

- 2018/02/X/ST4/01963 [2018-2019] Poszukiwanie nowych ketosteroidowych dehydrogenaz bakteryjnych katalizujących utleniające odwodornienie steroidów – dr A. Wojtkiewicz

Proponowane badania mają na celu wstępną charakterystykę pięciu nieopisanych i nieopisanych dotąd enzymów pochodzących z dwóch różnych źródeł: z beztlenowej *Sterolibacterium denitrificans* Chol-1S oraz tlenowej bakterii glebowej *Pseudomonas putida* KT2440. Postulowaną funkcją enzymów jest selektywna modyfikacja różnych steroidów poprzez wprowadzenie wiązania podwójnego między atomami węgla C1-C2 w pierścieniu A. W przypadku pierwszego szczepu opisano dotąd jedną 3-ketosteroidową dehydrogenazę (KstD), która wykazuje znacząco szersze spektrum substratowe niż dotąd opisywane enzymy tej klasy. W projekcie będą przebadane dwa pozostałe izoenzymy z *S. denitrificans* Chol-1S o niepotwierdzonej funkcji. Szczep *P.putida* KT2440 jest z kolei dobrze scharakteryzowanym i niepatogennym modelowym organizmem do badań różnych szlaków metabolicznych. Do tej pory nie badano aparatu enzymatycznego szczepu *P.putida* KT2440 zaangażowanego w degradację związków steroidowych na drodze odwodornienia przy węglu C1 w pierścieniu A. Bakteryjne enzymy występujące w wielu kopiach w formie izoenzymów często katalizują tę samą reakcję jednak różnią się specyficznością substratową. Wdrożenie przesiewowych testów katalitycznych z ketosteroidami w różnym stopniu rozgałęzionymi przy węglu C17 przybliży nas do odpowiedzi na pytanie o funkcję enzymu, czyli w który szlak degradacji (cholesterolu, kwasu cholowego czy testosteronu) enzym może być zaangażowany. Ponadto dodatkowe informacje o stabilności i efektywności pracy izolowanych enzymów pozwolą stwierdzić czy takie katalizatory mogą nieść w przyszłości potencjał aplikacyjny badany w kolejnych projektach.