

**Zgłoszenie zagadnienia badawczego realizowanego
w Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej
w dyscyplinie nauki chemiczne
w Jednostce: Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN**

1	Nazwisko i imię promotora, tytuł/stopień naukowy, jednostka, adres e-mail	Prof. dr hab. Maciej Szaleniec, Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk, Niezapominajek 8. 30-239 Kraków maciej.szaleniec@ikifp.edu.pl
2	Nazwisko i imię promotora pomocniczego (opcjonalnie), jednostka, adres e-mail	
3	Temat zagadnienia badawczego+ krótki (do 250 słów) opis tematyki badawczej	<p>Wolframowa oksydoreduktaza aldehydów/hydrogenaza – badania mechanizmu reakcji enzymatycznej i zastosowanie do syntezy związków organicznych</p> <p>Celem projektu jest dogłębne poznanie oksydoreduktazy aldehydowej z <i>Aromatoleum aromaticum</i> (AOR), enzymu należącego do klasy enzymów W-AOR, który jest odpowiedzialny za detoksykację bakterii z toksycznych aldehydów. AOR nie tylko katalizuje utlenianie szerokiej gamy aldehydów jednocześnie redukując NAD⁺, ale również okazał się nową hydrogenazą, zdolną do utleniania wodoru i redukcji kwasów karboksylowych oraz redukcji NAD⁺ do NADH. Fakt ten czyni enzym interesującym nie tylko ze względów naukowych, ale również ze względu na potencjalne zastosowania w przemyśle biotechnologicznym. Istnieje także możliwość skonstruowania enzymatycznych układów do katalizowania procesów kaskadowych np. H₂-zależnej redukcji kwasów karboksylowych do alkoholi (z wykorzystaniem NADH-zależnych dehydrogenaz alkoholowych) czy kondensacji aldolowej z wykorzystaniem aldolaz bakteryjnych (np. hydratazy-aldolazy (NahE) z <i>Pseudomonas putida</i> G7m lub keto-kwasowej aldolazy A5VH82 z <i>Sphingomonas wittichii</i> RW1). Projekt będzie koncentrował się zarówno na wyjaśnieniu podstaw mechanizmu reakcji (ukierunkowana mutageneza,</p>

		<p>testy kinetyczne w stanie stacjonarnym i przed stacjonarnym, testy z substratami znakowanymi izotopowo, badania nowych substratów) jak i aplikacji samego enzymu AOR (lub jego wariantów ulepszonych w procesie ukierunkowanej ewolucji) lub kilku enzymów w układach kaskadowych w celu syntezy cennych związków organicznych. Systemy kaskadowe zostaną opracowane zarówno w układach <i>in vitro</i> jak i w komórkach produkujących enzymy rekombinowane, co pozwoli na testy katalityczne w układach całokomórkowych. Projekt będzie wykonywany w ścisłej kooperacji z grupą prof. Johanna Heidera z Uniwersytetu w Marburgu, grupą prof. Ulfa Hanefeldta z Technische Universiteit Delft w Niderlandach (enzym SwHKA), grupą dr Francesco Muttiego na Uniwersytecie w Amsterdamie, jak i grupą prof. Davida Palmera z University of Saskatchewan w Kanadzie (enzym NahE).</p> <p>Planowane jest przynajmniej 2 miesięczny pobyt doktorata(ki) w Marburgu w grupie prof. Johanna Heidera oraz 2 miesięczny pobyt w Holandii (Amsterdam lub Delft)</p>
4	Wymagania w stosunku do kandydata (wykształcenie, umiejętności/kursy)	Magisterium z chemii, chemii biologicznej, biochemii, biotechnologii lub biofizyki; dobrze będzie widziane wcześniejsze doświadczenie w pracy z enzymami lub bakteriami lub w biologii molekularnej; z powodu międzynarodowego charakteru projektu wymagana jest gotowość do mobilności międzynarodowej oraz dobra znajomość angielskiego
5	Wskazanie możliwych źródeł i zakresu finansowania spoza subwencji, np. stypendium naukowego, kosztów badań, wyjazdów itp.	OPUS 26 (wysłane grudzień 2023);

1	Supervisor: name/surname, degree, affiliation, e-mail address	Prof. Maciej Szaleniec, Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry Niezapominajek 8. 30-239 Kraków maciej.szaleniec@ikifp.edu.pl
2	Auxiliary supervisor (optional) affiliation, e-mail address	

3	<p>Research subject</p> <p>Title</p> <p>Short description, up to 250 words</p>	<p>Tungsten Aldehyde Oxidoreductase/Hydrogenase – a study of the mechanism of the enzymatic reaction and its application to the synthesis of organic compounds</p> <p>The aim of the project is to thoroughly study of aldehyde oxidoreductase (AOR) from <i>Aromatoleum aromaticum</i>, an enzyme of the W-AOR class which is responsible for the detoxication of bacterial cells from toxic aldehydes. However, AOR is not only able to catalyse the oxidation of a wide range of aldehydes coupled with the reduction of NAD⁺. AOR turned out to be a new hydrogenase able to catalyze the H₂-dependent reduction of carboxylic acid or NAD⁺ to NADH. This fact makes the enzyme not only very interesting but also valuable for the biotechnological industry. It is also possible to construct an enzymatic cascade system, e.g. H₂-dependent reduction of carboxylic acids to alcohols (utilizing NADH-dependent alcohol dehydrogenases) or aldol condensation utilizing bacterial aldolases (e.g. class II hydroxy ketoacid aldolase A5VH82 from <i>Sphingomonas wittichii</i> RW1 (SwHKA) or trans-o-hydroxybenzylidenepyruvate hydratase-aldolase from <i>Pseudomonas putida</i> G7m) or enzymes leading to amines (amine dehydrogenase, imine reductase or ω-transaminases).</p> <p>The project will focus on both fundamental studies of the enzyme reaction mechanism (site-directed mutagenesis, steady and pre-steady state kinetics, isotope-labelled assays, exploration of new substrates) as well as on the application of the AOR alone (or its mutant variants obtained in directed evolution) and in the enzymatic cascades for the synthesis of valuable organic compounds. The cascade enzymatic systems will be developed in vitro or in the cells expressing recombinant enzymes, which will allow testing them in the whole-cell system.</p> <p>The project will be conducted in close cooperation with groups of prof. Johann Heider from Marburg University, Ulf Hanefeld from Technische Universiteit Delft, Netherlands (SwHKA), dr Francesco Mutti (AmDH, IREDs, ω-TA) from UvA, the Netherlands, prof. David Palmer from the University of Saskatchewan Canada (NahE). At least 2 months of a research stay at prof Heider group and 2 months in the Netherlands (Amsterdam or Delft)</p>
4	<p>Additional requirements to the candidate (education, skills / courses)</p>	<p>MSc in chemistry, biological chemistry, biochemistry, biotechnology or biophysics, prior experience in working with enzymes, bacteria or molecular biology would be an advantage; due to the cooperative nature of the project</p>

		international mobility is also required as well as good skill in English
5	Possible sources of financing, other than subsidy, e.g., scientific scholarship, research and travel costs, etc.	OPUS 26 (submitted December 2023)