

Παραγωγή και αξιολόγηση μίας μαννανάσης από το μύκητα *Myceliophthora thermophila* στην υδρόλυση της λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας

Κατσίμπουρας Κωνσταντίνος¹, Πετρόπουλος Περικλής¹, Χριστακόπουλος Παύλος²
& Τόπακας Ευάγγελος¹

¹Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας, Σχολή Χημικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Ηρώων
Πολυτεχνείου 5, Ζωγράφου, Αθήνα 15780, Ελλάδα

E-mail: vtopakas@chemeng.ntua.gr

²Biochemical I Process Engineering, Division of Chemical Engineering, Department of Civil,
Environmental and Natural Resources Engineering, Luleå University of Technology, SE-97187 Luleå,
Sweden

Οι β-μαννανάσες είναι ημικυτταρινάσες οι οποίες προσβάλλουν τους εσωτερικούς γλυκοζιτικούς δεσμούς της κύριας αλυσίδας της μαννάνης απελευθερώνοντας β-1,4-μαννοολιγοσακχαρίτες. Οι μαννάνες αποτελούν το κυριότερο συστατικό του κλάσματος της ημικυτταρίνης στους ξυλώδεις φυτικούς ιστούς (softwoods) και είναι σύμπλοκα βιοπολυμερή τα οποία αποτελούνται από μια κύρια αλυσίδα μονάδων β-1,4-D-μαννόζης ή έναν ετερογενή συνδυασμό μονάδων β-1,4-D-μαννόζης και β-1,4-D-γλυκόζης και η οποία μπορεί να είναι υποκατεστημένη σε διάφορα σημεία. Οι μικροβιακές μαννανάσες είναι κυρίως εξοκυτταρικές και δρουν σε ένα ευρύ φάσμα τιμών pH και θερμοκρασιών βρίσκοντας εφαρμογή στις βιομηχανίες χάρτου, φαρμάκων, τροφίμων, ζωοτροφών και στην κλωστοϋφαντουργία. Επιπλέον, ενζυμικά κοκτέιλ που εμπεριέχουν κυτταρινάσες σε συνδυασμό με ημικυτταρινάσες, όπως ξυλανάσες και μαννανάσες, συνεισφέρουν στην αποτελεσματική υδρόλυση λιγνινοκυτταρινούχας φυτικής βιομάζας για την παραγωγή βιοαιθανόλης [1]. Μετά τις πρωτεάσες, οι κυτταρινάσες και οι ημικυτταρινάσες αποτελούν τα ένζυμα με το εντονότερο βιομηχανικό ενδιαφέρον [2].

Στην παρούσα μελέτη μια ένδο-β-1,4-μαννανάση (*MtMan26a*) της οικογένειας GH26 από το θερμόφιλο μύκητα *Myceliophthora thermophila* εκφράστηκε επιτυχώς στη μεθυλότροφη ζύμη *Pichia pastoris* X33. Η παραγωγή της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης από το γονίδιο το οποίο έχει υποκλωνοποιηθεί στον πλασμιδιακό φορέα pPICZaC, επάγεται κατά την προσθήκη μεθανόλης στη καλλιέργεια η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί τον υποκινητή της αλκοολικής οξειδάσης (AOX1) και η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη οδηγείται με τη βοήθεια του πεπτιδίου οδηγού (α -factor από τη ζύμη *Saccharomyces cerevisiae*) προς έκκριση στο υπερκείμενο των κυττάρων, γεγονός που καθιστά εύκολη τη συλλογή και απομόνωσή της. Η ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη, το μοριακό βάρος της οποίας προσδιορίστηκε στα 60 kDa, έχει βέλτιστο pH 6.0 και βέλτιστη θερμοκρασία 60°C ενώ επιδεικνύει σημαντική σταθερότητα σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών μέχρι 50°C και σε εύρος pH από 4.0 μέχρι 11.0 μετά από 24 h επώασης, καθιστώντας έτσι το ένζυμο έναν ισχυρό υποψήφιο για πολλές βιοτεχνολογικές εφαρμογές όπου απαιτείται καταλυτική σταθερότητα. Η *MtMan26a* δρα συνεργιστικά με εμπορικά σκευάσματα κυτταρινάσων για την αποδοτικότερη υδρόλυση της λιγνινοκυτταρινούχας βιομάζας.

Αναφορές

1. Varnai A, Huikko L, Pere J, Siika-aho M, Viikari L (2011) Synergistic action of xylanase and mannanase improves the total hydrolysis of softwood. *Biores Technol* 102:9096–9104
2. Dhawan S, Kaur J (2007) Microbial mannanases: an overview of production and applications. *Crit Rev Biotechnol* 27(4):197–216