

**Zgłoszenie zagadnienia badawczego realizowanego
w Krakowskiej Interdyscyplinarnej Szkole Doktorskiej
w dyscyplinie 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	Dr Agnieszka Wojtkiewicz, Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera Polskiej Akademii Nauk, Niezapominajek 8, 30-239 Kraków Agnieszka.wojtkiewicz@ikifp.edu.pl
3	Temat zagadnienia badawczego+ krótki (do 250 słów) opis tematyki badawczej	Rozwój enzymatycznych narzędzi do modyfikacji triterpenów i steroidów: inżynieria katalizatora do zastosowań biofarmaceutycznych Celem pracy doktorskiej będzie rozwój enzymatycznych narzędzi do katalitycznej modyfikacji triterpenów i steroidów metodami inżynierii białkowej i reakcyjnej. Głównym obiektem badań będzie bakteryjna dehydrogenaza 3-ketosteroidowa (KstD) – enzym katalizujący specyficzną dehydrogenację steroidów i triterpenów pentacyklicznych (TPs), prowadzącą do powstania biologicznie aktywnych pochodnych Δ^1 . Badania skoncentrują się na optymalizacji katalitycznych właściwości wybranych wariantów enzymu KstD poprzez zastosowanie ewolucji kierowanej oraz mutagenezy ukierunkowanej. W szczególności doktorant będzie odpowiedzialny za przygotowanie bibliotek mutacyjnych oraz

		charakterystykę aktywności uzyskanych wariantów względem pochodnych substratów zmodyfikowanych w pozycjach C11 i C12. Badania będą realizowane przy współpracy z grupą dr Johannes Rebeleina z Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology w Marburgu (6-miesięczny staż doktoranta). Dalsze prace obejmą hodowlę szczepów <i>E. coli</i> w fermentorach, izolację i oczyszczanie enzymów, a także pomiary aktywności enzymatycznej (kinetyka stanu stacjonarnego i przedstacjonarnego). Doktorant przeprowadzi charakterystykę biochemiczną najbardziej obiecujących wariantów KstD, obejmującą optima pH, tolerancję na rozpuszczalniki organiczne oraz preferencje względem akceptorów elektronów. Oczyszczone enzymy będą także wykorzystywane do preparatywnej syntezy nowych związków Δ^1-TPs, które zostaną poddane analizom LC-MS i NMR. Praca doktorska pozwoli zdobyć wiedzę i doświadczenie w zakresie inżynierii białek, enzymologii, analityki chemicznej, biotechnologii przemysłowej oraz bioanalityki.
4	Wymagania w stosunku do kandydata (wykształcenie, umiejętności/kursy)	Magisterium z chemii, chemii biologicznej, biochemii, biotechnologii, biofizyki lub pokrewne. Dobrze widziane wcześniejsze doświadczenie w technikach hodowli bakteryjnych, katalizie enzymatycznej, analityce HPLC lub LC-MS. Gotowość do mobilności międzynarodowej (6-miesięcy do 1 roku) oraz dobra znajomość języka angielskiego.
5	Wskazanie możliwych źródeł i zakresu finansowania spoza subwencji, np. stypendium naukowego, kosztów badań, wyjazdów itp.	SONATA BIS UMO-2024/54/E/ST4/00364

1	Supervisor: name/surname, degree, affiliation, e-mail address	Prof. dr hab. Maciej Szaleniec, Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry, Polish Academy of Sciences, Niezapominajek 8, 30-239 Krakow maciej.szaleniec@ikifp.edu.pl
2	Auxiliary supervisor (optional) affiliation, e-mail address	Dr Agnieszka Wojtkiewicz, Jerzy Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry, Polish Academy of Sciences, Niezapominajek 8, 30-239 Krakow Agnieszka.wojtkiewicz@ikifp.edu.pl
3	Research subject title Short description, up to 250 words	Development of enzymatic tools for modification of triterpenes and steroids – catalyst engineering for biopharmaceutical applications The aim of the doctoral thesis is to develop enzymatic tools for catalytic modification of triterpenes and steroids using protein and reaction engineering. The main research object will be bacterial 3-ketosteroid dehydrogenase (KstD) - an enzyme catalyzing specific dehydrogenation of steroids and pentacyclic triterpenes (TPs), leading to the formation of biologically active Δ^1 derivatives. The research will focus on optimizing the catalytic properties of selected KstD enzyme variants by using directed evolution and site-directed mutagenesis. In particular, the PhD student will be responsible for preparing mutational libraries and characterizing the activity of the obtained variants in relation to substrate derivatives modified at positions C11 and C12. The research will be carried out in cooperation with the group of Dr. Johannes Rebelein from the Max Planck Institute for Terrestrial Microbiology in Marburg (6-month PhD student internship). Further work will include culturing <i>E. coli</i> strains in fermenters, isolating and purifying enzymes, and measuring enzymatic activity (steady-state and pre-steady-state kinetics). The PhD student will perform biochemical characterization of the most promising KstD variants, in particular pH optimum, tolerance to organic solvents, and preferences for electron acceptors. The purified enzymes will also be used for preparative synthesis of new Δ^1-TPs compounds, which will be analyzed by LC-MS and NMR. The PhD thesis will allow gaining knowledge and experience in the field of protein engineering, enzymology, chemical analytics, industrial biotechnology, and bioanalytics.

4	Additional requirements to the candidate (education, skills / courses)	Master's degree in chemistry, biological chemistry, biochemistry, biotechnology or biophysics or related. Previous experience in bacterial cultivation, enzymatic catalysis, HPLC analysis or LC-MS would be an asset. Willingness to international mobility (6 months to 1 year) and good knowledge of English.
5	Possible sources of financing, other than subsidy, e.g., scientific scholarship, research and travel costs, etc.	SONATA BIS UMO-2024/54/E/ST4/00364