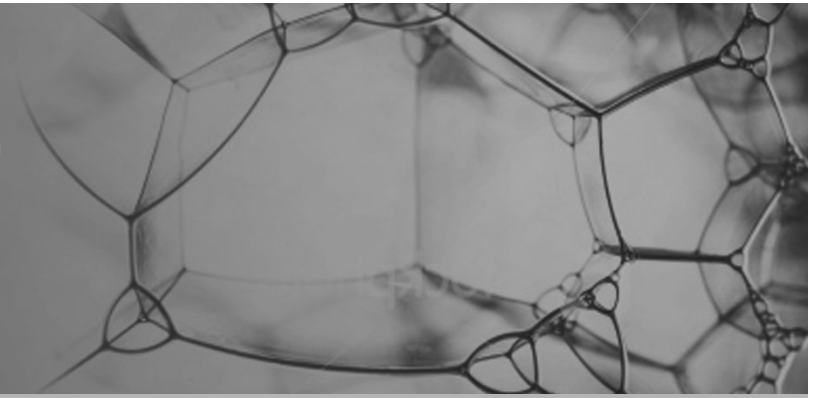


LOSCHMIDT  
LABORATORIES



# Výzkum v Loschmidtových laboratořích

Ústav experimentální biologie a RECETOX  
Masarykova univerzita

# Osnova



- Enzymy
- Proteinové inženýrství
- Modelové enzymy
- Projekt degradace
- Tým a spolupráce

# Enzymy

Domácnost



Medicína



Potravinářství



Ochrana prostředí



Zemědělství



Oděvy

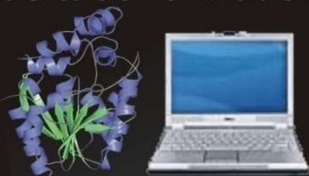


Chemie



# RACIONÁLNÍ DESIGN

## 1. Počítačové modelování



## 2. Místně cílená mutageneze



Samostatný mutovaný gen

## 3. Transformace

## 4. Expres proteinu

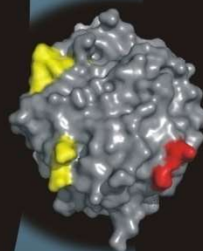
## 5. Purifikace proteinu

6. *není aplikován*

**VYLEPŠENÝ  
ENZYM**

Zkonstruovaný mutantní enzym

## 7. Biochemické testování



# ŘÍZENÁ EVOLUCE

1. *není aplikováno*

2. Náhodná mutagenéze



Knihovna mutovaných genů  
( >10,000 klonů )

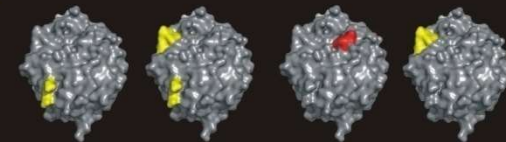
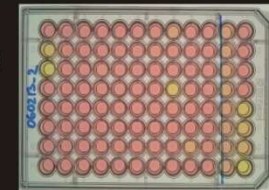
3. Transformace

4. Expresse proteinu

5. *není aplikována*

6. Screening a výběr

- stabilita
- selektivita
- afinita
- aktivita



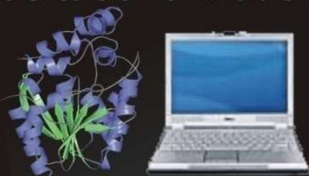
Vybrané mutantní enzymy

VYLEPŠENÝ  
ENZYM

7. Biochemické testování

# RACIONÁLNÍ DESIGN

1. Počítačové modelování



2. Místně cílená mutageneze



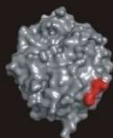
Samostatný mutovaný gen

3. Transformace

4. Expres proteinu

5. Purifikace proteinu

6. *není aplikován*



Zkonstruovaný mutantní enzym

7. Biochemické testování

# ŘÍZENÁ EVOLUCE

1. *není aplikováno*

2. Náhodná mutageneze



Knihovna mutovaných genů  
( >10,000 klonů )

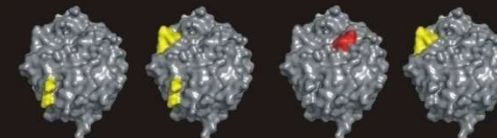
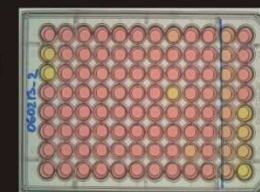
3. Transformace

4. Expres proteinu

5. *není aplikována*

6. Screening a výběr

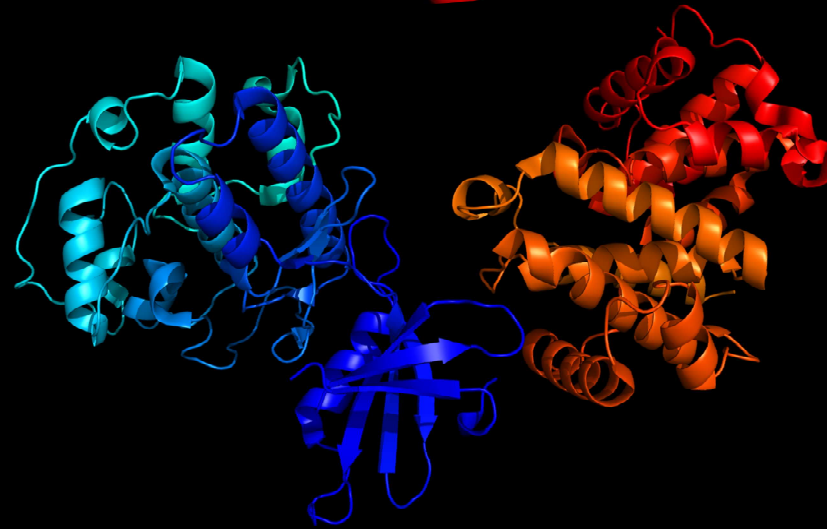
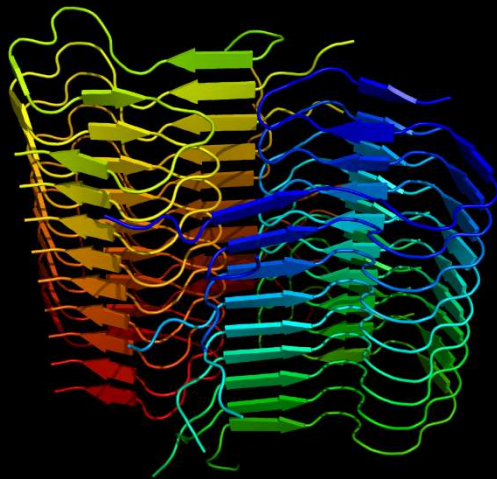
- stabilita
- selektivita
- afinita
- aktivita



Vybrané mutantní enzymy

VYLEPŠENÝ  
ENZYM

# Biomedicina a environment



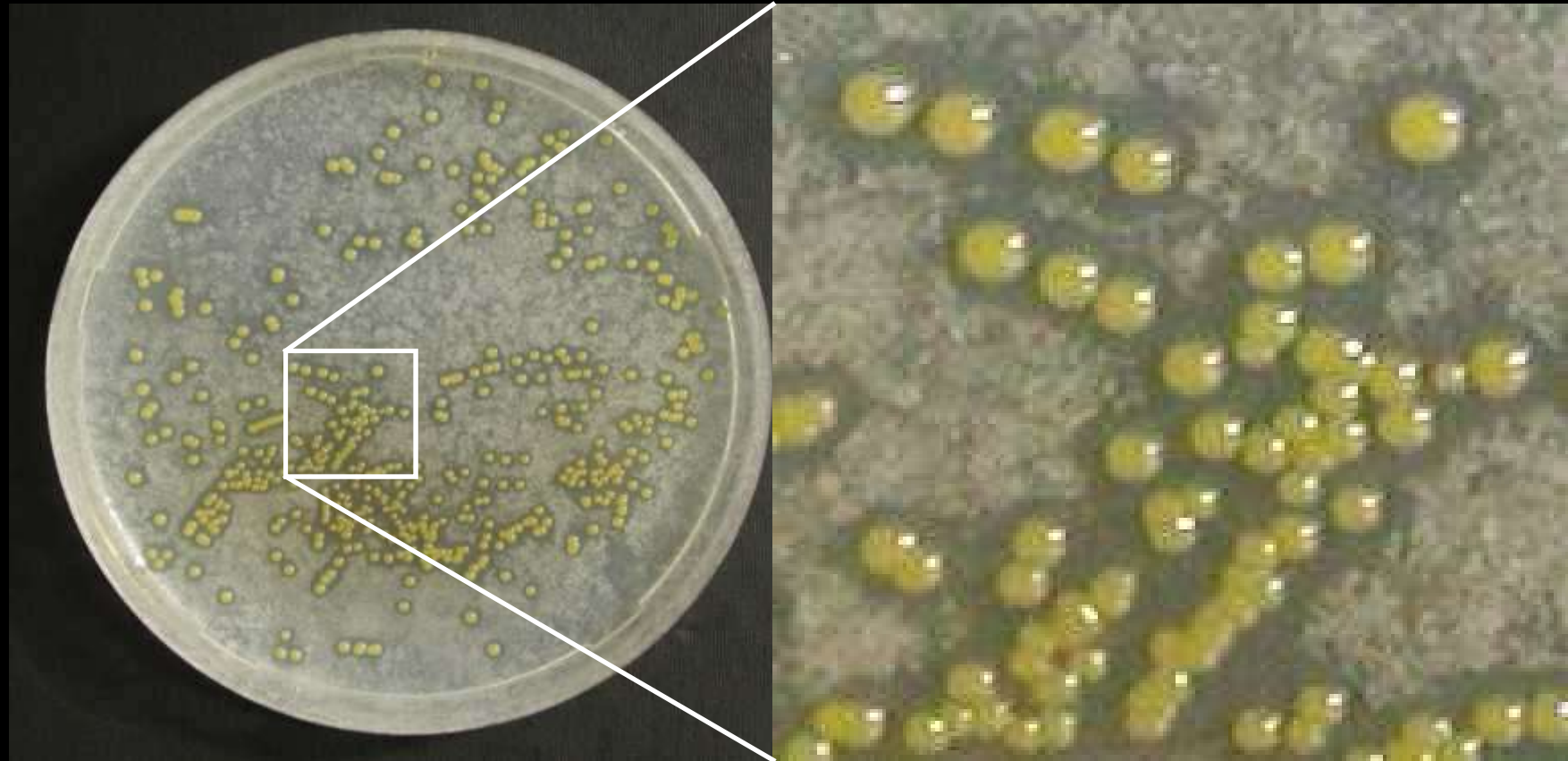
# Halogenalkan dehalogenasy



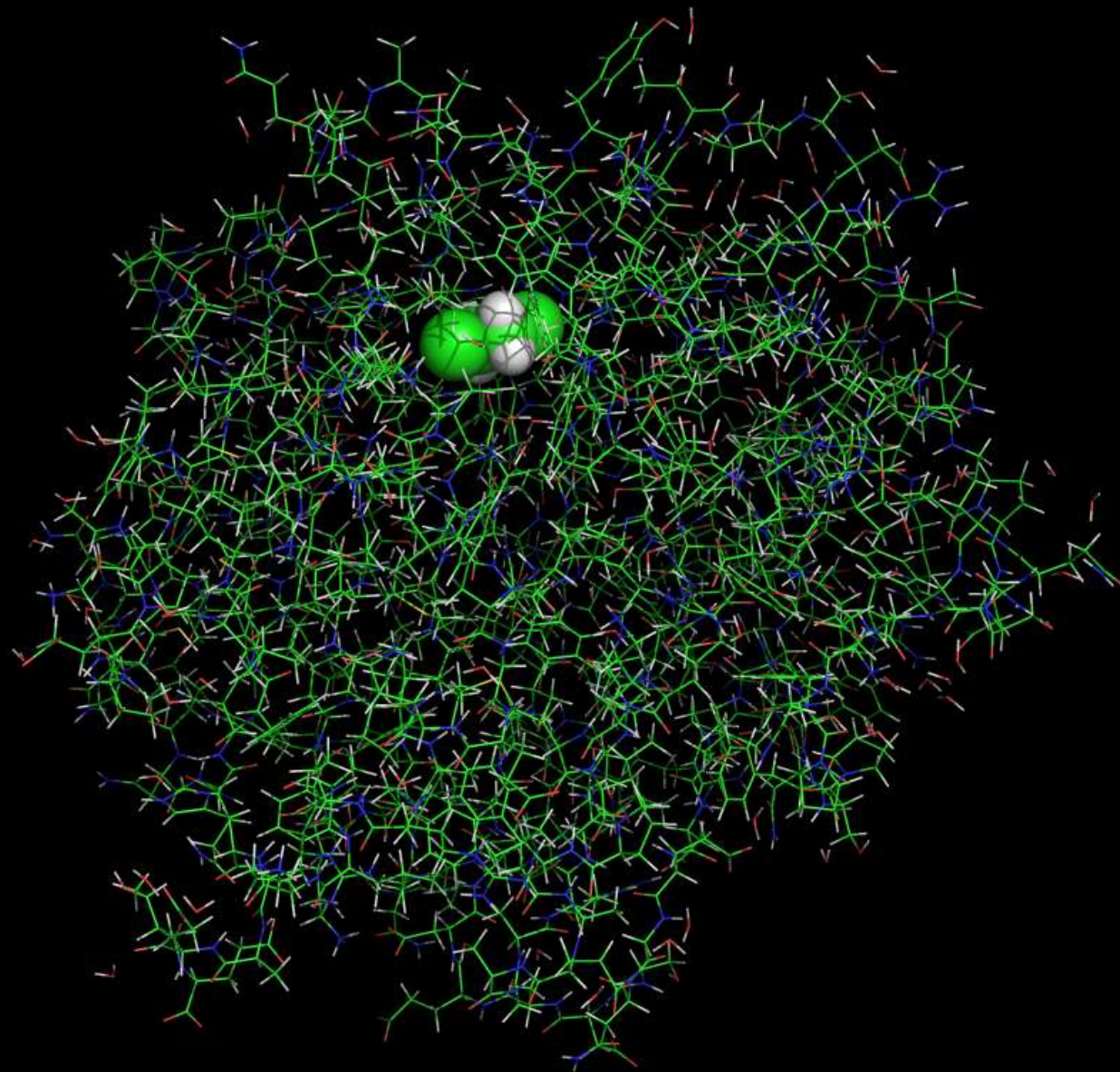
- Bakteriální enzymy
- Štěpí vazbu halogen-uhlík
- Užitečné v biodegradacích, biosensorech a syntéze farmaceuticky zajímavých molekul
- Nejsou optimální pro praktické použití



# Enzymy z půdních bakterií



# Enzym dehalogenasa



# Degradace toxických látek

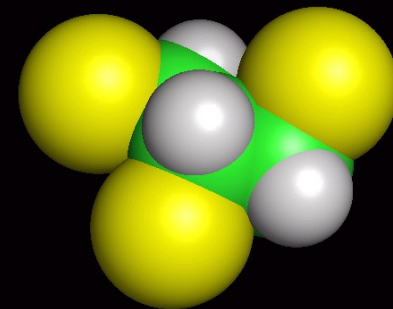


# Detekce chemických látek v prostředí



# Projekt enzymové degradace

- 1,2,3-Trichlorpropan
- Toxický a genotoxický polutant
- Pomalý rozklad v životním prostředí
- Neexistují přirozené enzymy



# Řízená evoluce

Dehalogenasa	Relativní aktivita
--------------	--------------------

---

Divoký typ	1
------------	---

C176Y+Y273F <sup>1</sup>	3.5
--------------------------	-----

---

<sup>1</sup> Bosma *et al.* *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3582 2002

# Řízená evoluce

Dehalogenasa	Relativní aktivita
--------------	--------------------

---

Divoký typ	1
------------	---

C176Y+Y273F <sup>1</sup>	3.5
--------------------------	-----

G3D+C176F <sup>2</sup>	4
------------------------	---

---

<sup>1</sup> Bosma *et al.* *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3582 2002

<sup>2</sup> Gray *et al.* *Adv. Synth. Catal.* 343: 607 2001

# Řízená evoluce

Dehalogenasa	Relativní aktivita
--------------	--------------------

---

Divoký typ	1
------------	---

<b>C176Y</b> +Y273F <sup>1</sup>	3.5
----------------------------------	-----

G3D+ <b>C176F</b> <sup>2</sup>	4
--------------------------------	---

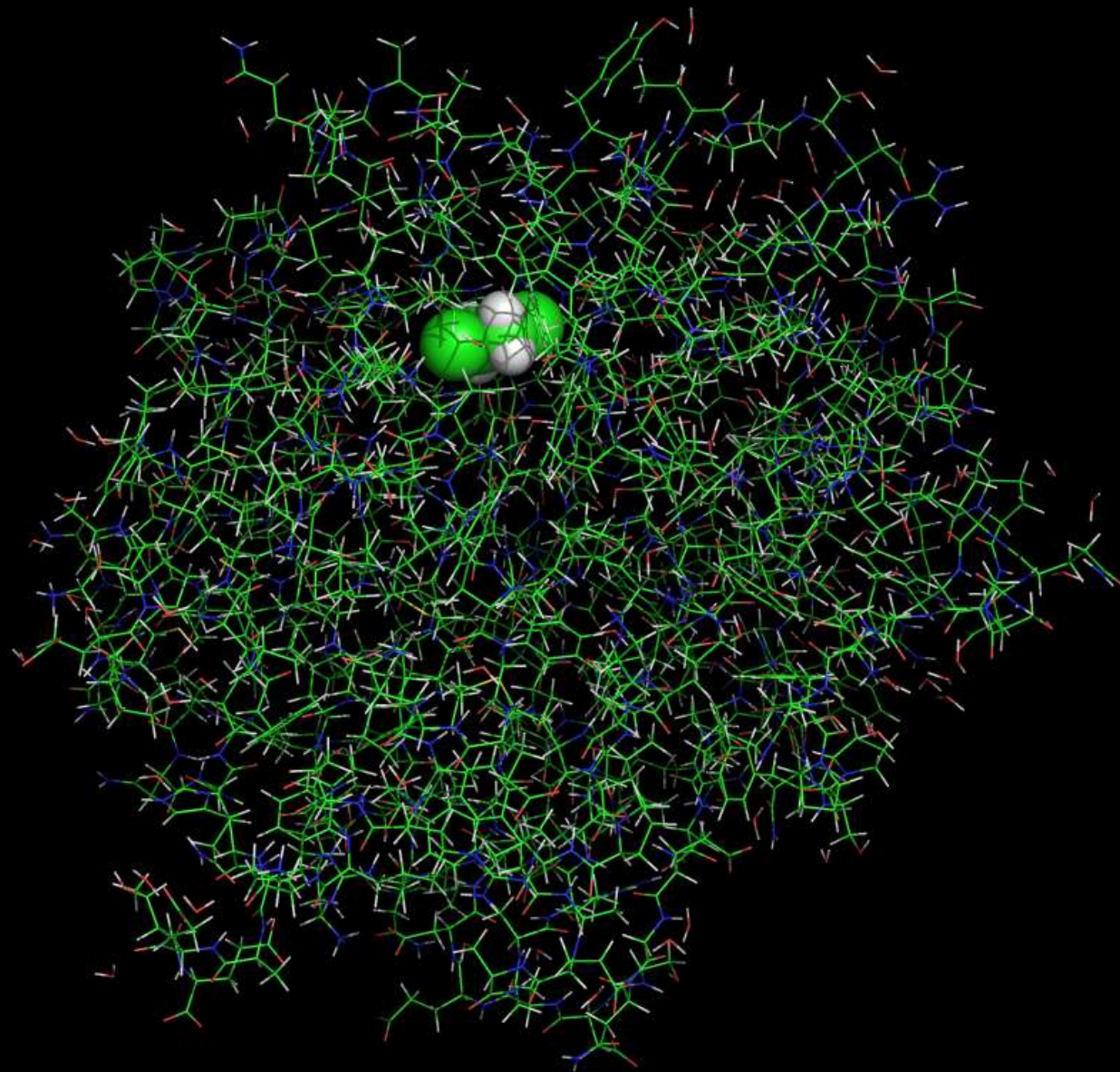
---

<sup>1</sup> Bosma *et al.* *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3582 2002

<sup>2</sup> Gray *et al.* *Adv. Synth. Catal.* 343: 607 2001





# Enzym dehalogenasa





# Software CAVER


home | news | about | resources | support | contact  Search

 software tool for protein analysis and visualisation 

 **concept**  
learn more about  
caver viewer

 **download**  
download latest build  
and plugins

 **online**  
launch caver viewer  
using java web start

 **find help**  
fix troubles, report  
bugs, request features

---

**CAVER - software tool for protein analysis and visualisation**

CAVER is a software tool for analysis and visualisation of tunnels and channels in protein structures. Tunnels are void pathways leading from a cavity buried in a protein core to the surrounding solvent. Unlike tunnels, channels lead through the protein structure and their both endings are opened to the surrounding solvent. Studying of these pathways is highly important for drug design and molecular enzymology.



[www.caver.cz](http://www.caver.cz)

**sign in**

E-mail:

Password:

[Create new user account](#)  
[Retrieve forgotten password](#)

**newsletter**

If you wish to obtain recent CAVER news, please subscribe to our newsletter.  
Note: If you have already registered, there is no need to subscribe again.

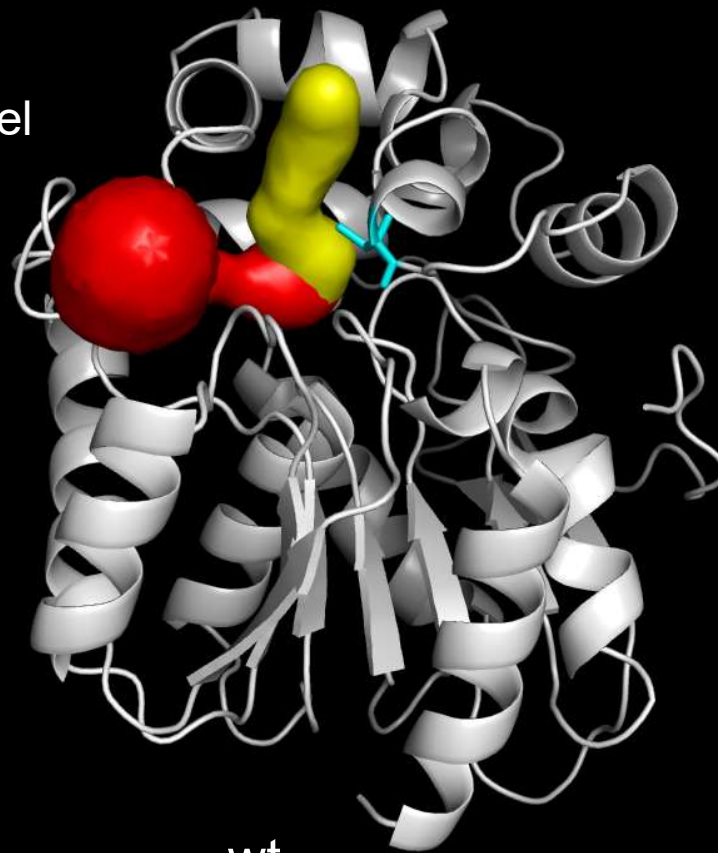
Your e-mail:

**latest news**

**CAVER Cited in NATURE**  
July 29, 2011  
CAVER was cited in the NATURE journal in article Crystal structure of a copper-transporting...

# Analýza programem CAVER

- Hlavní tunel
- Vedlejší tunel



wt



C176Y

# Analýza hlavního tunelu



Time: 00 ps

# Analýza vedlejšího tunelu



Time: 00 ps

# Identifikace cílových míst pro mutagenezi

Hlavní tunel:

● C176Y

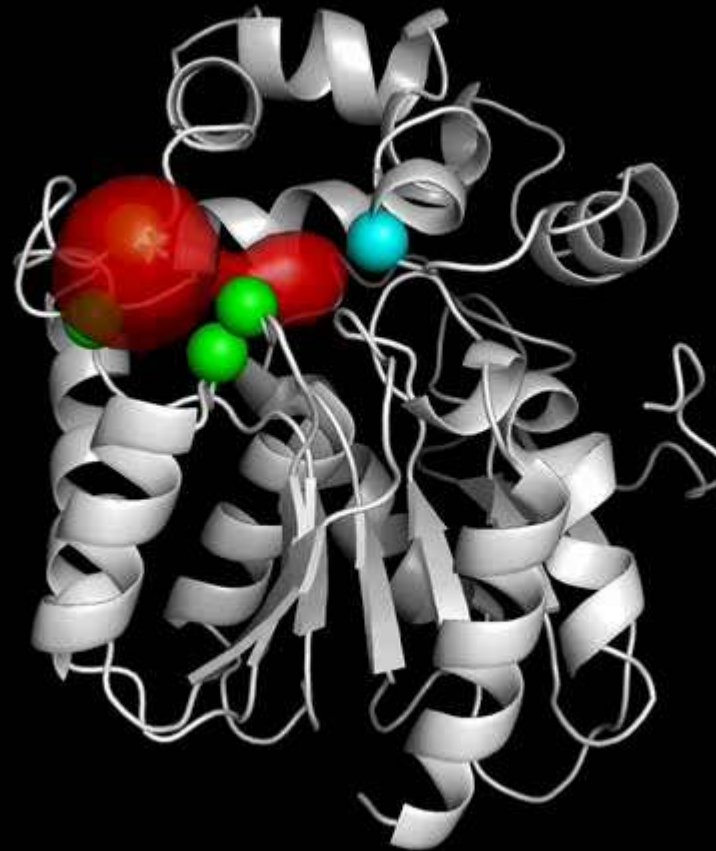
Vedlejší tunel:

● W141X

● I135X

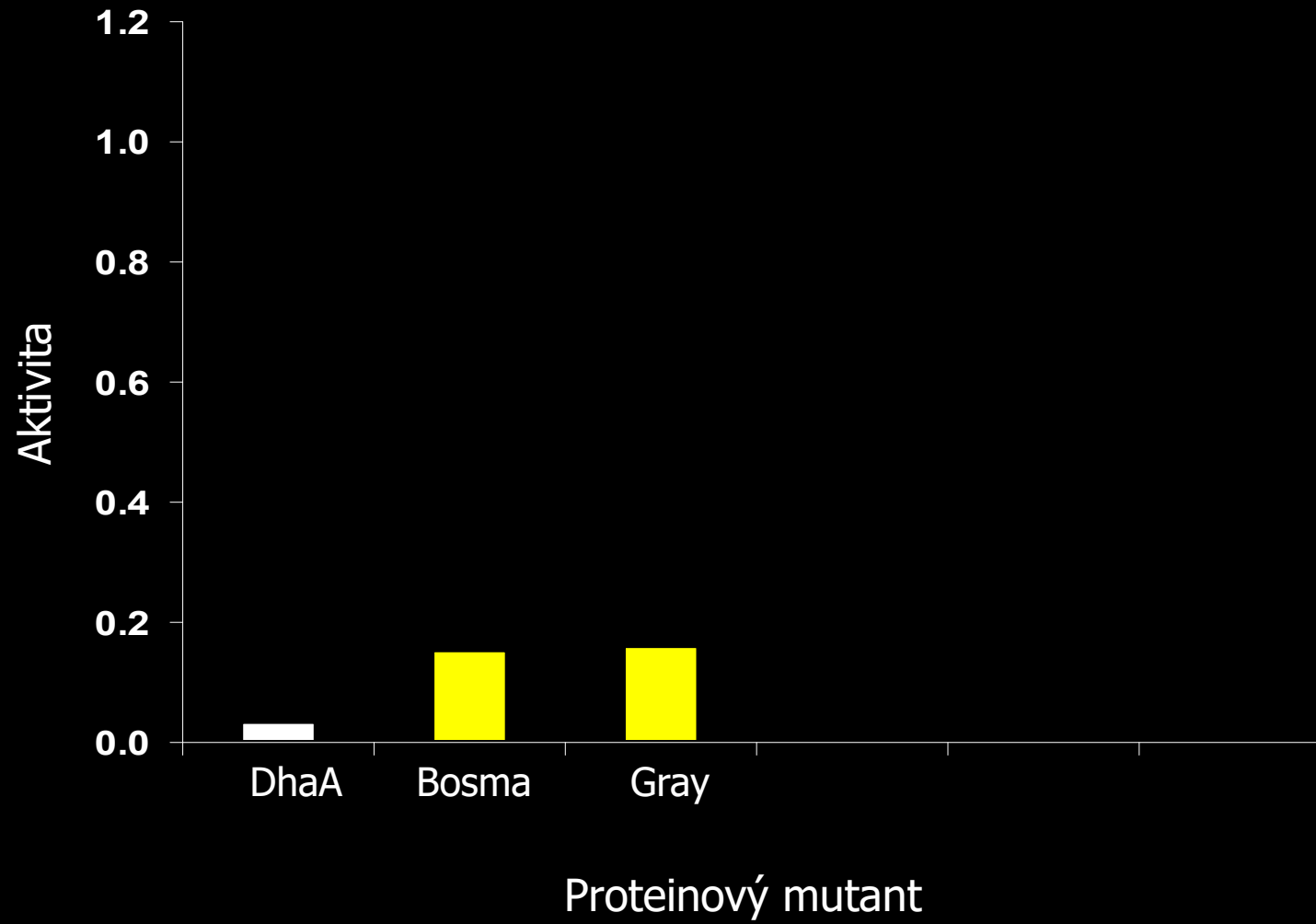
● L245X

● V246X



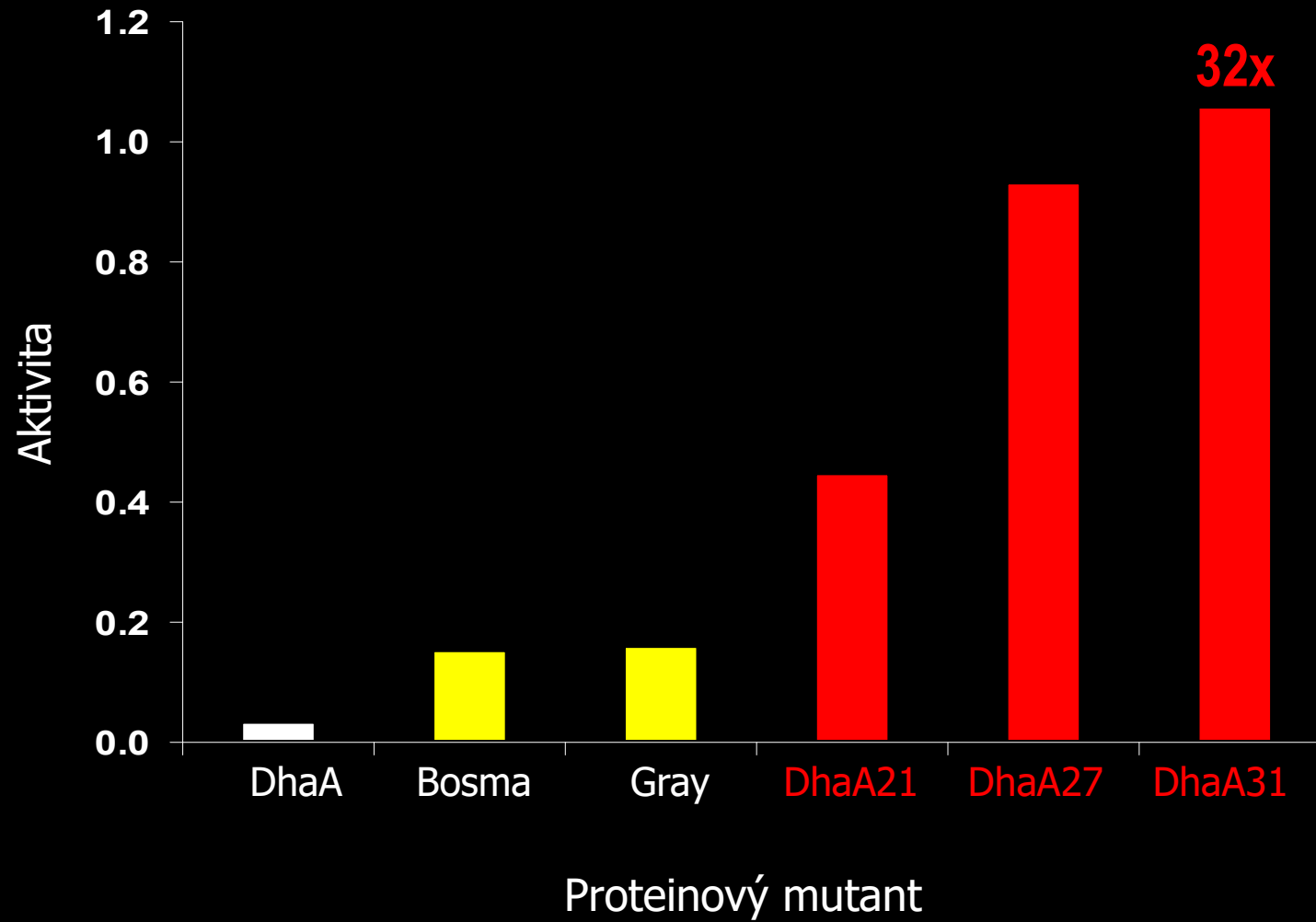


# Katalytická účinnost mutantů





# Katalytická účinnost mutantů





nature  
chemical biology

ARTICLES

## Redesigning dehalogenase access tunnels as a strategy for degrading an anthropogenic substrate

Martina Pavlova<sup>1,5</sup>, Martin Klvana<sup>1,5</sup>, Zbynek Prokop<sup>1</sup>, Radka Chaloupkova<sup>1</sup>, Pavel Banas<sup>2</sup>, Michal Otyepka<sup>2</sup>, Rebecca C Wade<sup>3</sup>, Masataka Tsuda<sup>4</sup>, Yuji Nagata<sup>4</sup> & Jiri Damborsky<sup>1</sup>

# Patenty

(12) **United States**  
Prokop et al.

(54) METHOD OF PRACTICE HALOALCOHOLS USE DEHALOGENAT HALOALKANE I

(75) Inventors: Zbyněk Dambó Jansser Sendi

(73) Assignee: Masary (CZ)

(\*) Notice: Subject patent i U.S.C.

(21) Appl. No.: 11/844,

(22) Filed: Aug. 24

(65) **Prio**  
US 2008/0102501.

**Related U.S.**  
(63) Continuation-in-pat filed on Jun. 20, 20

(30) **Foreign A**  
Dec. 23, 2005 (WO)

(51) **Int. Cl.**  
C12P 7/02  
C12P 5/00  
C12N 9/00  
C12N 9/14



発明の名称  
(TITLE OF THE INVENTION)

特許権者  
(PATENTEE)

発明者  
(INVENTOR)

出願番号  
(APPLICATION NUMBER)

出願日  
(FILING DATE)

登録日  
(REGISTRATION DATE)

この発明は、特  
(THIS IS TO CERTIFY)

特許庁長官  
(COMMISSIONER, JAPAN)

 **Office de la propriété intellectuelle du Canada**  
Un organisme d'Industrie Canada

*Brevet*

Le commissaire a de délivrance de brev Ladite requête satisfa *les brevets*. Le titre et figurent dans le mêm copie fait partie intég document.

Le présent brevet confère à son titulaire ses représentants légu pour une période ex vingt ans à compter date du dépôt de la demande au Canada le droit, la faculté et privilège exclusif de fabriquer, construire, et vendre à d'autres, l'exploitent, l'objet d en l'espèce rendu pai sous réserve du paier

**BREVET C A**

Date à laquelle le bre accordé et délivré

Date du dépôt de la

Date à laquelle la der devenue accessible au pour consultation



 **State of Israel Patent Office**

**CERTII**

**This is to certify that particulars have beer the Register of Paten**

**Patent No:**  
Date of Application:  
International Application  
International Publication  
Title of Invention:  
METHOD OF DETOXICA YPERITE BY USING HAL DEHALOGENASES

**Priority Right:**  
PV2005-352

**Patentee(s):**  
MASARYKOVA UNIVERZITA,  
Customer No: 869169  
ZEROTINOVO NAMESTI 9,  
CZECH REPUBLIC

**Date of Publication:**  
Date of Grant:

  
Asa Kling  
רשם המטנטים  
רשמי המטנטים  
Commissioner of P, Designs and Traden

\* See reverse of certificate for

 **Australian Government IP Australia**

LETTERS PATENT

**STANDARD PATENT**

2006254625

I, Fatima Beattie, the Commissioner of Patents, grant a Standard Patent with the following particulars:

**Name and Address of Patentee(s):**  
Masarykova Univerzita  
Zerotinovo namesti 9, 601 77 Brno, Czech Republic

**Name of Actual Inventor(s):**  
Oplustil, Frantisek; Jesenska, Andrea; Damborsky, Jiri; Prokop, Zbynek and Nagata, Yuji.

**Title of Invention:**  
Method of detoxication of yperite by using haloalkane dehalogenases

**Term of Letters Patent:**  
Twenty years from 1 June 2006

**Priority Details :**

Number	Date	Filed with
PV 2005-352	3 June 2005	CZ

Dated this 4<sup>th</sup> day of February 2010

  
Fatima Beattie  
Commissioner of Patents

 **COMMONWEALTH OF AUSTRALIA AUSTRALIA PATENT OFFICE**

PATENTS ACT 1990

# Mezinárodní spolupráce

- University Cambridge, Velká Británie
- ETH Zurich, Švýcarsko
- University Wien, Rakousko
- University Washington, USA
- Tohoku University, Japonsko

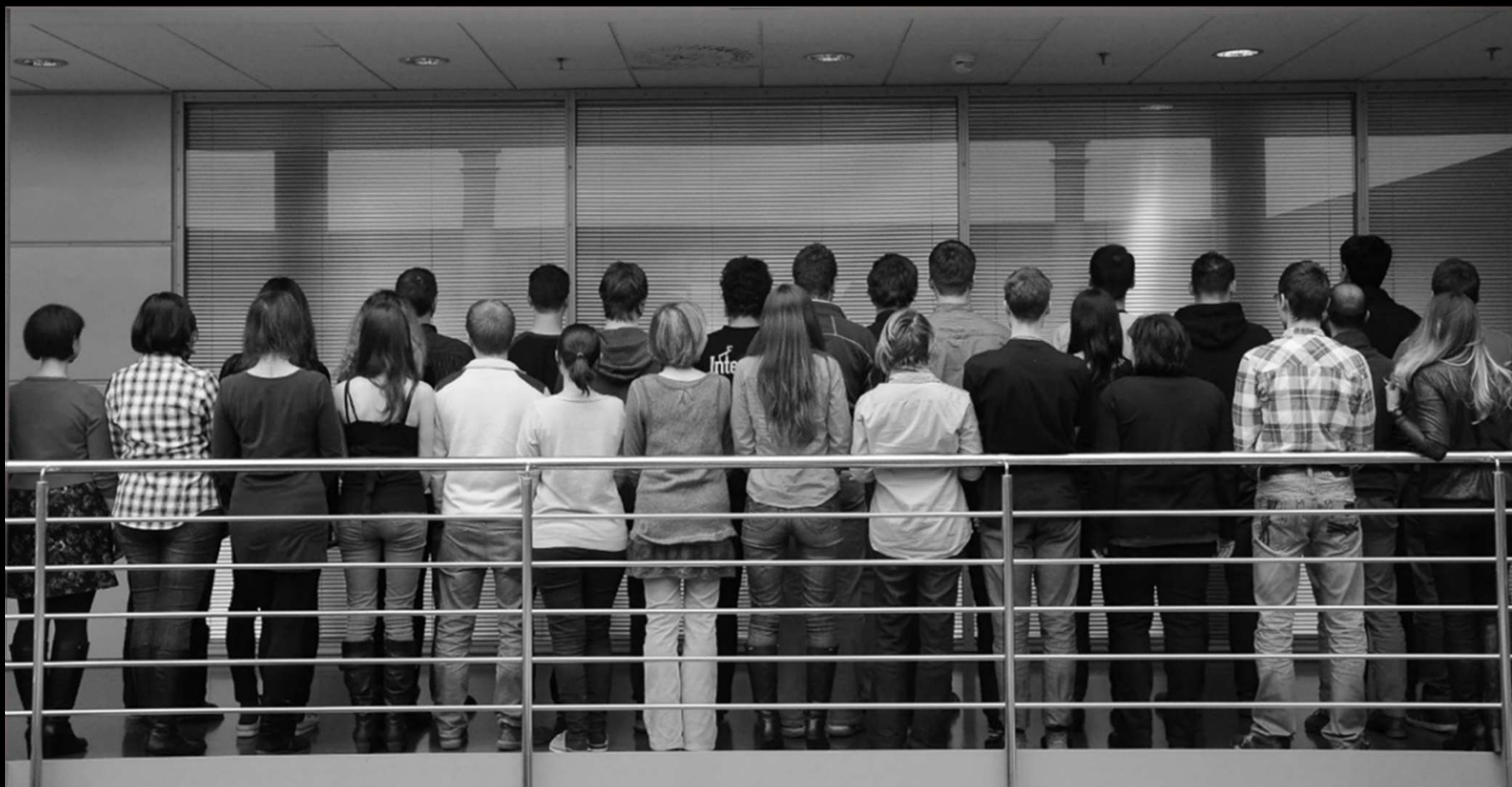


# Spolupráce s průmyslem

- BioVendor – Česká republika
- B.R.A.I.N. – Německo
- DropTech – Velká Británie
- Terra Verdae – Kanada
- Saudi Basic Industries – Saudská Arábie
- Sustainable Chemistry – USA



# Tým



# Výjezdní semináře



# Co Vás naučíme?

- Navrhovat a provádět experimenty
- Interpretovat data
- **Kriticky myslet**
- Psát publikace
- **Pracovat v týmu**
- Prezentovat a diskutovat v Angličtině





# Kontakt



Jiří Damborský

Loschmidtovy laboratoře

Ústav experimentální biologie

Budova **A13**, místnost 2.25

<http://loschmidt.chemi.muni.cz/peg/>

[jiri@chemi.muni.cz](mailto:jiri@chemi.muni.cz)

# Letní škola



LOSCHMIDT  
LABORATORIES

## I. LETNÍ ŠKOLA PROTEINOVÉHO INŽENÝRSTVÍ 24.-28. června 2020

Prohledávání bioinformatických databází • Počítačový design biomolekul • Konstrukce mutantů genovým inženýrstvím • Strukturní a biofyzikální charakterizace vlastností proteinů

### Motivace:

Proteinové inženýrství je moderní vědní disciplína studující souvislosti mezi strukturou a funkcí proteinů. Cílem je poznání fungování molekulárních strojů a konstrukce nových proteinů pro biomedicínu a biotechnologie.

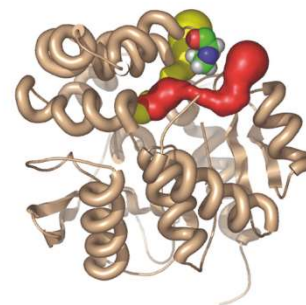
### Informace:

Letní škola je určena studentům **středních a vysokých škol** se zájmem o biologii, biochemii, bioinformatiku, biomedicínu a biotechnologii. Studenti si osvojí základní **teoretické** principy proteinového inženýrství a na **praktických** úlohách si vyzkouší počítačový design, konstrukci a charakterizaci proteinů.

Odborným garantem letní školy je **Mendelovo centrum** pro vzdělávání v biologii, biomedicině a bioinformatice Lékařské a Přírodovědecké fakulty **Masarykovy univerzity**. Letní škola je podporována grantem Ministerstva školství České republiky OP VK CZ.1.07/2.3.00/09.0186 a účast je **plně hrazena** organizátory.

### Přihláška:

Zájemci vyplní elektronickou přihlášku na adrese <http://loschmidt.chemi.muni.cz/school> a odešlou ji organizátorům nejpozději do **15. června 2010**. Rozhodnutí bude zasláno všem žadatelům do 30. června.



<http://loschmidt.chemi.muni.cz/school>

Loschmidtovy laboratoře  
Ústav experimentální biologie  
Přírodovědecká fakulta  
Masarykova univerzita  
Kamenice 5, 625 00 Brno

<http://loschmidt.chemi.muni.cz/school>