

**Formulár ZK - Záverečná karta projektu**

<b>Riešiteľ:</b> Chemický ústav SAV	<b>Evidenčné číslo projektu:</b> APVV-51-003805
<b>Názov projektu:</b> Mikrobiálne esterázy štiepiace väzby medzi sacharidmi a lignínom v bunkových stenách rastlín	

<b>Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:</b>	Chemický ústav SAV, Bratislava, Slovenska republika
<b>Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):</b>	University of Utrecht, Utrecht, Holandsko
	USDA, ARS, Peoria, IL, USA
	Technical University of Athens, Grécko

<b>Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:</b>	
<b>ELEPublikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uveďte i publikácie prijaté do tlače):</b>  <b>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</b>	Špániková S., Biely P. (2006) Glucuronoyl esterase – a novel carbohydrate esterase from <i>Schizophyllum commune</i> . FEBS Lett. 580, 4597-4601. Špániková S., Poláková M., Joniak D., Hirsch J., Biely P. (2007) Synthetic esters recognized by glucuronoyl esterase from <i>Schizophyllum commune</i> . Arch. Microbiol. 188, 185-189. Li X.-L., Špániková S., deVries R.P., Biely P. (2007) Identification of genes encoding microbial glucuronoyl esterases. FEBS Lett., 581, 4029-4035. Ďuranová M., Špániková S., Wösten H. A. B., Biely P., de Vries R. P. (2009) Two glucuronoyl esterases of <i>Phanerochaete chrysosporium</i> . Arch. Microbiol. 191, 133-140 Ďuranová M., Hirsch J., Kolenová K., Biely P. (2009) Fungal glucuronoyl esterases and substrate uronic acid recognition. Biosci. Biotechnol. Biochem. v tlači.
<b>V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:</b>	Výsledky projektu majú charakter základného výskumu a prispievajú k ďalšiemu pokroku v oblasti biokonverzie rastlinnej hmoty. Otvárajú novú kapitolu mikrobiálnych enzýmov, ktoré nazývame sacharidové esterázy, ktoré sa spolu s glykozid hydrolázami podieľajú na degradácii rastlinnej hmoty. Výsledky viedli k založeniu novej rodiny týchto enzýmov, ktoré čakajú na svoje uplatnenie v biotechnológiách. O enzýmy objavené a študované v projekte prejavili záujem viaceré firmy, ktoré sa zaoberajú výrobou enzýmov a biokonverziou rastlinnej hmoty, napr. Novozymes v Dánsku, Mascoma v USA, a tiež laboratóriá USDA v Peorii, IL a v Albany, California.

## Charakteristika výsledkov

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Jednou z kovalentných väzieb, spájajúcich lignín s hemicelulózou v bunkových stenách rastlín, je esterová väzba medzi lignínovými alkoholmi a karboxylovou skupinou urónovej kyseliny glukurónoxyľanov. V tomto projekte sme prvýkrát zaznamenali existenciu sacharidovej esterázy, ktorá by mohla takéto väzby hydrolyzovať. V celulólytickom systéme huby *Schizophyllum commune* sme našli esterázu, ktorá hydrolyzuje metyl estery kyseliny D-glukurónovej a 4-O-metyl-D-glukurónovej. Substrátová špecificita tohto enzýmu, ktorý sme nazvali glukuronoyl esteráza (GE) sa líšila od substrátovej špecificity doteraz popísaných sacharidových esteráz, ako sú acetylxyľan esteráza, feruloyl esteráza a pektínmetylesteráza. GE atakovala výlučne estery kyseliny 4-O-metyl-D-glukurónovej, ktoré neboli atakované inými druhmi esteráz. Parciálna aminokyselinová sekvencia GE *S. commune* sa využila na vyhľadávanie homológnych sekvencií v dostupných fungálnych genómoch. Homológne gény sa našli v celom rade genómov a vo všetkých prípadoch sa jednalo o gény, ktoré kódujú bielkoviny s neznámou funkciou. U viacerých mikroorganizmov obsahujúcich v genóme takýto gén sa produkcia enzýmu potvrdila počas rastu na celulóze. Gény dvoch fungálnych kmeňov, *Trichoderma reesei* a *Phanerochaete chrysosporium* sa izolovali, exprimovali vo vhodných hostiteľoch, a u odpovedajúcich génových produktov sa potvrdila aktivita GE. Získané výsledky viedli k záveru, že v rámci riešenia tohto projektu sme skutočne objavili novú rodinu sacharidových esteráz s unikátnymi katalytickými vlastnosťami a možno i s výnimočným biotechnologickým potenciálom. Tento objav GE-áz viedol k zavedeniu novej rodiny sacharidových esteráz číslo 15 (CAZy). Objasnenie fyziologickej funkcie a biotechnologického potenciálu týchto enzýmov si vyžaduje ešte ďalšie systematické štúdium.

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

One type of the covalent linkages connecting lignin and hemicellulose in plant cell walls is represented by ester linkages between lignin alcohols and carboxyl group of uronic acids of glucuronoxylans. In this project we have presented the first evidence for existence of a carbohydrate esterase (CE) that might hydrolyze such linkages. The cellulolytic system of the wood-rotting fungus *Schizophyllum commune* contains an esterase that hydrolyzes methyl and alkylaryl esters of 4-O-methyl-D-glucuronic acid or D-glucuronic acid. Substrate specificity of the purified enzyme, called glucuronoyl esterase (GE), was distinct from that of other known CEs, such as acetylxyľan esterase, feruloyl esterase and pectin methylesterase. The GE attacked exclusively the esters of 4-O-methyl-D-glucuronic acid, and the esters of 4-O-methyl-D-glucuronic acid were not hydrolysed by other CEs. Partial amino acid sequence of ScGE was used for the search of homologous sequences in known fungal genomes. The genes of putative GE were found in 7 genomes and in all cases they corresponded to genes of unknown function. In several fungi containing the GE gene, the presence of the enzyme was confirmed in cellulose-containing growth media using synthetic glucuronoyl esterase substrates. The genes of two fungi, *Trichoderma reesei* and *Phanerochaete chrysosporium*, were isolated, expressed and the corresponding gene products were shown to exhibit the expected enzyme activity. All these results speak for the fact that we have discovered a new family of CEs with unique catalytic properties and important biotechnological potential. Glucuronoyl esterases are grouped in CE family 15 (CAZy). Elucidation of their physiological role and biotechnological potential needs further investigations.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa: RNDr. Peter Biely, DrSc.

Dátum: 9.XI.2009.....

Podpis štatutárneho zástupcu: Ing. Igor Tvaroška, DrSc.

Pečiatka: