiology of immobilized cells were achieved at this stage. In the last stage, the collaborators from FChPT STU explained the increase in operational stability of the immobilized biocatalyst using simulations and optimized the conditions of batch cultivation. The inhibitory effect of the substrate was determined, the limitation of the rate of oxygen biotransformation was demonstrated, the influence of the substrate on the course of the reaction was mathematically described, the efficiency of the reaction using immobilized and free cells was compared and oxygen transfer was monitored by simulation calculations in COMSOL. Material, mechanical and physical characteristics of immobilized preparatives were found in cooperation with ÚPo SAV. It is possible to state that the expected project outputs have been exceeded.