



סמינריון

הנך מוזמן/ת להרצאה סמינריונית של הפקולטה להנדסת ביוטכנולוגיה ומזון

מרצה: שלו גיחז

מנחה: פרופ' אילת פישמן

נושא הסמינר בעברית:

הגברת העמידות של ליפאז T6 מ-*Geobacillus stearothermophilus*

כוז ביולוגי בממסים אורגנים

נושא הסמינר באנגלית:

Stabilization of lipase T6 from *Geobacillus stearothermophilus* as an efficient biocatalyst in organic solvents

תקציר ההרצאה בעברית: **** ההרצאה תינתן בשפה האנגלית****

השימוש באנזימים בסביבה אורגנית כקטליזטורים הייתה ועודנה רצויה בכימיה סינטטית בשל השיפור במסיסות של סובסטרטים הידרופוביים בתווך האל-מימי והימנעות מזיהום מיקרוביאלי. עם זאת, המכשול העיקרי הוא יציבות מוגבלת של אנזימים בסביבה דנטורטיבית כזו. מטרת המחקר היא לשפר את היציבות של האנזים ליפאז T6 מהחידק התרמופילי *Geobacillus stearothermophilus* (LipT6) במתנול לצורך ייצור ביוטכנולוגי של ביודיזל. המחקר התמקד בשתי גישות: (i) קיבוע במטריצה תומכת ו-(ii) הנדסת חלבון בעזרת עיצוב מושכל המבוסס על המבנה הגבישי של האנזים.

בגישה הראשונה, מוטנט יציב במתנול של LipT6 נכלא במטריצת סול-ג'ל ונבדק בתגובת אסטרפיקציה בהקסאן. התוצאות הטובות ביותר התקבלו עבור קיבוע במטריצת סיליקה בעלת שיירים ארומטים וכאשר האנזים קובע כתערובת חלבוני התא המבטא ללא ניקוי. האנזים המקובע הביא לשיפור ניכר בניצולת ייצור הביודיזל משמן עופות המיועד לפסולת. בגישה השנייה, שתי דרכים יושמו: (א) הנדסת תעלות ממס (מים) ו-(ב) הוספת קשרי גופרית. איתור תעלות מים במבנה של LipT6 נעשה בעזרת כלים חישוביים ומוטציות ספציפיות הושרו באותם אזורים לשיפור האריזה ההידרופובית של החלבון. במקביל, עיצוב מושכל של קשרים דיסולפידים נועד להוסיף קשר קוולנטי נוסף ברצף החלבון לשיפור היציבות. שתי הדרכים נמצאו מוצלחות בעיצוב מוטנטים יציבים במתנול כאשר קביעת המבנים הגבישיים בעזרת קרני X איפשרה להבין את הקשר בין המבנה והתיפקוד.

Abstract: **** Lecture will be held in English****

The utilization of enzymes in non-aqueous media has been an ongoing aspiration in synthetic chemistry and holds advantages such as increased solubility of hydrophobic substrates and the elimination of microbial contamination. However, one major obstacle is the limited stability of biocatalysts in such a denaturing environment. The goal of this work was to improve the stability of lipase from *Geobacillus stearothermophilus* T6 (LipT6) in methanol towards enhanced production of biodiesel. The project focused on two approaches: (i) immobilization in inert matrices, and (ii) protein engineering by rational design based on its crystal structure.

In the first approach, a methanol-stable mutant of LipT6 was immobilized in sol-gel matrices and examined for its esterification performance in hexane. Best results were obtained for a matrix functionalized with aromatic residues using a crude enzyme extract. The immobilized enzyme greatly improved the biodiesel productivity from waste chicken oil. In the second approach two concepts were applied: (a) solvent tunnel engineering, and (b) disulfide bond integration. LipT6 solvent tunnels were detected using computational tools and aromatic substitutions were introduced to improve hydrophobic packing. In parallel, rational design of disulfide bonds added covalent bonds in the enzyme sequence. Both concepts were successful in constructing variants with improved methanol-stability while X-ray structural determination enabled to resolve the correlation between structure and function.

יום ד' 05.06.2019, כיתה 300, 14:00 – 15:00