

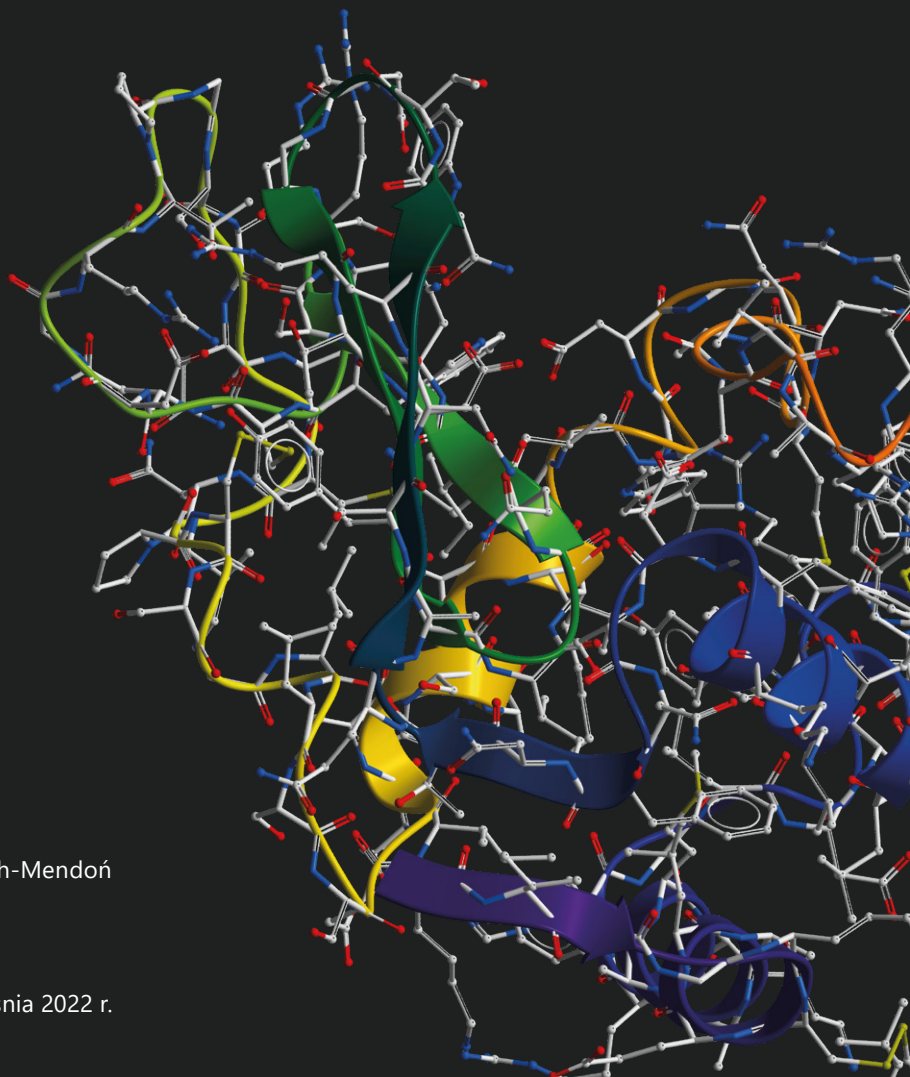


# VIII Konferencja Naukowa

# Enzymos

„Enzymy w nauce i przemyśle”

ABSTRAKTY



Redakcja:

Izabela Mołdoch-Mendoń

Kamil Maciąg

Lublin, 22 września 2022 r.

**VIII Konferencja Naukowa ENZYMOS**  
**Enzymy w nauce i przemyśle**

**Abstrakty**



# **VIII Konferencja Naukowa ENZYMOS**

## **Enzymy w nauce i przemyśle**

### **Abstrakty**

Redakcja:  
Izabela Mołdoch-Mendoń  
Kamil Maciąg

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL  
Lublin 2022

# **VIII Konferencja Naukowa ENZYMOS**

## **Enzymy w nauce i przemyśle**

22 września 2022 r.

### **Abstrakty**

Redakcja:

Izabela Mołdoch-Mendoń

Kamil Maciąg

Skład i łamanie:

Monika Maciąg

Projekt okładki:

Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-67194-72-3

Wydawca:

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ul. Głowackiego 35/348

20-060 Lublin

[www.fundacja-tygiel.pl](http://www.fundacja-tygiel.pl)

## **Komitet Naukowy:**

- **dr hab. Magdalena Jaszek, prof. UMCS**, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
- **dr hab. Anna Pawlik**, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
- **dr hab. inż. Jakub Zdarta**, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska
- **dr Weronika Goraj**, Katedra Biologii i Biotechnologii Mikroorganizmów, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Nauk Ścisłych i Nauk o Zdrowiu, Katolicki Uniwersytet Lubelski Jana Pawła II
- **dr Justyna Sulej**, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

## **Komitet Organizacyjny:**

- Ewelina Chodźko
- Alicja Danielewska
- Iwona Domina
- Joanna Jędrzejewska
- Kinga Kalbarczyk
- Joanna Kozłowska
- Kamil Maciąg
- Monika Maciąg
- Izabela Mołdoch-Mendoń
- Paulina Pomajda
- Marcin Szklarczyk
- Paulina Szymczyk

## **Organizator:**



Fundacja  
**TYGIEL**

# Spis treści

## Wystąpienia Gości Honorowych

Immobilizowane oksydoreduktazy – potencjalne biokatalizatory w procesach usuwania mikrozanieczyszczeń.....	11
Światło jako czynnik modyfikujący wybrane aspekty metabolizmu grzybów .....	13

## Wystąpienia Uczestników

Immobilizowane lipazy w rozdziale enancjomerów ketoprofenu .....	17
Kinaza PERK i jej inhibicja w leczeniu jaskry pierwotnej otwartego kąta.....	19
Metoda wyznaczania energii aktywacji i dezaktywacji bioprocessów z zastosowaniem membrany enzymatycznej .....	21
Rola fosfatazy białkowej 2A w chorobach układu krążenia .....	23
Rola krzemu w procesach detoksykacyjnych zależnych od glutationu w roślinach poddanych stresowi kadmowemu .....	24
Rola proteazy EGY2 w regulacji poziomu akumulacji białek PsaA oraz PsaB w osobnikach rzodkiewnika pospolitego ( <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh) w warunkach stresu świetlnego.....	26
Stereospecyficzna redukcja ksenobiotycznych ketonów przy użyciu katalizatorów roślinnych .....	28
Unieruchomiona lakaza jako potencjalne narzędzie do usuwania estrogenów z roztworów wodnych .....	30
Wpływ kinazy aktywowanej 5'AMP na mechanizmy immunologiczne.....	32
Zastosowanie enzymu z grupy anhidraz węglanowych (CA) w procesie samoregeneracji (samonaprawy) kompozytów cementowych .....	33
Zastosowanie układu hybrydowego typu MxOy/fukoidyna w procesie immobilizacji lipazy .....	34
Indeks Autorów .....	36





# **Wystąpienia Gości Honorowych**



## **Immobilizowane oksydoreduktazy – potencjalne biokatalizatory w procesach usuwania mikrozanieczyszczeń**

*dr hab. inż. Jakub Zdarta, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska*

Co roku do wód i ścieków trafiają znaczne ilości mikrozanieczyszczeń organicznych, głównie w wyniku działalności człowieka, rosnącego światowego rynku towarów i usług oraz intensywnego rozwoju przemysłu. Ponieważ długotrwały i niekontrolowany kontakt z tymi związkami może mieć negatywny wpływ na ekosystemy i zdrowie ludzi, istnieje potrzeba opracowania innowacyjnych, uniwersalnych i tanich technik ich degradacji. Spośród najszerzej analizowanych i rozwijanych technik na szczególnie zainteresowanie zasługuje podejście biokatalityczne oparte na oksydoreduktazach, które są stosowane w konwersji zanieczyszczeń organicznych w mniej toksyczne związki, ze względu na ich potencjał do utleniania szerokiej gamy związków fenolowych i ich pochodnych. Dotychczas zaprezentowane wyniki jasno wskazują na wysoki potencjał użytkowy i aplikacyjny enzymów, takich jak lakkaza, tyrozynaza czy inne biokatalizatory z grupy peroksydaz. Wysoka wydajność biokonwersji, niska toksyczność mieszaniny poreakcyjnej oraz możliwość prowadzenia procesu w łagodnych warunkach, zgodnie z zasadami zielonej chemii to największe osiągnięcia wynikające z przeprowadzonych badań. Należy także podkreślić, że ze względu na możliwość wielokrotnego wykorzystania, a także praktyczność stosowania bioreaktorów enzymatycznych, coraz większą popularnością cieszą się układy immobilizowanych oksydoreduktaz, które również wykazują zdolności do konwersji mikrozanieczyszczeń. Niemniej jednak większość badań przeprowadzono w skali laboratoryjnej, a zastosowanie enzymów na większą skalę jest nadal ograniczone. Dlatego należy podjąć dalsze badania w celu wypracowania efektywnych rozwiązań umożliwiających przeniesienie systemów enzymatycznych ze skali laboratoryjnej i pilotażowej na przemysłową, mając jednocześnie na uwadze względy ekonomiczne, jak i praktyczne procesu.

Ponadto, potrzebne są szeroko zakrojone badania w celu określenia składu i toksyczności mieszaniny poreakcyjnej, ponieważ produkcja czystego strumienia ścieków powinna mieć najwyższy priorytet.

Podziękowania:

Autor uzyskał środki finansowe w ramach projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki nr 2019/35/D/ST8/02087.

## **Światło jako czynnik modyfikujący wybrane aspekty metabolizmu grzybów**

*dr hab. Anna Pawlik, Katedra Biochemii i Biotechnologii, Instytut Nauk Biologicznych, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej*

Światło jest bardzo ważnym czynnikiem środowiskowym warunkującym życie na Ziemi. Dla większości żywych organizmów stanowi źródło energii i/lub informacji o otaczającym świecie, a zdolność do odbierania bodźców świetlnych wpływa na ich przewagę ewolucyjną oraz przetrwanie w naturze.

Grzyby wykorzystują światło jako źródło informacji o otaczającym je środowisku, które kontroluje m.in. procesy metaboliczne, cykle rozwojowe, morfogenezę, adaptacje fizjologiczne, rytmy cyrkadiańskie i odpowiedź komórek na stres. Wielokrotnie wykazano, że organizmy te są w stanie odbierać sygnały świetlne za pomocą białkowych receptorów, które przekształcając informacje środowiskowe zawarte w świetle są zdolne do wywołania określonej reakcji biologicznej organizmu. Cechą wspólną wszystkich fotoreceptorów jest obecność charakterystycznej dla tego typu struktur niebiałkowej grupy chromoforowej, która warunkuje aktywność biologiczną. Te główne klasy fotoreceptorów odpowiedzialne są za odbieranie światła o różnej intensywności i długości fali (barwie), tj.: od niebieskiego i UV (flawinowe kryptochromy), poprzez zielone (opsyny), aż do czerwonego i dalekiej podczerwieni (fitochromy), sugerując zdolność grzybów do detekcji specyficznych sygnałów świetlnych.

Reakcja grzybów na bodziec świetlny jest wielokierunkowa. W ostatnich latach wielokrotnie udowodniono, że pod wpływem światła różne gatunki grzybów zmieniają profil globalnej ekspresji genów, co reguluje ich metabolizm i liczne szlaki sygnałowe. Zmiany w odpowiedzi na światło zaobserwowano głównie w metabolizmie karotenoidów, polisacharydów i węglowodanów, metabolizmie kwasów tłuszczowych, nukleotydów i nukleozydów oraz regulacji wytwarzania metabolitów wtórnych. Dotychczasowe badania fotobiologii grzybów skupiają się zilustrowaniu fizjologicznego znaczenia

światła dla grzybów, jak również dotyczą regulacji metabolizmu i aktywności enzymów przez światło i możliwości wykorzystania tej właściwości do usprawnienia procesów biotechnologicznych.

# **Wystąpienia Uczestników**





## **Immobilizowane lipazy w rozdziale enancjomerów ketoprofenu**

**Oliwia Degórska**, [oliwia.degorska@doctorate.put.poznan.pl](mailto:oliwia.degorska@doctorate.put.poznan.pl), Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, [www.fct.put.poznan.pl](http://www.fct.put.poznan.pl)

**Jakub Zdarta**, [jakub.zdarta@put.poznan.pl](mailto:jakub.zdarta@put.poznan.pl), Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, [www.fct.put.poznan.pl](http://www.fct.put.poznan.pl)

**Teofil Jesionowski**, [teofil.jesionowski@put.poznan.pl](mailto:teofil.jesionowski@put.poznan.pl), Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, [www.fct.put.poznan.pl](http://www.fct.put.poznan.pl).

Znaczna liczba substancji farmaceutycznie aktywnych (API) to cząsteczki chiralne. Często zdarza się, że różne formy enancjomeryczne danego związku wykazują różne właściwości i działanie farmakologiczne. W związku ze wzrostem znaczenia syntezy API w postaci enancjomerycznie czystej, poszukuje się nowych sposobów syntezy asymetrycznej. Obecnie, biorąc pod uwagę opublikowane prace naukowe, biokataliza jest obiecującą techniką pozwalającą na otrzymanie enancjomerycznie czystych produktów. Mimo wielu zalet, enzymy są podatne na wpływ środowiska zewnętrznego, które może znacząco zaburzać ich działanie. Stąd proces immobilizacji jest szeroko stosowany do stabilizacji cząsteczki enzymu i rozszerzenia spektrum jego działania w różnych warunkach. Immobilizowane enzymy mogą być z powodzeniem stosowane podczas syntezy API, zwiększając stabilizację biokatalizatora oraz podnosząc możliwość jego wyizolowania ze środowiska reakcji nie zanieczyszczając przy tym produktu.

W przedstawianych badaniach podjęto próbę zastosowania lipazy z *Aspergillus niger* unieruchomionej na powierzchni krzemionki w syntezie enancjomerycznie czystego (R)-ketoprofenu w środowisku wodnym z mieszaniny racemicznej ketoprofenu. Immobilizacja lipazy z *Aspergillus niger* skutkowała wytworzeniem wysoce stabilnych i aktywnych biokatalizatorów, które zachowały ponad 80% swojej aktywności w szerokim zakresie warunków procesowych, głównie dzięki ochronnemu działaniu nośnika.

Najwyższą wydajność procesu i nadmiar enancjomeryczny, odpowiednio 51,1% i 97,1%, uzyskano dla biokatalizatora otrzymanego przez fizyczne unieruchomienie lipazy i jej częściową aktywację międzyfazową. Przedstawione podejście biokatalityczne może znacznie zmniejszyć zużycie rozpuszczalników organicznych, umożliwiając prowadzenie reakcji przy użyciu wyłącznie roztworów wodnych, takich jak bufony.

## **Kinaza PERK i jej inhibicja w leczeniu jaskry pierwotnej otwartego kąta**

**Julia Barczuk**, [julia.barczuk@stud.umed.lodz.pl](mailto:julia.barczuk@stud.umed.lodz.pl), Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://zchbk.umed.pl/kontakt/>

**Wioletta Rozpędek-Kamińska**, [wioletta.rozpedek@umed.lodz.pl](mailto:wioletta.rozpedek@umed.lodz.pl), Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://zchbk.umed.pl/kontakt/>

**Grzegorz Galita**, [grzegorz.galita@umed.lodz.pl](mailto:grzegorz.galita@umed.lodz.pl) Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://zchbk.umed.pl/kontakt/>

**Natalia Siwecka**, [natalia.siwecka@stud.umed.lodz.pl](mailto:natalia.siwecka@stud.umed.lodz.pl) Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://zchbk.umed.pl/kontakt/>

**Ireneusz Majsterek**, [ireneusz.majsterek@umed.lodz.pl](mailto:ireneusz.majsterek@umed.lodz.pl) Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, <http://zchbk.umed.pl/kontakt/>

Kinaza PERK znajduje się w retikulum endoplazmatycznym (ER) komórki i odgrywa kluczową rolę w kontroli szlaku adaptacyjnej odpowiedzi na stres (UPR) istotnego w patogenezie jaskry pierwotnej otwartego kąta. Enzym ten zostaje aktywowany podczas stresu ER mającego miejsce na przykład podczas zwiększonego ciśnienia śródgałkowego towarzyszącego jaskrze. Uważa się, że jego inhibicja może stanowić innowacyjne podejście do leczenia jaskry pierwotnej otwartego kąta.

Z linii ludzkich komórek sieci beleczkowania (HTM) wyizolowano RNA i przepisano na cDNA. Następnie dokonano oceny ekspresji trzech genów związanych ze stresem ER: ATF4, DDIT3 i BAX. Przeanalizowano aktywność kaspazy-3 w celu zbadania poziomu apoptozy. Komórki HTM inkubowano przez 24 h z inhibitorem PERK o stężeniach 3-50  $\mu\text{M}$  lub z 0,1% DMSO. Pozytywną kontrolę stanowiły komórki HTM potraktowane staurosporyną o stężeniu 1  $\mu\text{M}$  przez 16 h, a kontrolę negatywną komórki hodowane przez 24 h jedynie w medium. W celu zbadania efektu inhibitora PERK na komórki HTM w stanie stresu ER potraktowano je przez 1 h badanym inhibitorem PERK o stężeniach 3  $\mu\text{M}$  i 25  $\mu\text{M}$ , a następnie przez 24 h tapsygarginą (Th)-induktorem stresu ER, o stężeniu 500 nM.

W komórkach HTM z zainicjowanym stresem ER i potraktowanych inhibitorem PERK o stężeniu 25  $\mu\text{M}$  wykazano znaczące obniżenie ekspresji genów proapoptotycznych ATF4, DDIT3, kodującego białko CHOP, oraz Bax w porównaniu do komórek potraktowanych jedynie Th. W żadnym zastosowanym stężeniu inhibitora PERK nie wykazano istotnego wzrostu aktywności kaspazy-3 w komórkach HTM po 24 h inkubacji. Wykryto istotny spadek aktywności kaspazy-3 po 24 h inkubacji z badanym inhibitorem w stężeniu 25  $\mu\text{M}$  względem komórek HTM potraktowanych jedynie Th.

Uzyskane dane wskazują, że badany niskocząsteczkowy inhibitor PERK nie inicjuje znacznego wzrostu poziomu apoptozy zależnej od kaspazy-3 w komórkach HTM, a także efektywnie obniża stres ER, dzięki czemu może znaleźć zastosowanie w terapii jaskry.

## **Metoda wyznaczania energii aktywacji i dezaktywacji bioprocessów z zastosowaniem membrany enzymatycznej**

*Justyna Miłek, [jmilek@pbs.edu.pl](mailto:jmilek@pbs.edu.pl), Zakład Inżynierii Chemicznej i Bioprocessowej, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich <https://wtiich.pbs.edu.pl/pl/pracownik/justyna-milek>*

Związki fenolowe trwale zanieczyszczają ekosystemy wodne głównie ze względu na ich szkodliwy wpływ na organizmy, nawet w bardzo niskich stężeniach. Toksyczna woda może wywołać u ludzi poważne problemy zdrowotne, takie jak uszkodzenie mózgu, ośrodkowego układu nerwowego i wątroby. Tak więc, usuwanie toksycznych związków fenolowych jest ważnym problemem środowiskowym. W oczyszczaniu ścieków opracowano różne metody, takie jak proces adsorpcji, degradacja biochemiczna, koagulacja, proces membranowy i degradacja oksydacyjna. W prezentowanym przypadku rozważono procesy membranowe (nanowłókniste przegrody filtracyjne), których zadaniem było m.in. zatrzymanie na warstwie membrany niebezpiecznych substancji. W naszym przypadku na membranie z akrylonitrylu AN oraz utworzonym nanowłóknem z poli(alkoholu winylowego) (PVA) oraz poliakrylamidu (AAm) (PVA – PAAm) immobilizowana była peroksydaza chrzanowa.

W pracy przedstawiono wyznaczanie energii aktywacji i dezaktywacji oraz optymalnych temperatur fenolu usuwanego przez peroksydazę chrzanową (HRP). Przeanalizowano krzywe aktywności peroksydazy chrzanowej w funkcji temperatury. W modelu matematycznym opisującym peroksydazę chrzanową założono, że zarówno usuwany fenol, jak i dezaktywacja peroksydazy chrzanowej były opisane reakcjami pierwszego rzędu ze względu na stężenie enzymu. Dla peroksydazy chrzanowej unieruchomionej odpowiednio na membranie kopolimeru akrylonitrylowego (AN) i nanowłókna poli(alkoholu winylowego)-poliakryloamidu (PVA-PAAm) wyznaczone optymalne temperatury  $T_{opt}$ , które wynosiły odpowiednio  $305,18 \pm 1,32$  K i  $324,38 \pm 1,22$  K, energie aktywacji  $E_r$  wyniosły odpowiednio  $42,05 \pm 9,27$  kJ/mol

i  $41,14 \pm 25,80$  kJ/mol, a energie dezaktywacji  $E_d$  wyniosły odpowiednio  $52,85 \pm 7,42$  kJ/mol i  $197,61 \pm 52,38$  kJ /mol. Otrzymane wyniki mogą znaleźć zastosowanie w projektowaniu oraz modelowaniu procesu w którym usuwany jest fenol.

## **Rola fosfatazy białkowej 2A w chorobach układu krążenia**

**Maciej Lazarek**, [lmaciej350@gmail.com](mailto:lmaciej350@gmail.com), Interdyscyplinarne Koło Internistyczne, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, <https://www.cm.umk.pl>

Fosfataza białkowa 2A (PP2A) jest sercową fosfatazą białkową, która reguluje liczne procesy sercowe, w tym pobudzenia skurczu, gospodarkę jonów wapnia, metabolizm komórkowy, regulację miofilamentów i komunikację na poziomie komórkowym. Co więcej, obecne odkrycia potwierdzają ważną rolę fosfataz białkowych zarówno w stanach fizjologicznym, jak i patologicznych, na przykład poprzez modulację sygnalizacji adrenergicznej.

Przeszukano bazy PubMed, ClinicalKey oraz ClinicalTrials.gov by znaleźć materiały omawiające związek PP2A z chorobami układu krążenia.. Korzystano z prac i badań z lat 2012-2022 wyszukując przy pomocy wyrażeń takich jak „PP2A heart”, „PP2A cardiology”, „phosphatase heart”, „protein phosphatase 2A”, „phosphatase cardiac”, „phosphatase vascular”. Celem było ukazanie w jaki sposób fosfataza białkowa 2A wpływa na przebieg zaburzeń układu sercowo-naczyniowego.

Regulacja ekspresji i aktywności PP2A jest niezbędna do utrzymania prawidłowego funkcjonowania, a aberracje w tym zakresie mogą przyczyniać się do patofizjologii serca. Wykazano, że fosfataza białkowa 2A poprawia czynnościową odpowiedź serca na niedokrwienie. Ważna może być rola sercowych mikroRNA (miRNA) które są niekodującym RNA, biorącym udział w wielu procesach biologicznych poprzez posttranskrypcyjną regulację ekspresji genów kodujących białka.

Konieczne są dalsze szczegółowe badania dotyczące szlaków biochemicznych, których dotyczy metabolizm fosfatazy białkowej 2A. Można stwierdzić, że PP2A będzie obiektem badań dotyczących leczenia farmakologicznego w kardiologii takich stanów jak na przykład niedokrwienie mięśnia sercowego.



## **Rola krzemu w procesach detoksykacyjnych zależnych od glutationu w roślinach poddanych stresowi kadmowemu**

**Aleksandra Orzoł**, [ola.orzol@umk.pl](mailto:ola.orzol@umk.pl), Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [wydzial@chem.umk.pl](mailto:wydzial@chem.umk.pl)

**Małgorzata Szultka-Młyńska**, [mszultka@umk.pl](mailto:mszultka@umk.pl), Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [wydzial@chem.umk.pl](mailto:wydzial@chem.umk.pl)

**Katarzyna Głowacka**, [kasiag@uwm.edu.pl](mailto:kasiag@uwm.edu.pl), Katedra Fizjologii, Genetyki i Biotechnologii Roślin, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, [dziekbiol@uwm.edu.pl](mailto:dziekbiol@uwm.edu.pl)

**Aneta Krakowska-Sieprawska**, [akrakowska@umk.pl](mailto:akrakowska@umk.pl), Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [icnt@umk.pl](mailto:icnt@umk.pl)

**Michał Złoch**, [michal.zloch@umk.pl](mailto:michal.zloch@umk.pl), Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [icnt@umk.pl](mailto:icnt@umk.pl)

**Bogusław Buszewski**, [bbusz@chem.umk.pl](mailto:bbusz@chem.umk.pl), Katedra Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydział Chemii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [wydzial@chem.umk.pl](mailto:wydzial@chem.umk.pl); Interdyscyplinarne Centrum Nowoczesnych Technologii, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, [icnt@umk.pl](mailto:icnt@umk.pl)

Krzem pierwiastkowy (Si) jest drugim z najobficiej występujących pierwiastków w skorupie ziemskiej. Chociaż Si nie jest uważany za niezbędny pierwiastek dla roślin wyższych, udowodniono jego korzystny wpływ na wzrost i rozwój wielu gatunków roślin, szczególnie w warunkach stresowych. Ekspozycja roślin na czynniki stresowe (takie jak metale ciężkie) powoduje wystąpienie w nich stresu oksydacyjnego i nadprodukcję reaktywnych form tlenu (RFT). Jednym z głównych zanieczyszczeń niosących największe zagrożenie dla środowiska jest kadm. Jego toksyczne działanie prowadzi do zmniejszenia pobierania i przemieszczania składników odżywczych i wody w roślinach. Powstałe uszkodzenia oksydacyjne indukują zaburzenia metabolizmu roślin, a także prowadzą do zahamowania w nich procesów morfologicznych i fizjologicznych. Jednym z elementów obronnych roślin należących do systemu antyoksydacyjnego jest glutation. W komórkach roślinnych bierze on udział w bezpośrednim usuwaniu RFT, a przed toksycznym

działaniem metali chroni komórki poprzez koniugację metali, będąc jednocześnie prekursorem syntezy fitochelatyn. Celem prezentowanych badań było określenie wpływu Si na zawartość całkowitego glutationu, glutationu utlenionego (GSSG) i zredukowanego (GSH) oraz aktywność reduktazy glutationu (GR) w pędach i korzeniach grochu siewnego (*Pisum sativum* L.) w warunkach stresu wywołanego obecnością Cd. W doświadczeniu wykorzystano 6-tygodniowe rośliny, które traktowano Cd ( $50 \mu\text{M CdSO}_4$ ) i/lub suplementowano 1 lub 2 mM  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ . Doświadczenie przeprowadzono w uprawie hydroponicznej w kontrolowanych warunkach. Analizy wykonano stosując metody spektrofotometryczne. Uzyskane wyniki umożliwiły określenie funkcji Si w procesach detoksykacyjnych zależnych od glutationu w warunkach stresu oksydacyjnego indukowanego przez Cd.

Podziękowania: Praca została wykonana dzięki wsparciu finansowemu grantu NCN Opus 18 2019/35/B/ST4/02791 (2020-2024) z Narodowego Centrum Nauki w Krakowie (Polska).

## **Rola proteazy EGY2 w regulacji poziomu akumulacji białek PsA oraz PsB w osobnikach rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) w warunkach stresu świetlnego**

**Tomasz Duda**, [tomaszduda12345@gmail.com](mailto:tomaszduda12345@gmail.com), Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, <https://amu.edu.pl/>

Celem badania było poznanie wpływu proteazy EGY2 na akumulację białek PsA i PsB w osobnikach rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) w warunkach stresu świetlnego. EGY2 jest cynkową proteazą wewnątrz błonową, zlokalizowaną w błonie tylakoidu. Należy ona do grupy tak zwanych proteaz miejsca 2 (S2P), które pomimo iż występują w komórkach wszystkich organizmów, zostały one odkryte względnie niedawno. Fizjologiczne funkcje tego typu proteaz w niedalekiej przeszłości były nieznane, jednak wiadomo już, iż biorą one udział w regulacji ekspresji genów, przez co wpływają na poziom akumulacji białek. Wykazano, że EGY2 zaangażowana jest w regulację poziomu akumulacji białek chloroplastowych, w tym kodowanych przez geny chloroplastowe białek centrum reakcji fotosystemu II. Mutanty *egy2* wykazały zwiększoną akumulację białek PsbA oraz zmniejszoną białka PsbD w błonie tylakoidu. Nie ma jednak informacji na temat roli EGY2 w regulacji ekspresji genów kodujących białka fotosystemu I – PsA i PsB, które również kodowane są przez geny chloroplastowe. W celu porównania poziomu akumulacji tych białek rośliny typu dzikiego (WT) oraz dwie linie mutantów pozbawione EGY2 poddane zostały stresowi świetlnemu przez okres 3 h. Następnie z roślin kontrolnych i roślin wyeksponowanych na stres wyizolowano białka chloroplastowe, a otrzymane preparaty rozdzielono z wykorzystaniem elektroforezy denaturującej w systemie Laemmli. Rozdzielone białka przeniesiono na błonę PVDF i poddano procesowi immunoblottingu z wykorzystaniem przeciwciał anti-PsA i anti-PsB. Wykazano, że u mutantów *egy2* poziom obu białek w warunkach kontrolnych jest niższy niż u WT. W odpowiedzi na stres świetlny poziom PsA spada zarówno u mutantów, jak i WT, natomiast

poziom PsaB spada u WT, zaś u mutantów *egy2* bez istotnych statystycznie zmian. Jest więc prawdopodobne, iż EGY2 jest zaangażowane w regulację poziomu akumulacji obu białek, jednak, aby zinterpretować dane wyniki konieczne będą dalsze analizy.

## **Stereospecyficzna redukcja ksenobiotycznych ketonów przy użyciu katalizatorów roślinnych**

**Wanda Mączka**, [wanda.maczka@upwr.edu.pl](mailto:wanda.maczka@upwr.edu.pl), Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <https://wbinoz.upwr.edu.pl/wydzial/struktura-wydzialu/katedra-chemii>

**Małgorzata Grabarczyk**, [malgorzata.grabarczyk@upwr.edu.pl](mailto:malgorzata.grabarczyk@upwr.edu.pl), Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <https://wbinoz.upwr.edu.pl/wydzial/struktura-wydzialu/katedra-chemii>

**Katarzyna Wińska**, [katarzyna.winska@upwr.edu.pl](mailto:katarzyna.winska@upwr.edu.pl), Katedra Chemii Żywności i Biokatalizy, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, <https://wbinoz.upwr.edu.pl/wydzial/struktura-wydzialu/katedra-chemii>

Zróżnicowane strukturalnie produkty naturalne są cenione za ukierunkowaną aktywność biologiczną. Kultury roślinne są stosowane przede wszystkim do otrzymywania unikalnych metabolitów wtórnych, często nieemożliwych do uzyskania w kulturach mikroorganizmów. Ogromny potencjał biochemiczny komórek roślinnych został również wykorzystany w biotransformacjach, które mogą być prowadzone zarówno przy użyciu kultur roślinnych, jak i rozdrobnionych tkanek. Celem pracy było pokazanie możliwości zastosowania obu postaci biokatalizatorów do stereospecyficznego zredukowania ksenobiotycznych substratów. Jako substrat modelowy został wybrany acetofenon będący ketonem aromatyczno-alifatycznym oraz karwon jako przykład terpenoidu. W przypadku transformacji acetofenonu zastosowanie rozdrobnionego miąższu marchwi w miejsce kultur komórkowych pozwala znacząco zwiększyć stopień przereagowania substratu przy znacznej redukcji czasu trwania procesu. Wykorzystując rozdrobniony miąższ marchwi i selera do redukcji acetofenonu z grupą metoksylową w pozycji meta otrzymano S(-)-1-(3-metoksyfenilo)etanol z wydajnością 100% po 48 h prowadzenia procesu. Natomiast podczas biotransformacji karwonu przebieg transformacji silnie zależy od gatunku rośliny. Podczas transformacji prowadzonych przy użyciu rozdrobnionego miąższu warzyw i owoców obserwowano zarówno redukcję podwójnego wiązania w pierścieniu, jak i grupy

karbonylowej. Z kolei redukcja jedynie grupy karbonylowej, bez naruszenia podwójnych wiązań, następowała gdy biokatalizatorem był kokos, trzcina cukrowa czy maniok. Otrzymane produkty biotransformacji mogą znaleźć zastosowanie jako związki zapachowe oraz syntony w produkcji farmaceutyków.

## **Unieruchomiona lakaza jako potencjalne narzędzie do usuwania estrogenów z roztworów wodnych**

**Agnieszka Rybarczyk**, *aga.rybarczyk14@gmail.com*, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska

**Jakub Zdarta**, *jakub.zdarta@put.poznan.pl*, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska

**Teofil Jesionowski**, *teofil.jesionowski@put.poznan.pl*, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska

Problemem coraz szerzej występującym w zakresie ochrony środowiska jest obecność środków farmaceutycznych w wodach powierzchniowych. Farmaceutyki, stanowiące grupę związków bioaktywnych stosowaną w lecznictwie, nie są w pełni metabolizowane, a usuwanie ich z organizmu w niezmienionej formie może wywołać negatywne skutki w środowisku. Obecnie, oprócz leków wydawanych bez recepty i antybiotyków, najczęściej pojawiającymi się substancjami farmaceutycznymi w wodach powierzchniowych są środki hormonalne. Hormony, określane mianem bioregulatorów, odpowiadają za pobudzenie bądź spowolnienie pracy poszczególnych narządów, kontrolując tym samym funkcje zachodzące w każdym organizmie żywym. Szczególną uwagę należy zwrócić na estrogeny, naturalne lub syntetyczne związki steroidowe, które w nadmiernych ilościach mogą prowadzić do zaburzenia czynności narządów i powstania wielu chorób. Poszukiwanie efektywnych metod usuwania tego typu zanieczyszczeń doprowadziło do opracowania rozwiązania wykorzystującego proces immobilizacji enzymów na stałym nośniku. Warty uwagi rozwiązaniem jest zaprojektowanie matrycy z wykorzystaniem technologii druku 3D, dającej możliwość efektywnego unieruchomienia biokatalizatorów z uwzględnieniem najlepszej geometrii materiału nośnego. W przeprowadzonych badaniach wykorzystano lakazę, która wraz z polilaktydowym nośnikiem stworzyła biokatalityczny układ zastosowany w procesie usuwania  $17\beta$ -estradiolu i  $17\alpha$ -etynyloestradiolu. Analiza otrzymanych rezultatów jednoznacznie wskazała na możliwość naniesienia znacznych ilości enzymu na powierzchnię nośnika, co

potwierdza przekraczającą 90% wydajność i zachowaną aktywność katalityczną układów dochodząca do 85%. Równocześnie wykazano, że początkowe stężenie lakazy wynoszące 10 mg/mL oraz prowadzenie procesu przez 24 h stanowią najbardziej korzystne warunki realizacji immobilizacji.

Podziękowania:

Autor uzyskał środki finansowe w ramach projektu badawczego Narodowego Centrum Nauki nr 2019/35/D/ST8/02087.



## **Wpływ kinazy aktywowanej 5'AMP na mechanizmy immunologiczne**

**Maciej Lazarek**, *lmaciej350@gmail.com*, *Interdyscyplinarne Koło Internistyczne, Wydział Lekarski, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu*, <https://www.cm.umk.pl>

Kinaza aktywowana 5'AMP (AMPK) jest enzymem należącym do transferaz, który odgrywa ważną rolę w regulacji energii w komórkach, głównie w celu aktywacji wchłaniania i utleniania glukozy i kwasów tłuszczowych w czasie występowania niskich poziomów energii komórkowej. Oprócz komórkowych procesów energetycznych AMPK bierze udział w licznych procesach immunologicznych będących celem badań naukowych.

Przeszukano bazy PubMed, ClinicalKey oraz ClinicalTrials.gov by znaleźć materiały omawiające związek AMPK z procesami immunologicznymi.. Korzystano z prac i badań z lat 2012-2022 wyszukując przy pomocy wyrażen takich jak „AMP-activated protein kinase immunology”, „AMPK immunology”, „AMPK tumor”, „AMPK cancer”, „AMPK oncology”, „AMPK aging”. Celem było ukazanie w jaki sposób kinaza aktywowana 5'AMP wpływa na układ odpornościowy.

AMPK odpowiada za reakcje immunologiczne dotyczące zarówno odporności wrodzonej, jak i nabytej. W badaniach wykazano działanie zarówno przeciwzapalne jak i hamujące namnażanie komórek nowotworowych przy działaniu omawianego enzymu.

Mając na uwadze mnogość procesów, które dzieją się przy udziale kinazy aktywowanej 5'AMP, aktywatory AMPK mogą być obiecującym elementem badań jeśli chodzi o leczenie nowotworów czy chorób autoimmunologicznych. Konieczne są jednak dalsze badania nad metabolizmem AMPK i wpływem tego enzymu na mechanizmy odpornościowe.

## **Zastosowanie enzymu z grupy anhidraz węglanowych (CA) w procesie samoregeneracji (samonaprawy) kompozytów cementowych**

**Waldemar Łasica**, [waldemar.lasica@wat.edu.pl](mailto:waldemar.lasica@wat.edu.pl), Laboratorium Badawcze WIG, Wydział Inżynierii Lądowej i Geodezji, Wojskowa Akademia Techniczna, [www.wat.edu.pl](http://www.wat.edu.pl)

**Marcin Małek**, [marcin.malek@wat.edu.pl](mailto:marcin.malek@wat.edu.pl), Laboratorium Badawcze WIG, Wydział Inżynierii Lądowej i Geodezji, Wojskowa Akademia Techniczna, [www.wat.edu.pl](http://www.wat.edu.pl)

Temat wystąpienia dotyczył procesu samoregeneracji (samonaprawy) struktury wewnętrznej kompozytów na spoiwach hydraulicznych z wykorzystaniem enzymu z grupy anhidraz węglanowych (CA). Dokonano porównania nowej metody samonaprawy struktury kompozytów cementowych z metodami mikrobiologicznymi, wykorzystującymi obecność kultur bakterii *Bacillus Pasteurii* oraz *Bacillus Megaterium*, generujących w procesie metabolizmu kalcyt. Przedstawiono innowacyjną metodę projektowania składów receptur kompozytów cementowych modyfikowanych enzymem z grupy anhidraz węglanowych. Opisano mechanizmy działania samoregeneracji struktury kompozytów zawierających enzym który w kontakcie z dwutlenkiem węgla generuje kryształy węglanu wapnia niezbędnego w procesie wypełniania makrorys strefy przypowierzchniowej oraz mikrorys strefy przejściowej kruszywo-matryca spoiwowa. Scharakteryzowano właściwości mechaniczne i trwałość elementów konstrukcyjnych zaprojektowanych z materiału samonaprawialnego. Zawarto wyniki badań w zakresie trwałości materiału, wytrzymałości mechanicznej w zakresie statycznego i dynamicznego oddziaływania obciążenia, tj. badanie nasiąkliwości, wodoszczelności i mrozoodporności oraz wytrzymałości charakterystycznej na ściskanie, wytrzymałości na rozciąganie przy zginaniu i rozłupywaniu. Przedstawiono wyniki badań zmodyfikowanej struktury wewnętrznej kompozytów cementowych w zakresie parametrów cieplnych, tj. współczynnik przewodzenia ciepła, dyfuzyjność cieplna oraz ciepło właściwe. Dokonano opisu wpływu zastosowania enzymu z grupy anhidraz węglanowych (CA) na redukcję emisji CO<sub>2</sub>, tj. zmniejszenie śladu węglowego w cyklu życia wyrobu budowlanego.

## Zastosowanie układu hybrydowego typu $M_xO_y$ /fukoidyna w procesie immobilizacji lipazy

**Agnieszka Kołodziejczak-Radzimska**, *agnieszka.kolodziejczak-radzimska@put.poznan.pl*, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, Wydział Technologii Chemicznej, Politechnika Poznańska, *www.put.poznan.pl*

Nowatorski układ hybrydowy  $M_xO_y$ /fukoidyna zastosowano w procesie immobilizacji lipazy. W tym celu jako  $M_xO_y$  użyto tlenek magnezu oraz cyrkonu. W pierwszym etapie badań przeprowadzono modyfikację wybranych tlenków nieorganicznych fukoidyną z *Fucus vesiculosus* (Fuc). Uzyskane materiały hybrydowe (MgO/Fuc oraz  $ZrO_2$ /Fuc) scharakteryzowano za pomocą metod spektroskopowych oraz termograwimetrycznych, które pozwoliły na potwierdzenie skuteczności funkcjonalizacji fukoidyną. Na podstawie uzyskanych wyników zaproponowano mechanizm modyfikacji fukoidyną, w którym pokazano, że polisacharyd przyłączył się bezpośrednio do powierzchni tlenku magnezu tworząc wiązanie wodorowe, natomiast wiązanie wodorowe z tlenkiem cyrkonu zostało wygenerowane poprzez cząsteczkę wody. Następnie, otrzymane materiały hybrydowe zastosowano jako nośniki w procesie immobilizacji lipazy z *Aspergillus niger* (LAN). Uzyskane układy biokatalityczne (MgO/Fuc/LAN oraz  $ZrO_2$ /Fuc/LAN), zastosowano w reakcji hydrolizy palmitynianu p-nitrofenylu do p-nitrofenolu, w celu określenia ich aktywności katalitycznej. Otrzymane wyniki wskazały na wysoką rzeczywistą oraz specyficzną aktywność enzymatyczną wynoszącą odpowiednio: 145,5 U/g katalizator oraz 1,58 U/mg enzym dla lipazy immobilizowanej na MgO/Fuc; 144,0 U/g katalizator oraz 2,03 U/mg enzym dla lipazy immobilizowanej na  $ZrO_2$ /Fuc. Wykazano również, że immobilizowana lipaza zachowuje ok. 40% swojej początkowej aktywności w różnych temperaturach (10-70°C) oraz po 12 cyklach reakcyjnych. Dodatkowo efektywność immobilizacji potwierdzono za pomocą analizy spektroskopowej (FTIR, XPS) oraz mikroskopii konfokalnej, na podstawie których stwierdzono, że enzym związał się w matrycę poprzez oddziaływania elektrostatyczne.

Podziękowania: Badania zostały sfinansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach subwencji dla Politechniki Poznańskiej nr 0912/SBAD/2206.

## Indeks Autorów

Barczuk J.....	19
Buszewski B.....	24
Degórska O.....	17
Duda T.....	26
Galita G.....	19
Głowacka K.....	24
Grabarczyk M.....	28
Jesionowski T.....	17, 30
Kołodziejczak-Radzimska A.....	34
Krakowska-Sieprawska A.....	24
Lazarek M.....	23, 32
Łasica W.....	33
Majsterek I.....	19
Małek M.....	33
Mączka W.....	28
Miłek J.....	21
Orzoł A.....	24
Pawlik A.....	13
Rozpędek-Kamińska W.....	19
Rybarczyk A.....	30
Siwecka N.....	19
Szultka-Młyńska M.....	24
Wińska K.....	28
Zdarta J.....	11, 17, 30
Złoch M.....	24

*VIII Konferencja Naukowa ENZYMOS „Enzymy w nauce i przemyśle”*  
odbyła się online 22 września 2022 roku.

Celem Wydarzenia była naukowa refleksja nad wynikami badań z zakresu enzymologii, a także analiza i przybliżenie prac przeglądowych. Tematyka Konferencji dotyczyła m.in. stosowania preparatów enzymatycznych w przemyśle, diagnostyce, farmacji czy medycynie. Gośćmi Honorowymi Wydarzenia byli: dr hab. inż. Jakub Zdarta (Politechnika Poznańska), który zaprezentował pracę pt.: „Immobilizowane oksydoreduktazy – potencjalne biokatalizatory w procesach usuwania mikrozanieczyszczeń” oraz dr hab. Anna Pawlik (Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej), która wygłosiła wykład pt.: „Światło jako czynnik modyfikujący wybrane aspekty metabolizmu grzybów”. W Spotkaniu wzięli udział studenci, doktoranci i pracownicy naukowcy reprezentujący różne ośrodki badawcze.

Organizatorem Konferencji była Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL.

