



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

LPP-0417-09

Bioinformatická analýza amyláz

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Štefan Janeček, DrSc.**

Príjemca **Ústav molekulárnej biológie SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Ústav molekulárnej biológie SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Janecek S. & Blesak K. (2011) Sequence-structural features and evolutionary relationships of family GH57 alpha-amylases and their putative alpha-amylase-like homologues. Protein Journal 30: 429-435
2. Janecek S., Svensson B. & MacGregor E.A. (2011) Structural and evolutionary aspects of two families of non-catalytic domains present in starch and glycogen binding proteins from microbes, plants and animals. Enzyme and Microbial Technology 49: 429-440
3. Blesak K. & Janecek S. (2012) Sequence fingerprints of enzyme specificities from the glycoside hydrolase family GH57. Extremophiles 16: 497-506
4. Janecek S. & Kuchtova A. (2012) In silico identification of catalytic residues and domain fold of the family GH119 sharing the catalytic machinery with the alpha-amylase family GH57.

5. Janecek S., Svensson B. & MacGregor E.A. (2013) Alpha-amylase - an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. Cellular and Molecular Life Sciences (in press) DOI: 10.1007/s00018-013-1388-z.

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt bol založený na tzv. in silico (bioinformatickom) prístupe k výskumu amylolytických enzýmov, ktoré predstavujú viac ako 30 rôznych enzýmových špecificít. Hlavným reprezentantom bola alfa-amyláza; enzým katalyzujúci hydrolýzu alfa-1,4-glukozidových väzieb v škrobe a príbuzných alfa-glukanoch. Výsledky týchto štúdií môžu byť priamo využité v experimentálnych prístupoch zameraných na objasnenie vzťahov medzi štruktúrou a funkciou amylolytických enzýmov. Identifikované unikátne sekvenčné črty jednotlivých špecificít umožňujú napr. prisúdiť enzýmovú špecificitu pre hypotetické proteíny pred ich detailnou biochemickou charakterizáciou a vo všeobecnosti ich možno využiť v cielenom proteínovom dizajne týchto priemyselne dôležitých enzýmov.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Výsledky projektu sú príspevkom k celkovému poznaniu biologických procesov spojených s metabolizmom škrobu a glykogénu v živých systémoch. V súlade s cieľmi projektu je na základe získaných výsledkov možné vhodne nasmerovať budúcu experimentálnu prácu v oblasti výskumu amyláz a im príbuzných enzýmov, t.j. naznačiť relevantné smery pre experimentálny výskum, napr. v oblasti proteínového dizajnu týchto priemyselne dôležitých enzýmov s cieľom skrátenia času pre dosiahnutie výsledkov. Konkrétne bola uskutočnená detailná bioinformatická (in silico) analýza týchto enzýmov a proteínov, ktoré sú klasifikované do klanu GH-H (rodiny GH13, GH70 a GH77) a rodín GH57 a GH119, ako aj ich škrob-viažucich domén (najmä rodiny CBM20, CBM25, CBM26, CBM41 a CBM48). V rámci hlavnej alfa-amylázovej rodiny GH13 boli preskúmané vzťahy medzi jednotlivými podrodinami obsahujúcimi alfa-amylázovú špecificitu, čo možno považovať za globálny príspevok k poznaniu evolúcie tejto rodiny. S ohľadom na rodinu GH57 výsledky predstavujú identifikáciu sekvenčno-štruktúrnych črt unikátnych pre jednotlivé enzýmové špecificity týchto amylolytických enzýmov, ktoré môžu byť priamo využité pre ich proteínový dizajn. V rodine GH119 bol na základe odhalenia jej príbuznosti s rodinou GH57 určený dovtedy neznámy model terciárnej štruktúry katalytickej domény spolu s potenciálnymi katalytickými zvyškami. V oblasti výskumu škrob-viažucich domén amyláz sa výsledky týkajú hlavne blízkej evolučnej príbuznosti rodín (i) CBM20 a CBM48 a (ii) CBM25 a CBM26, ako aj možného rozdelenia motívov v rodine CBM41 do dvoch rodín. Ciele projektu plánované pri jeho predkladaní preto považujeme za splnené.

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

The results of the project represent a contribution to the overall knowledge of the processes of starch and glycogen metabolism in living systems. In accordance with the project goals, based on the achieved results it is possible to orient appropriately future experimental work in the field of amylases, i.e. to indicate relevant lines for experimental research, for example in protein design of these industrially important enzymes in an effort to shorten the time necessary for obtaining the results. Specifically, a detailed bioinformatics (in silico) analysis was undertaken of these enzymes and proteins that have been classified into the clan GH-H (families GH13, GH70 and GH77) and families GH57 and GH119, as well as their starch-binding domains (primarily the families CBM20, CBM25, CBM26, CBM41 and CBM48). With regard to the main alpha-amylase family GH13, relationships among the individual subfamilies containing the alpha-amylase specificity were elucidated, representing a global contribution to evolution of this family. Concerning the family GH57, sequence-structural

features unique for the individual enzyme specificities of these amylolytic enzymes were identified that can be directly utilized in their protein design. In the family GH119, based on revealing its relatedness with the family GH57 a tertiary structure model of its catalytic domain with potential catalytic machinery was predicted; the facts that previously were completely unknown. In the field of starch-binding domains of amylases, close evolutionary relationships were described for the families (i) CBM20 and CBM48, and (ii) CBM25 and CBM26; as well as an eventual division of the motifs into two families was proposed within the family CBM41. In our opinion, the project aims can thus be considered to be fulfilled.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

Ing. Štefan Janeček, DrSc.

V Bratislave 17.09.2013

Štatutárny zástupca príjemcu

RNDr. Ján Kormanec, DrSc.

V Bratislave 17.09.2013

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu