



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN
EFIKASNIH ENZIM@MOF
KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

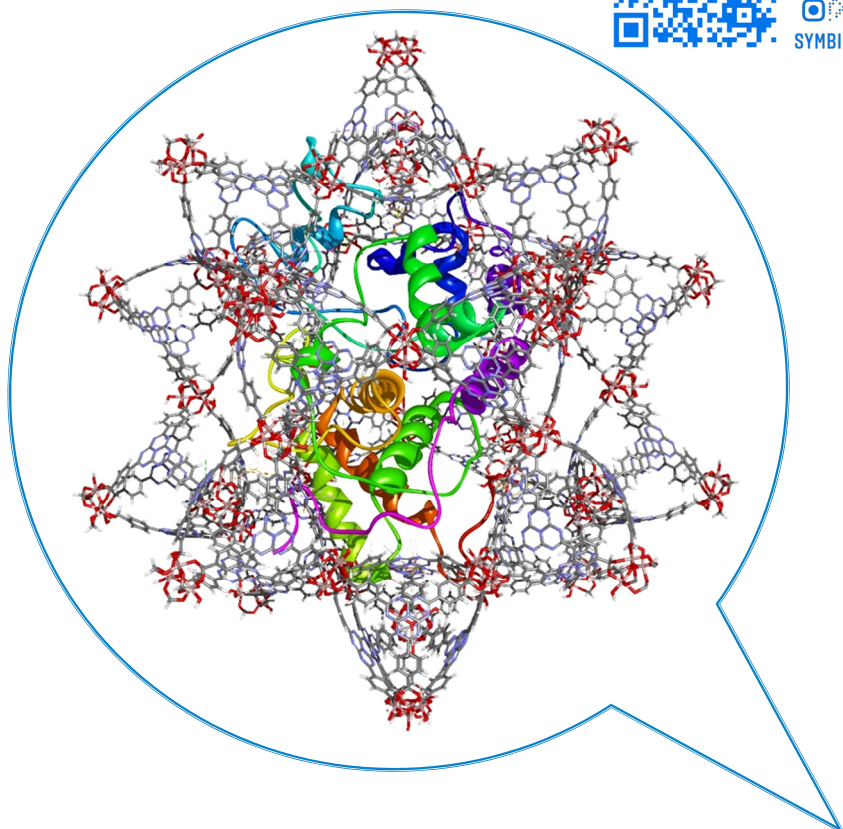
SEMINAR
ZA STUDENTE
Beograd, 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET



SYMBIOSIS.PROMIS



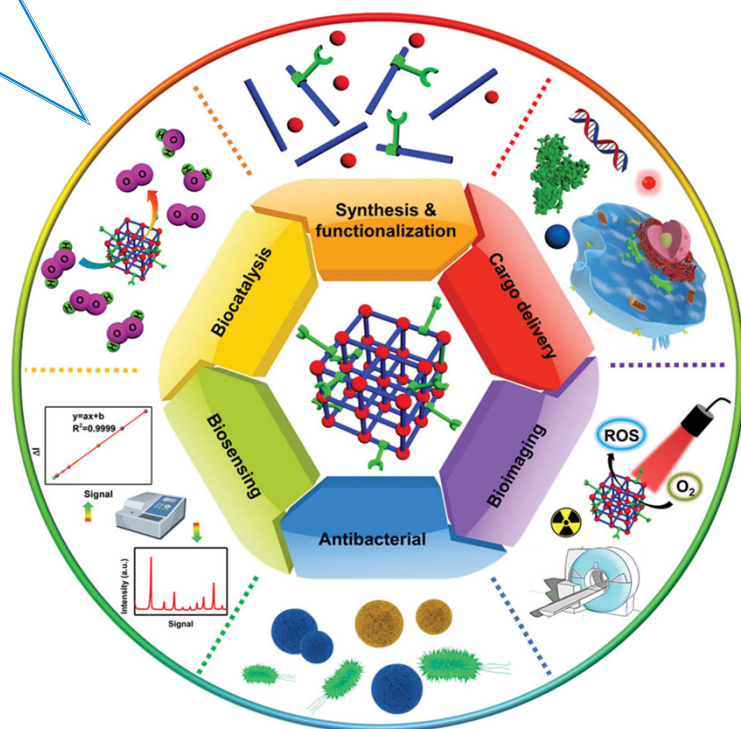
Kako se sprovodi
multidisciplinarno naučno
istraživanje – simbioza
neorganske hemije,
bioinformatike i biohemije?

Šta su metal-organske
umrežene strukture (MOF-ovi)
i zašto su to materijali
budućnosti?

Zašto su enzimi najbolji
katalizatori i možemo li ih
dodatno poboljšati?

Kako dizajnirati efikasne
biokompozitne katalizatore?

Kako sintetisati i okarakterisati
enzim@MOF kompozite za
primenu u biokatalizi?



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije
PROMIS, #6066997



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN
EFIKASNIH ENZIM@MOF
KOMPOZITA ZA BOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE

Beograd, 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

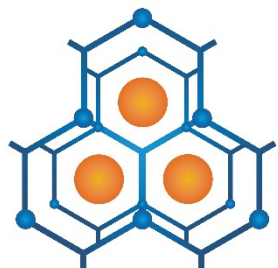
Vreme	Program	Prostorija
9:30-10:00	REGISTRACIJA UČESNIKA	Hol ispred VHA
10:00-10:15	O SYMBIOSIS projektu <i>Tamara Todorović, Hemijski fakultet</i>	Sala za sednice
10:15-11:00	Metal-organske umrežene strukture – materijali budućnosti <i>Tamara Todorović, Hemijski fakultet</i>	Sala za sednice
11:00-11:40	Proteinski inženjering <i>Radivoje Prodanović, Hemijski fakultet</i>	Sala za sednice
11:40-12:00	PAUZA ZA KAFU	Hol ispred VHA
12:00-12:45	Bioinformatika u službi dizajna enzim@MOF kompozita <i>Milan Senćanski, Institut VINČA</i>	Sala za sednice
12:45-13:30	Sinteza i karakterizacija enzim@MOF kompozita <i>Tamara Todorović & Radivoje Prodanović Hemijski fakultet</i>	Sala za sednice
13:30-14:30	PAUZA ZA RUČAK	Hol ispred VHA
14:30-15:15	Kloniranje, mutacije, ekspresija i još ponešto* <i>Ana Marija Balaž, IHTM – Centar za hemiju</i>	Lab. 434
15:15-16:00	Tajne biomineralizacije* <i>Marija Stanišić, Hemijski fakultet</i>	Sala za sednice
16:00-16:15	Pauza za kafu	Hol ispred VHA
16:15-17:00	Simetrični svet MOF-ova* <i>Predrag Ristić, Hemijski fakultet</i>	Računarska učionica
17:00-17:30	DODELA SERTIFIKATA O UČEŠĆU	Sala za sednice

* Učesnici će biti podeljeni u tri grupe.



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije
PROMIS, #6066997



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

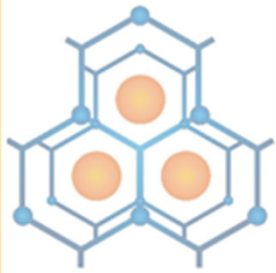
PROJEKAT SYMBIOSIS

Tamara Todorović
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

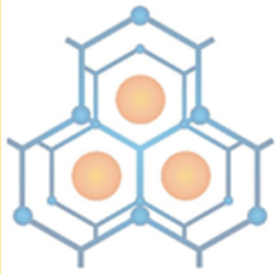


Sinopsis projekta SYMBIOSIS



Izvor:

<http://www.pancevo.com/tag/zagadjenje/>



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

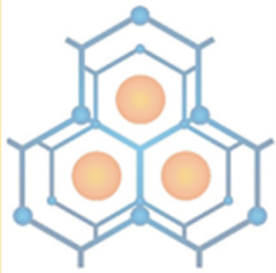


Sinopsis projekta SYMBIOSIS



Izvor:

<https://www.environmental-finance.com/content/analysis/the-futures-bright.html>



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



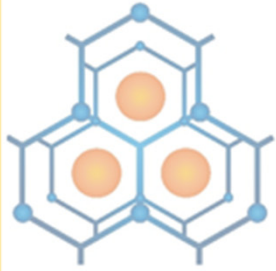
Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Glavni izazov

Kako razviti nove industrijske biokatalizatore koji mogu ponuditi niz prednosti u odnosu na tradicionalne hemijske procese u pogledu održivosti, efikasnosti procesa i smanjenog negativnog uticaja na životnu sredinu?

Trenutno stanje – Industrijska primena enzima

Sektor	Enzimi	Primena
Farmaceutska industrija	Nitril-hidrataza, transaminaza, monoamin-oksidaža, lipaza, penicilin-acilaza	Sinteza intermedijera za proizvodnju aktivnih farmaceutika
Industrija hrane	Tripsin, amilaza, glukoza izomeraza, papain, pektinaza	Konverzija skroba u glukozu, proizvodnja fruktoznog sirupa, prebiotika, uklanjanje gorčine voćnog soka
Proizvodnja deterdženata	Proteaza, lipaza, amilaza, celulaza	Uklanjanje fleka, masti, ulja, zadržavanje boje
Biogoriva	Lipaza, celulaza, ksilanaza	Proizvodnja metil estara masnih kiselina, razgradnja lignoceluloznog materijala za proizvodnju bioetanola
Industrija papira	Lipaza, celulaza, ksilanaza	Uklanjanje lignina



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Postojeća rešenja

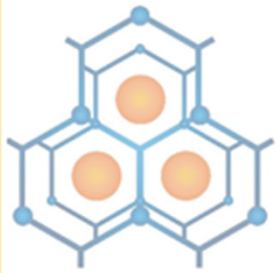
- Nativni enzimi / MO
- Mutirani enzimi
- Imobilizovani enzimi

Nerešeni problemi

- Niska efikasnost
- Inaktivacija u enzima u uslovima industrijskih procesa
- Curenje enzima

Potrebna nova znanja

- Priroda i jačina domaćin-gost interakcija
- Kontrola i fino podešavanje



Symbiosis

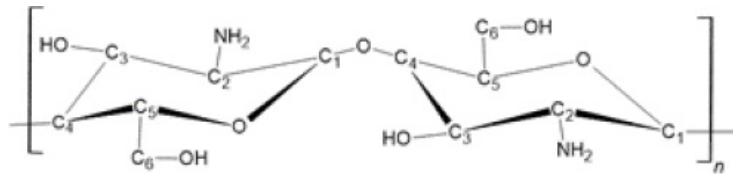
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



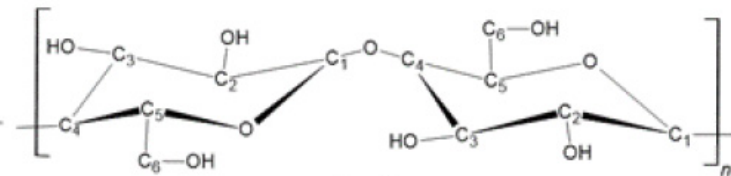
Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Imobilizovani enzimi

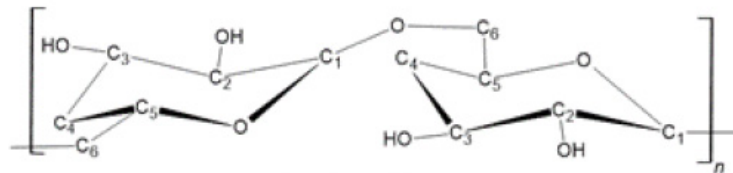
Prirodni polimeri - polisaharidi



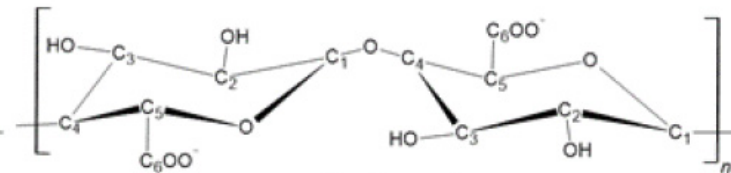
hitozan



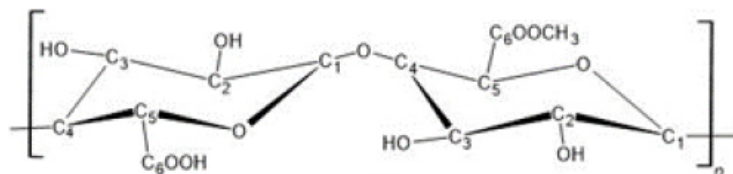
celuloza



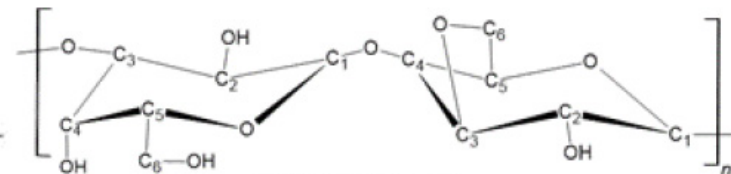
dekstran



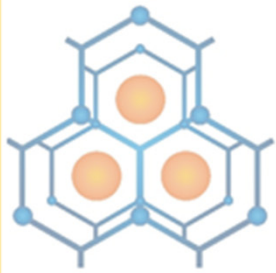
alginat



pektin



agaroza



Symbiosis

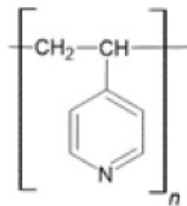
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



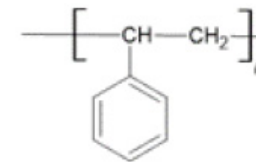
Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Imobilizovani enzimi

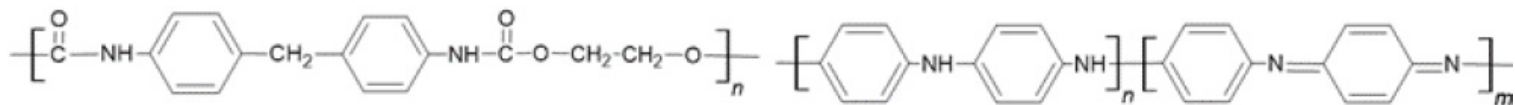
Veštački polimeri



poli(4-vinil piridin)

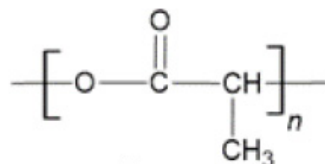


polistiren

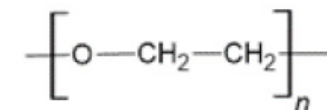


poliuretani

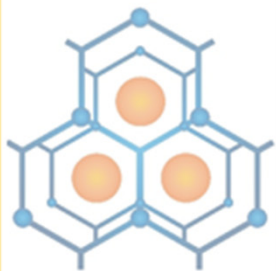
polianilin



poli(mlečna kiselina)



polietilen glikol



Symbiosis

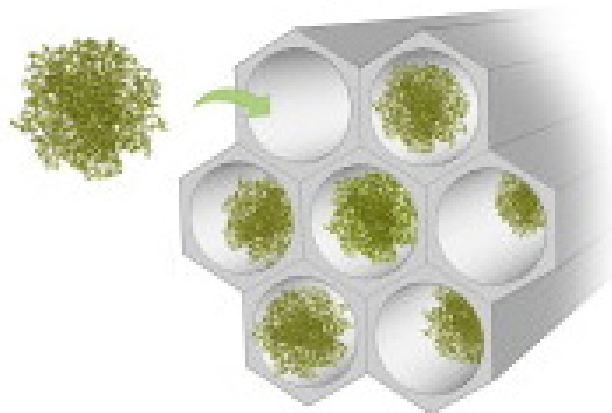
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



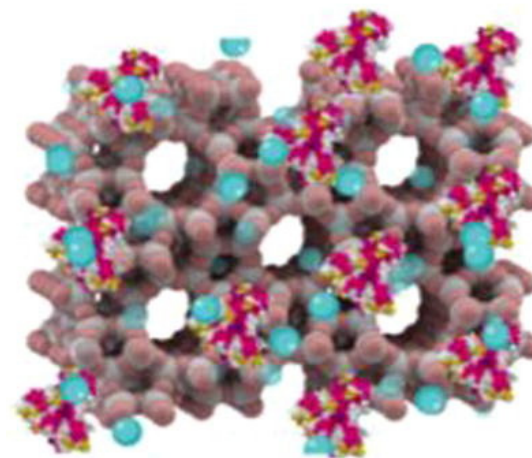
Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Imobilizovani enzimi

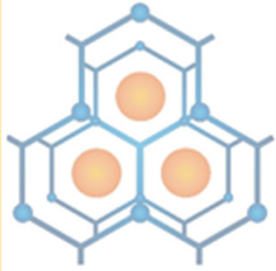
Neorganski polimeri



Mezoporozni SiO_2



Nemodifikovani/modifikovani
zeoliti



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Imobilizovani enzimi – prednosti i mane

Prednost	Mana
Funkcionalnost za upotrebu u kontinualnim procesima	Gubitak enzimeske aktivnosti
Poboljšana stabilnost u širem opsegu operativnih uslova (pH, temperatura, itd.)	Imobilizacija u neželjenoj konformaciji i posledični gubitak aktivnosti
Heterogena kataliza – lako odvajanje enzima od produkata	Troškovi pravljenja materijala nosača
Ponovna upotreba	Ograničenja u pogledu transfera mase
Imobilizacija u željenoj konformaciji i na željenom mestu	Komplikovan i vremenski dugačak proces imobilizacije



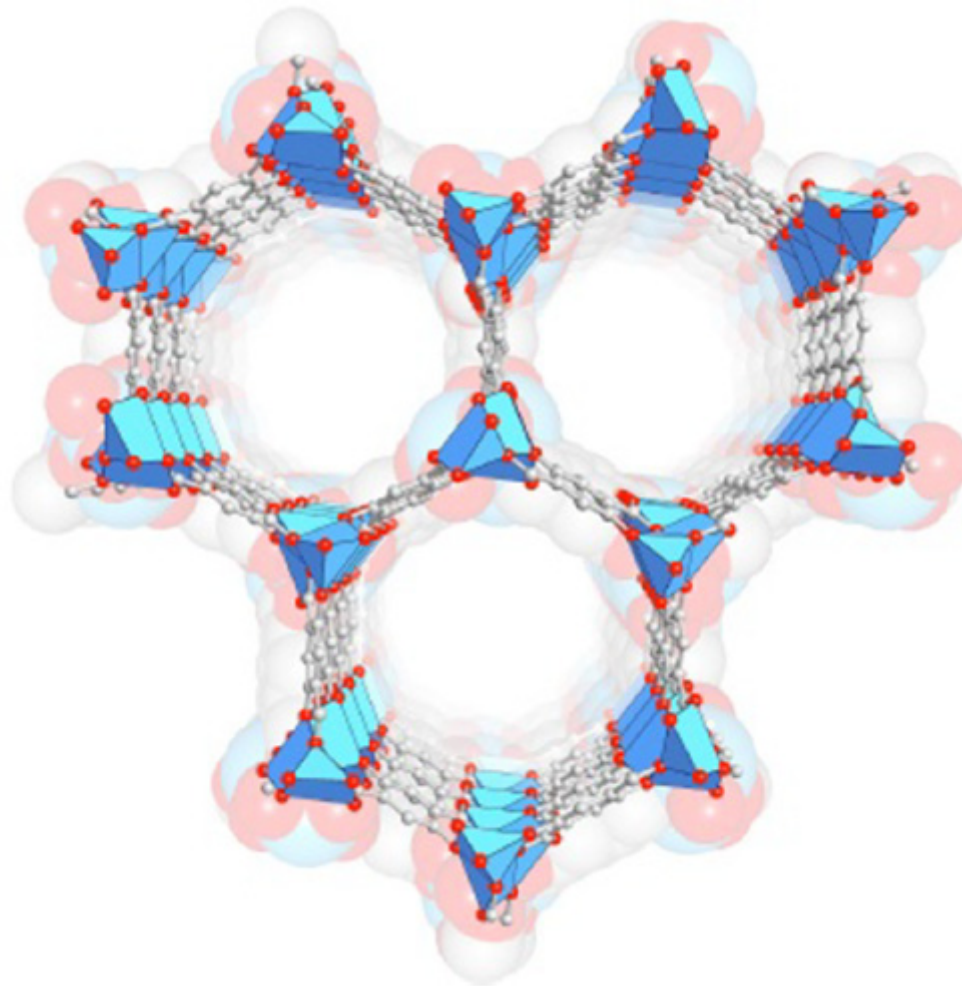
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

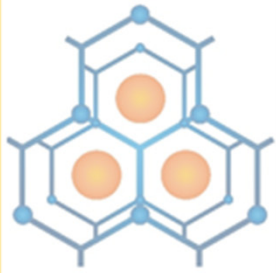


Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Nova klasa nosača za imobilizaciju enzima
metal-organske umrežene strukture (MOF-ovi)



MOF-74



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

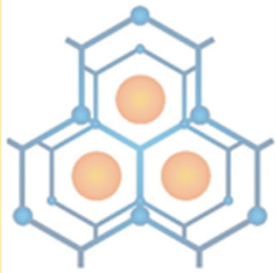


Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Nova klasa nosača za imobilizaciju enzima metal-organske umrežene strukture (MOF-ovi)

Prednost MOF-ova u odnosu na druge tipove nosača

- ultravisoka poroznost
- najveća površina među svim materijalima za podršku/imobilizaciju
- fino podešavanje strukture
- kristaličnost
- uniformnost
- dugodometna uređenost



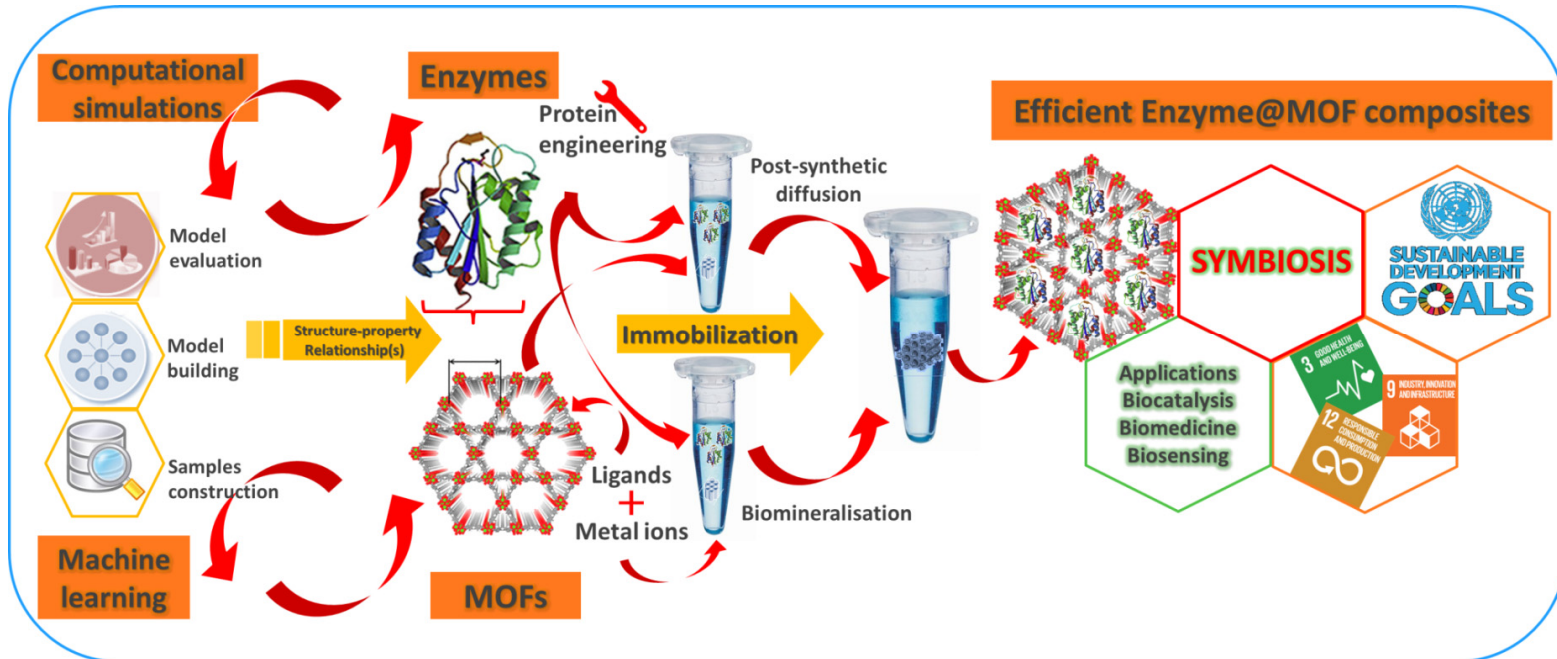
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

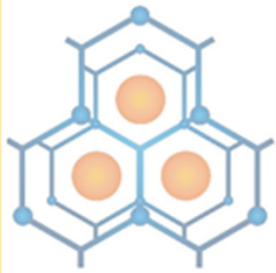


Sinopsis projekta SYMBIOSIS

Koncept projekta



- Udruživanje imobilizacije na MOF-ovima kao čvrstim nosačima i proteinskog inženjeringa da bi se otkrila priroda i jačina dominantnih interakcije domaćin-gost, čime se omogućava njihova kontrolisana modulacija.
- Glikozilacija površine proteina kao opšta strategija za olakšavanje biomimetičke mineralizacije.



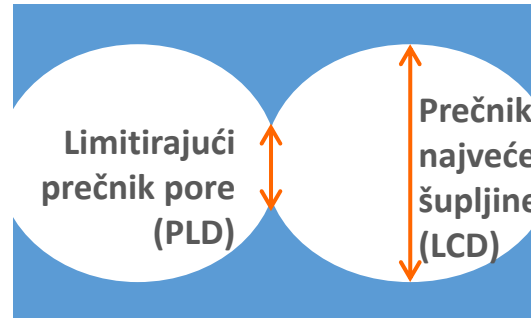
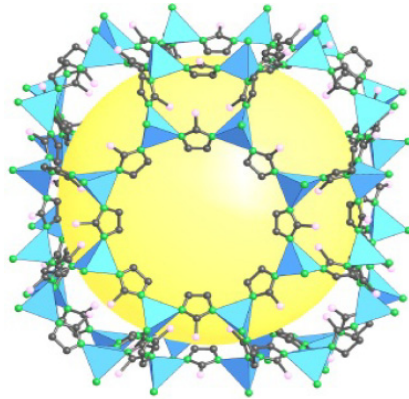
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

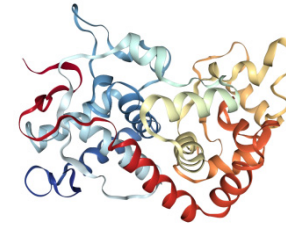


Sinopsis projekta SYMBIOSIS

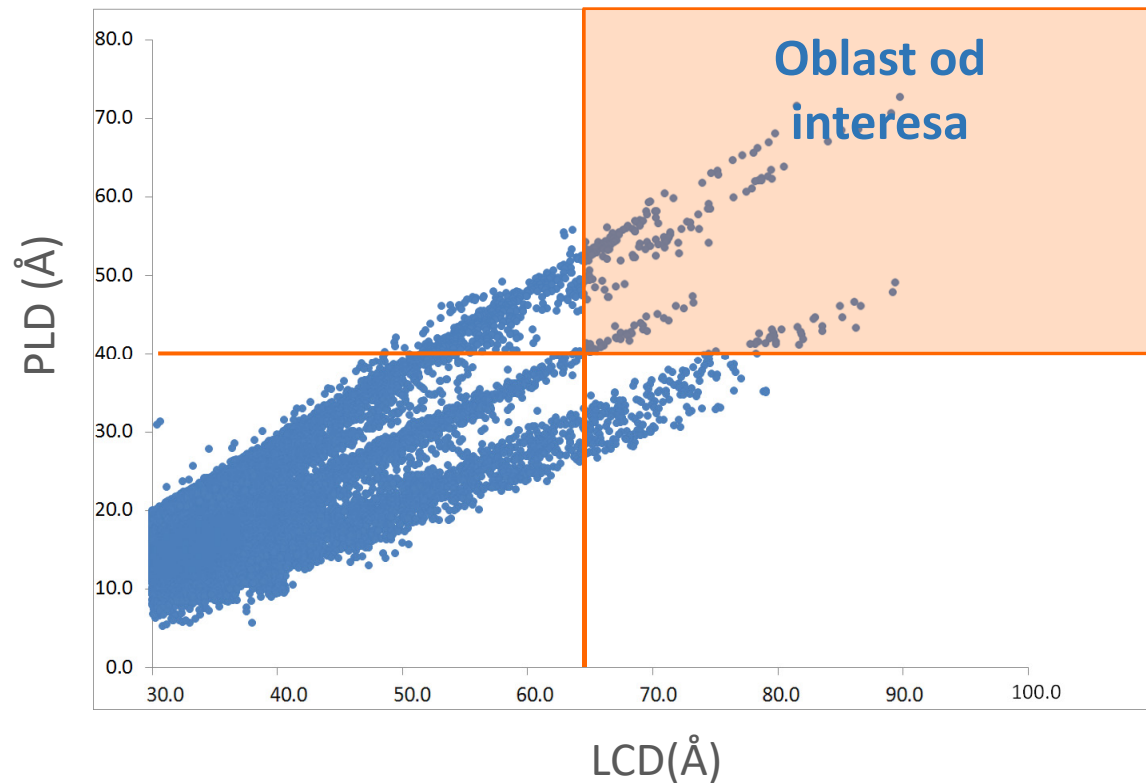
Koncept projekta

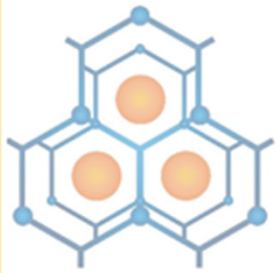


HRP – model enzim



Molekulske dimenzije
(40 × 44 × 65) Å





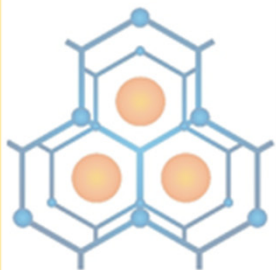
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



SYMBIOSIS – multidisciplinarni projekat





Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



SYMBIOSIS – multidisciplinarni projekat

Tamara Todorović, Hemijski fakultet

Metal-organske umrežene strukture – materijali budućnosti

Radivoje Prodanović, Hemijski fakultet

Proteinski inženjering

Milan Senčanski, Institut VINČA

Bioinformatika u službi dizajna enzim@MOF kompozita

Tamara Todorović & Radivoje Prodanović, Hemijski fakultet

Sinteza i karakterizacija enzim@MOF kompozita

Ana Marija Balaž, IHTM

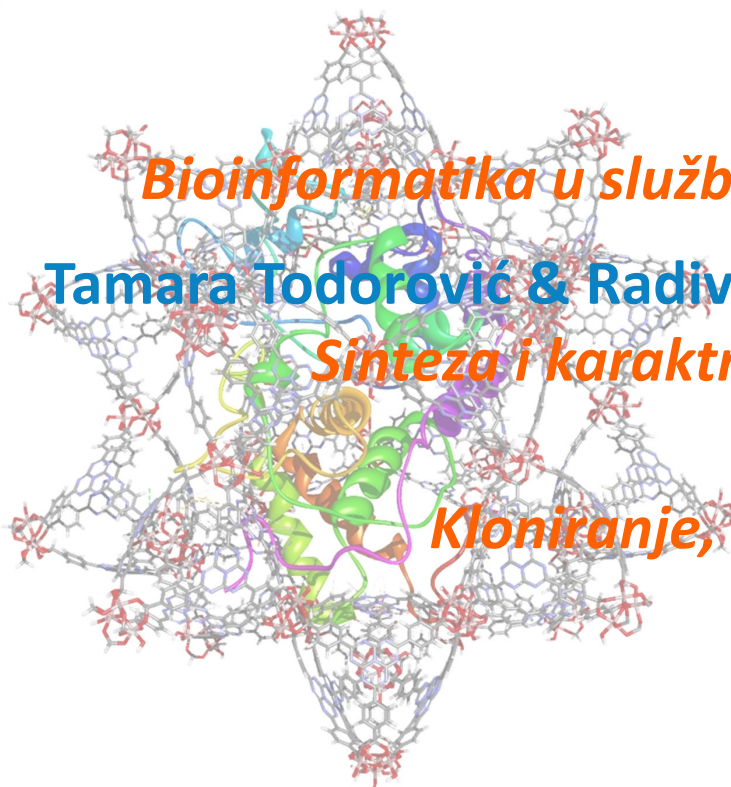
Kloniranje, mutacije, ekspresija i još ponešto

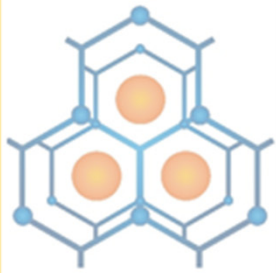
Predrag Ristić, Hemijski fakultet

Simetrični svet MOF-ova

Marija Stanišić, Hemijski fakultet

Tajne biomineralizacije





Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



SEMINAR – BITNE INFORMACIJE

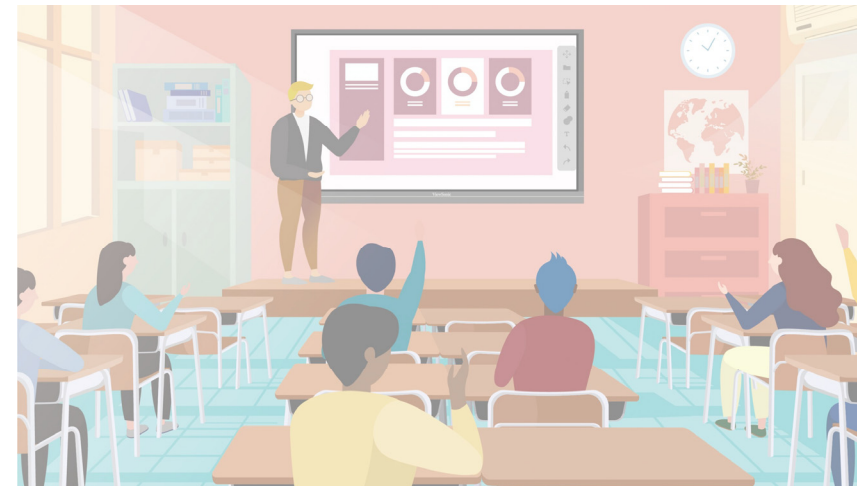
PAUZE ZA KAFU
u holu ispred VHA

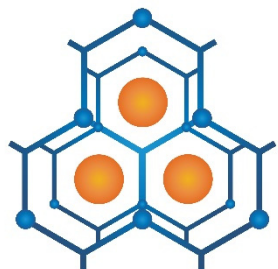


13:30 – 14:30
PAUZA ZA RUČAK
u holu ispred VHA



14:30 OKUPLJANJE
U SALI ZA SEDNICE;
podela učesnika u
tri grupe za
drugi deo seminara





Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

METAL-ORGANSKE UMREŽENE STRUKTURE – MATERIJALI BUDUĆNOSTI

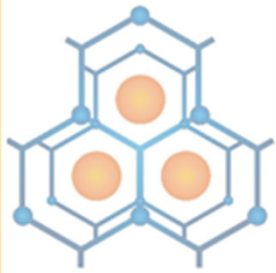
Tamara Todorović

Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet



Фонд за науку
Републике Србије

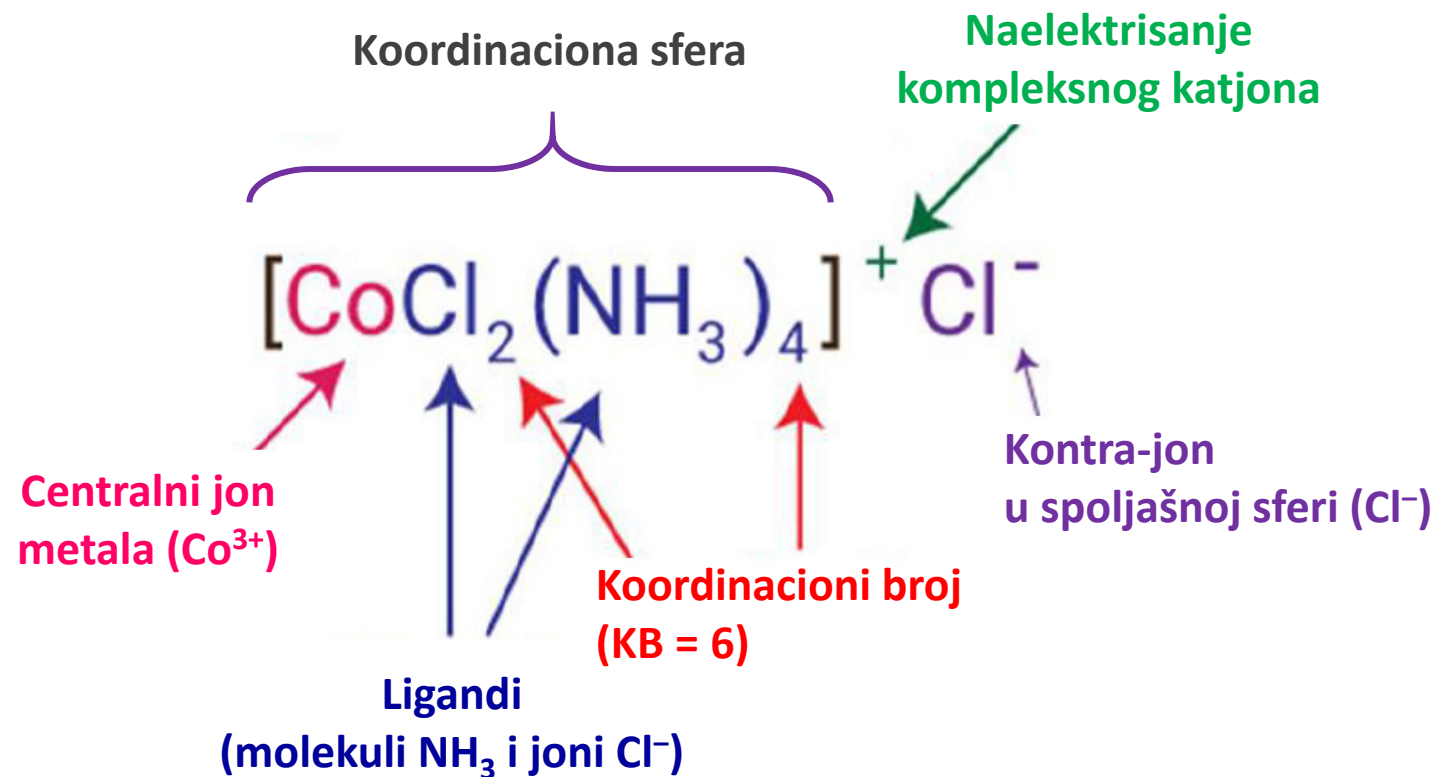
Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997

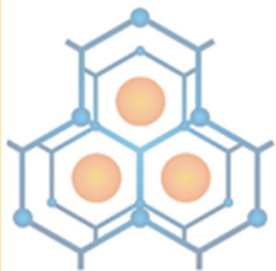


Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF-ovi*)?

Koordinaciona hemija – deo neorganske hemije

Koordinaciona jedinjenja = kompleksna jedinjenja = kompleksi





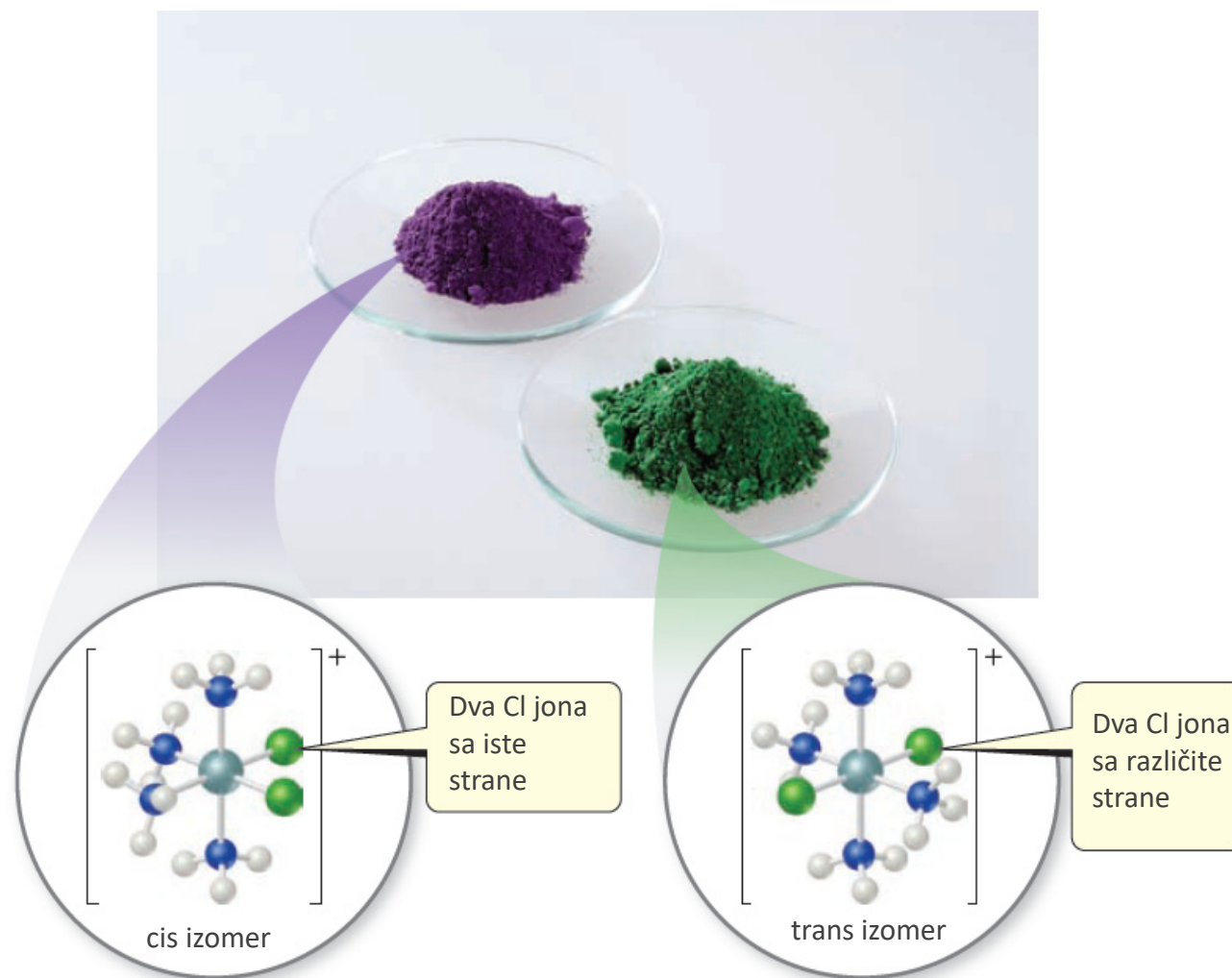
Symbiosis

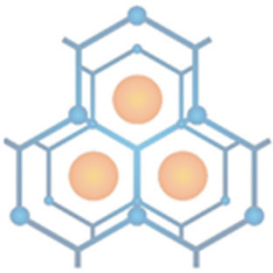
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF-ovi*)?

Koordinaciona hemija – deo neorganske hemije





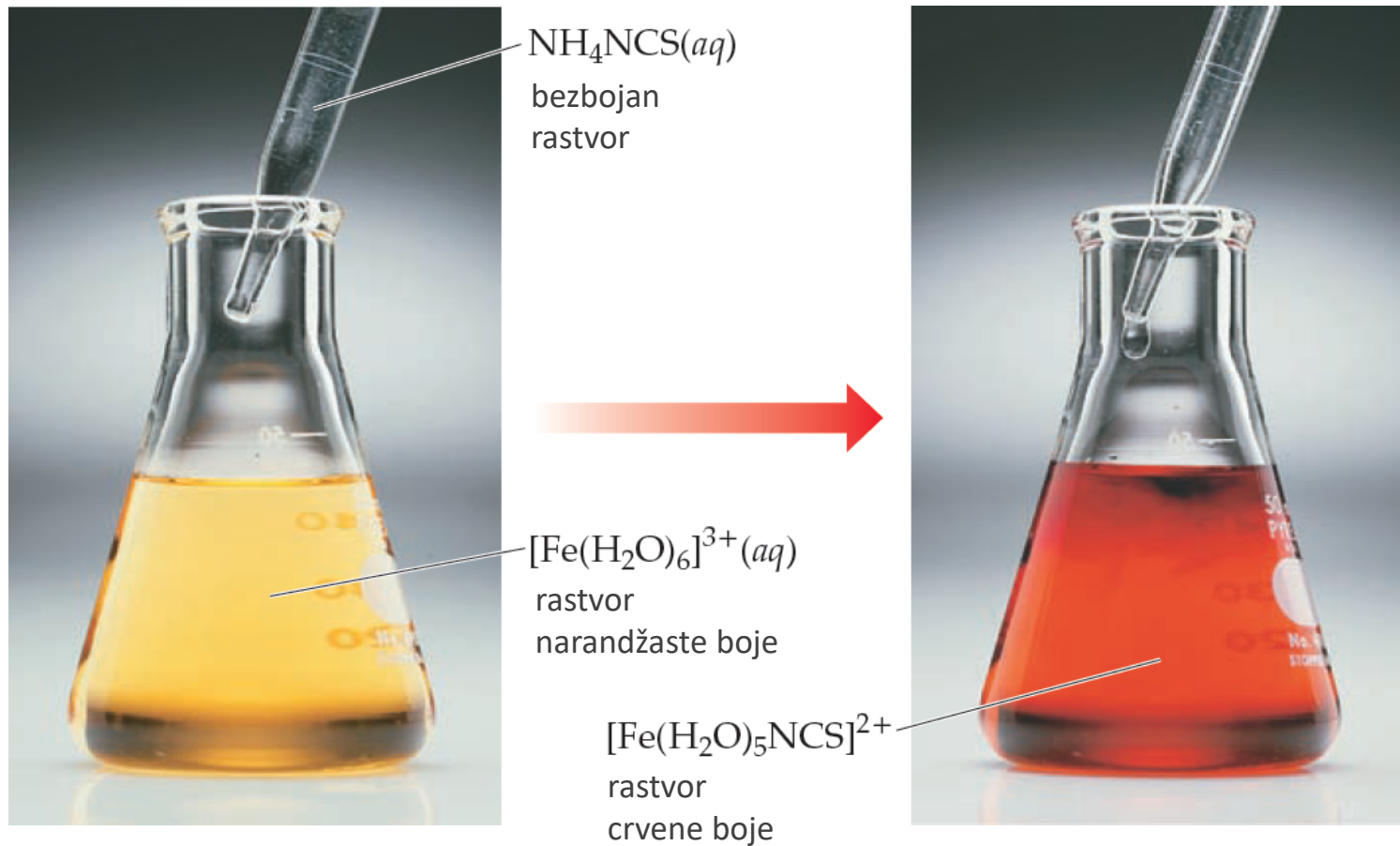
Symbiosis

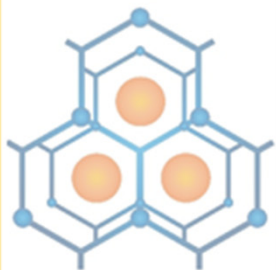
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

Koordinaciona hemija – deo neorganske hemije



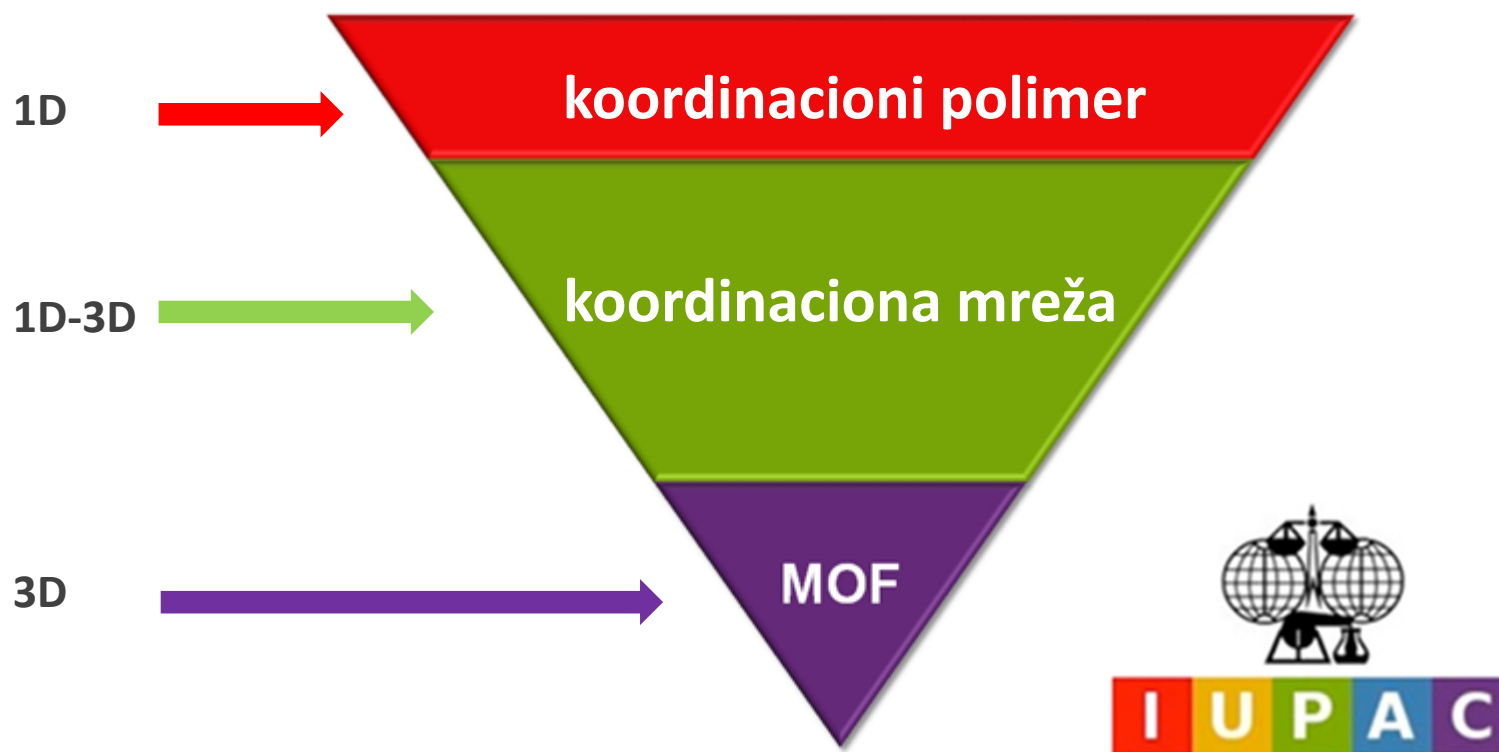


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

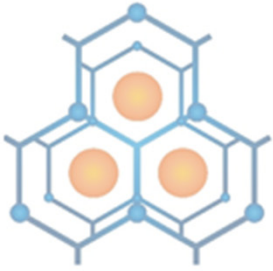


Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?



Koordinacioni polimeri:

- 1D-koordinacioni polimeri
- Koordinacione mreže (mogu biti od 1D-3D)
- Metal-organske umrežene strukture (MOF-ovi, samo u 3D)



Symbiosis

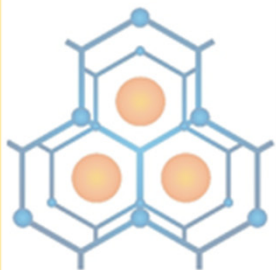
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

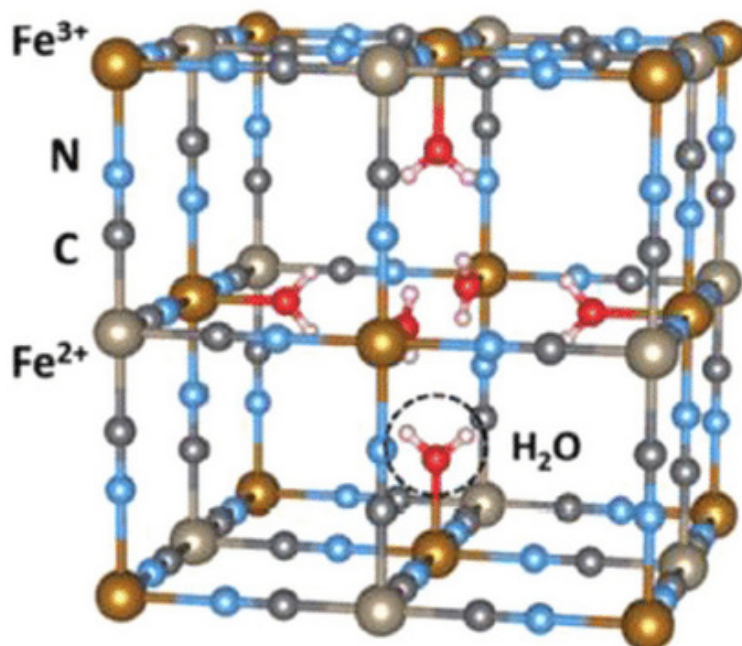
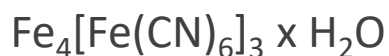


Vincent van Gogh, Zvezdana noć, 1889.,
ulje na platnu, MoMA

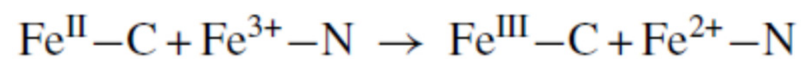
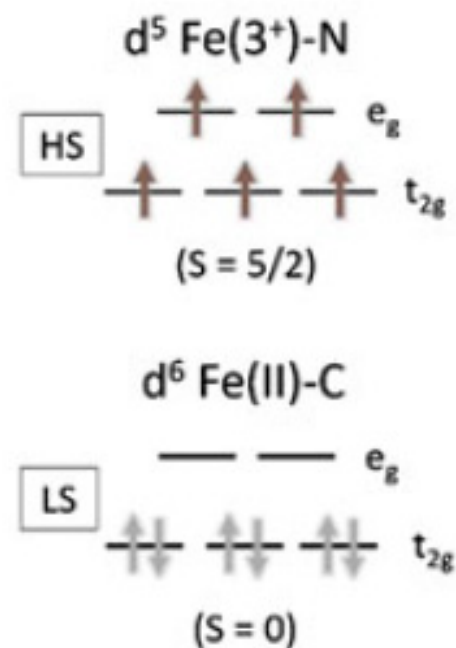


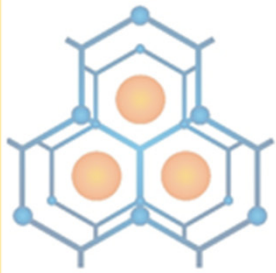
Šta su to metal-organske umrežene strukture (engl. metal-organic frameworks, MOF)?

Berlinsko plavo (prusko plavo, parisko plavo)



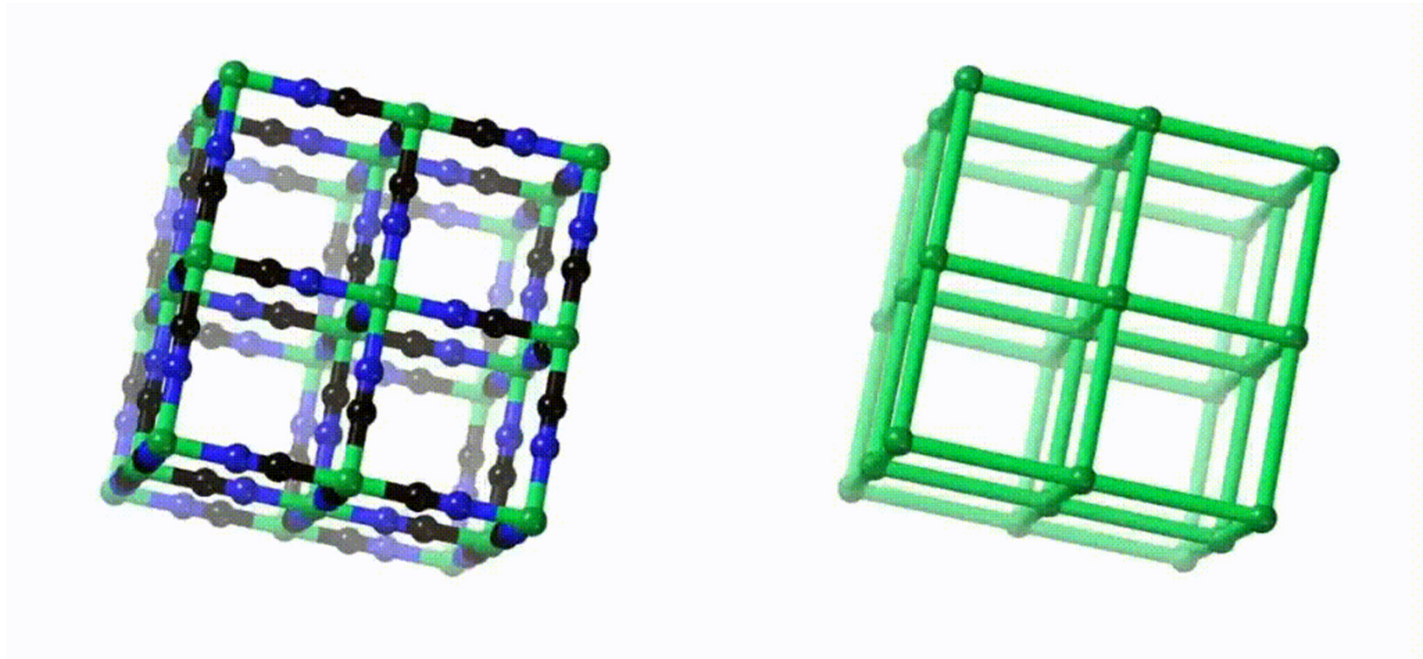
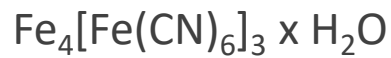
Jedinična ćelija berlinskog plavog

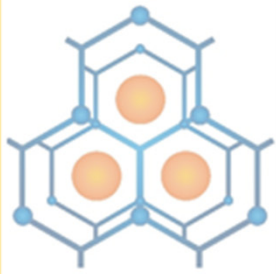




Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

Berlinsko plavo (prusko plavo, parisko plavo)





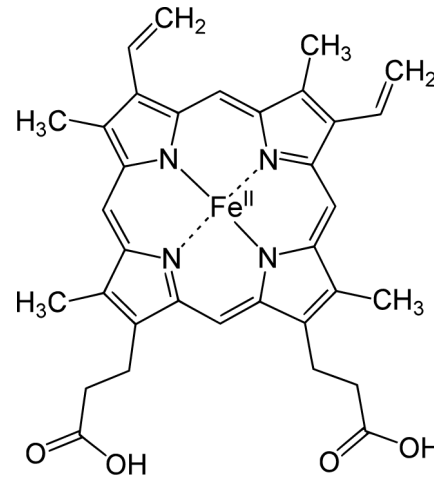
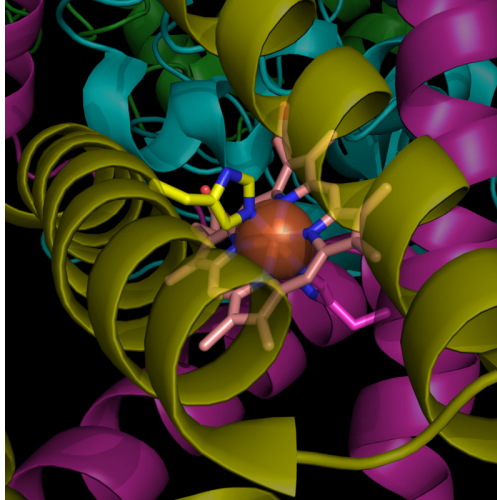
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



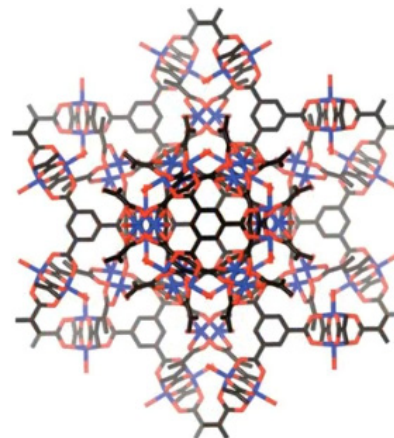
Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

Metal-organske strukture

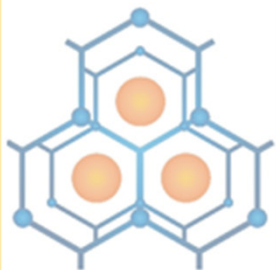


hem

Framework - okvir



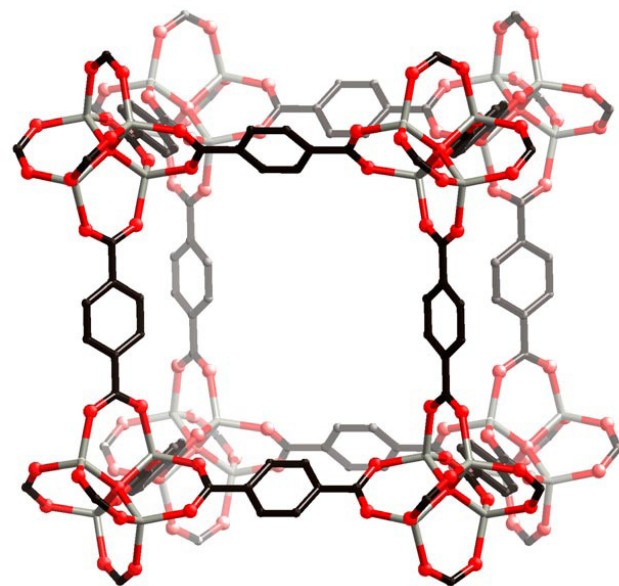
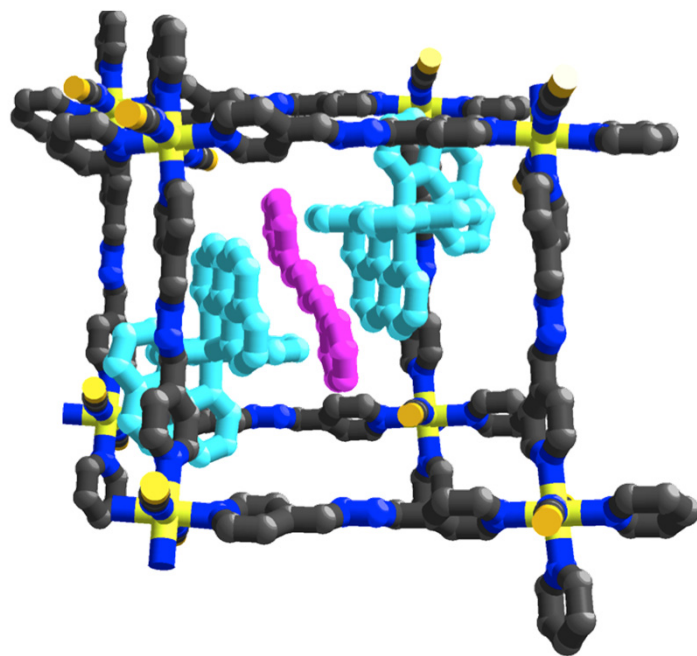
Čelična konstrukcija (ovir)
Ajfelovog tornja (levo)
i MOF HKUST-1 (desno)



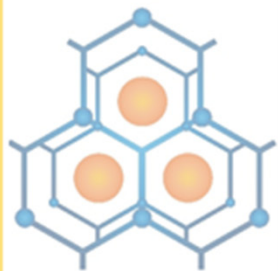
Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

MOF-ovi su koordinacione mreže koje sadrže potencijalne praznine.

Mnogi MOF sistemi su dinamični i mogu se desiti promene u strukturi, te se mogu pojaviti odgovarajuće promene u potencijalnoj poroznosti ili prazninama ispunjenim rastvaračem i gostom, u zavisnosti od temperature, pritiska ili drugih spoljnih stimulusa.



Primer tipičnih MOFova sa molekulima gosta (levo) i bez molekula gostiju (desno)

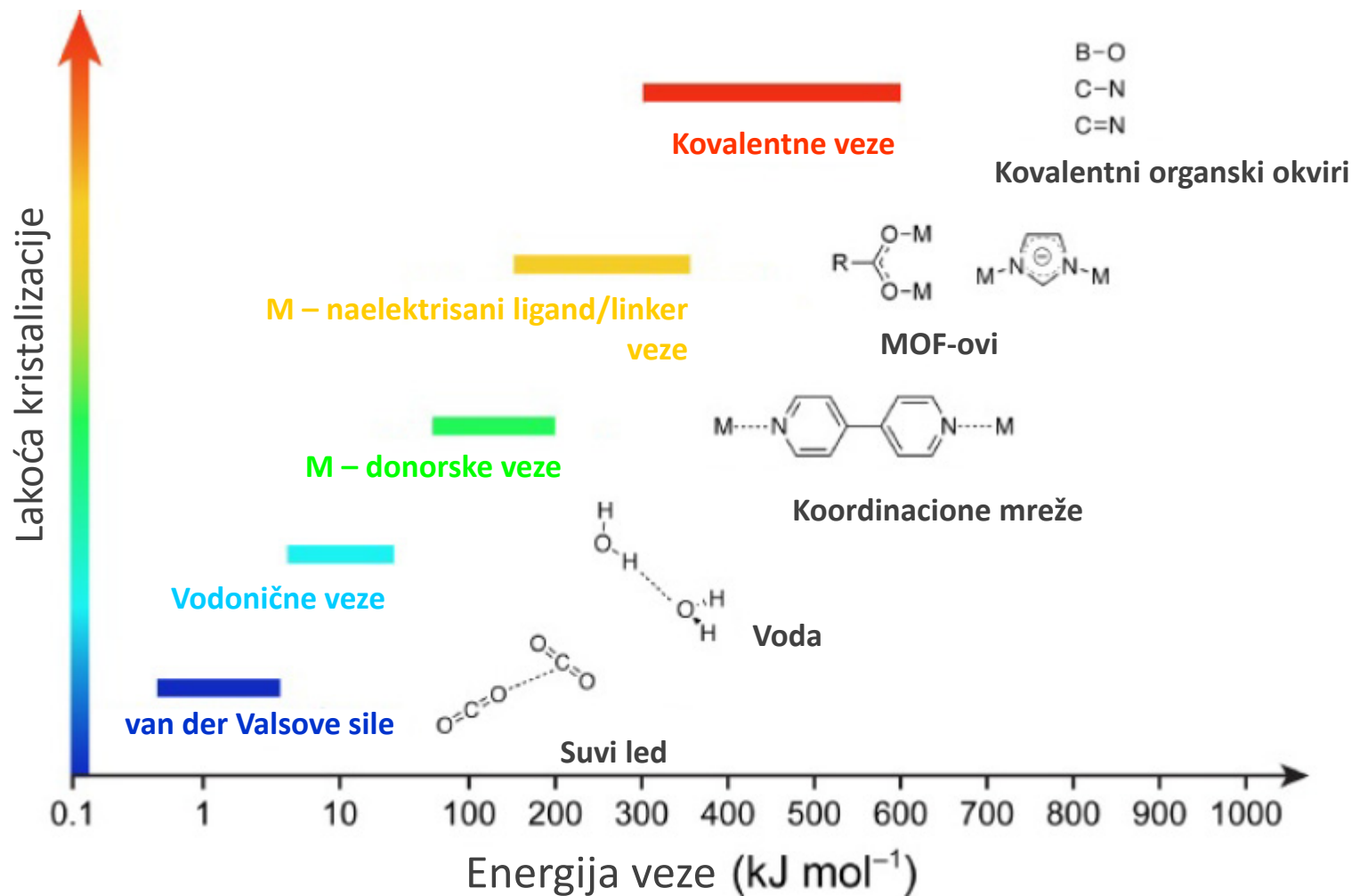


Symbiosis

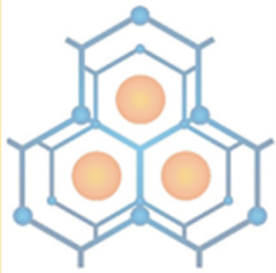
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?



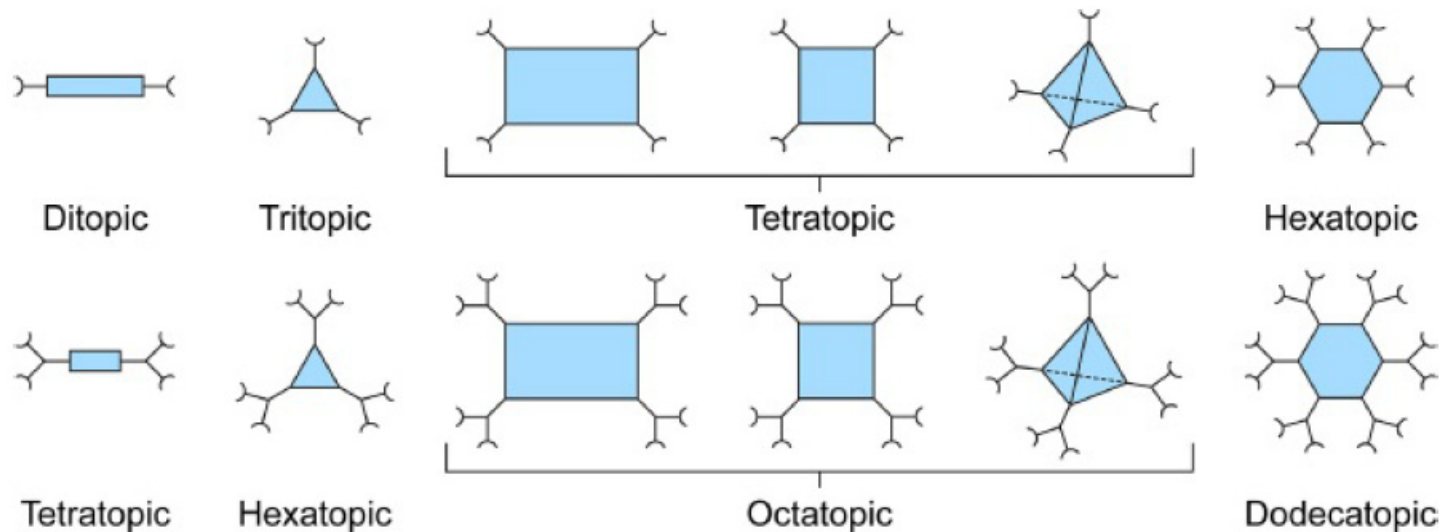
Poređenje jačine različitih vrsta interakcija u rasponu od slabih (plava i svetlo-plava, van der Valsove sile i vodonična veza), srednjih (zelena, metal-donorske veze) i jakih (žuta i crvena, M – naelektrisan ligand veza i kovalentne veze).



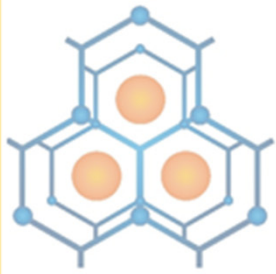
Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

Ligandi

Ligandi obično imaju dve, tri, četiri, šest, osam ili 12 tačaka vezivanja tako da ih nazivamo ditopni, tritopni, tetratopni itd.



Osnovne geometrije organskih liganada koji se koriste u sintezi MOF-ova obično se kreću od dve do 12 tačaka vezivanja. Manje simetrični oblici liganada su takođe mogući, ali nisu prikazani.



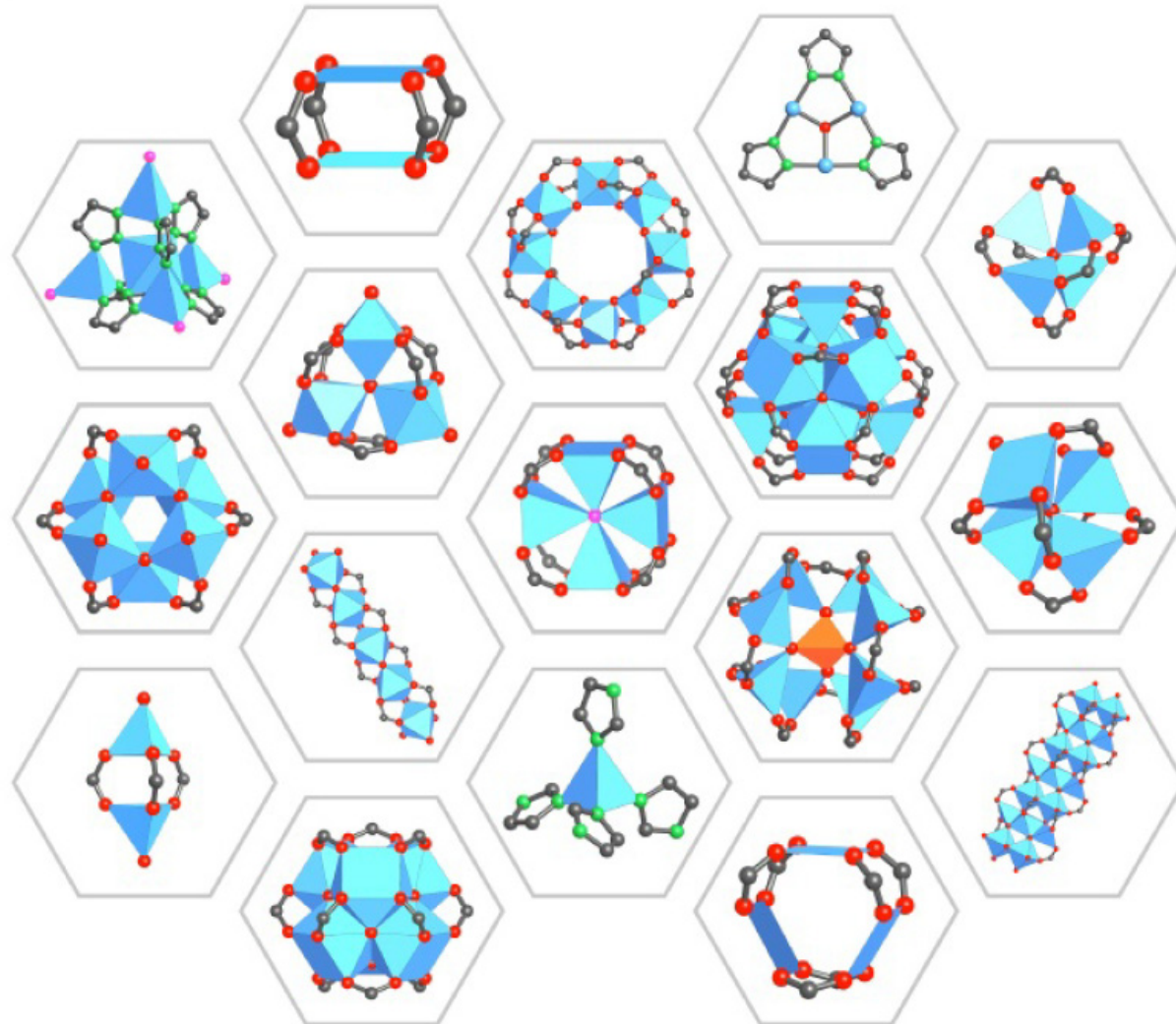
Symbiosis

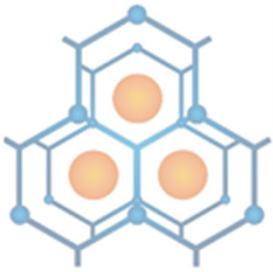
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?

SBU (secondary building units) - primeri



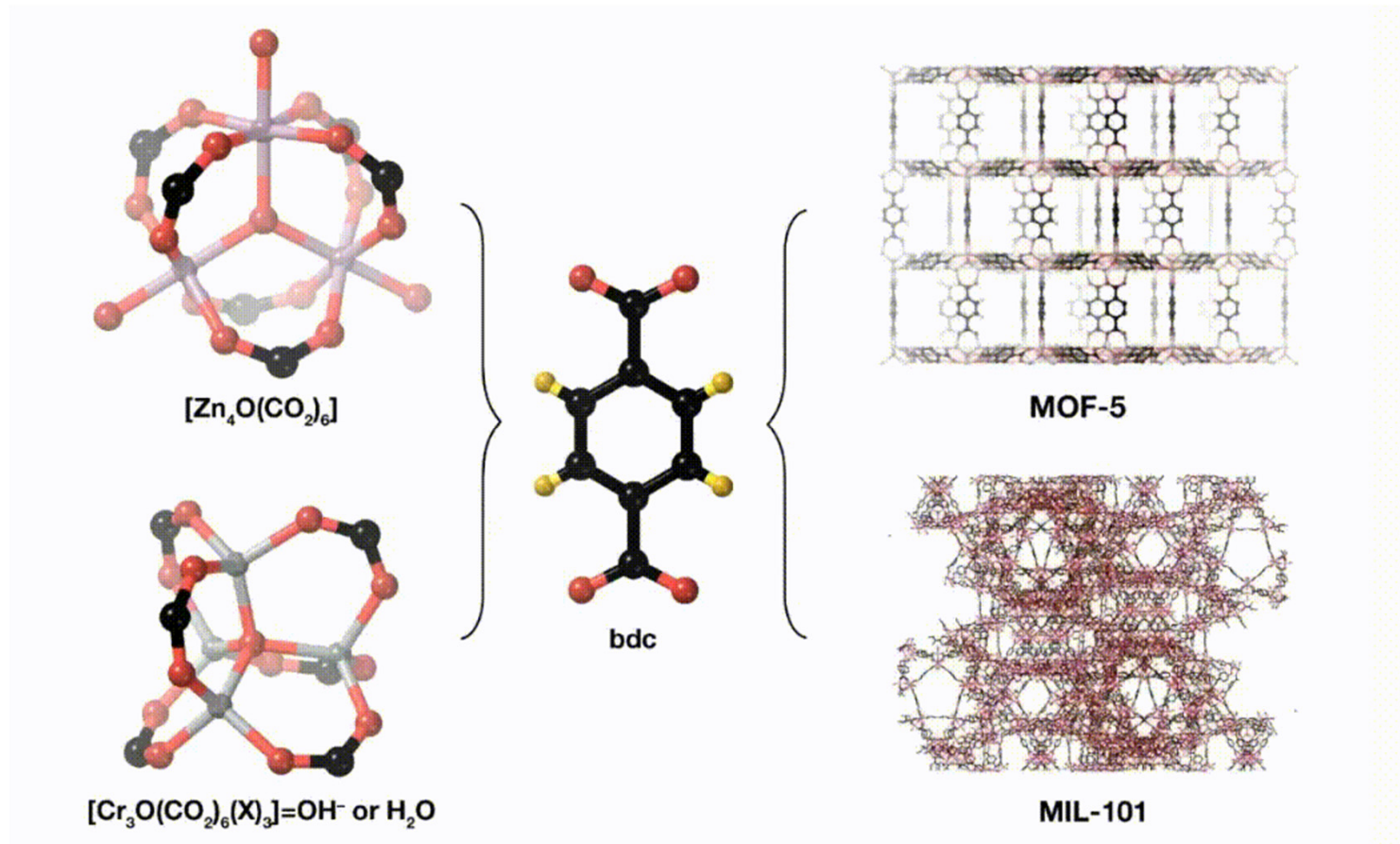


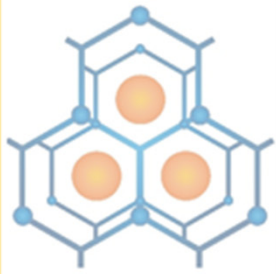
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



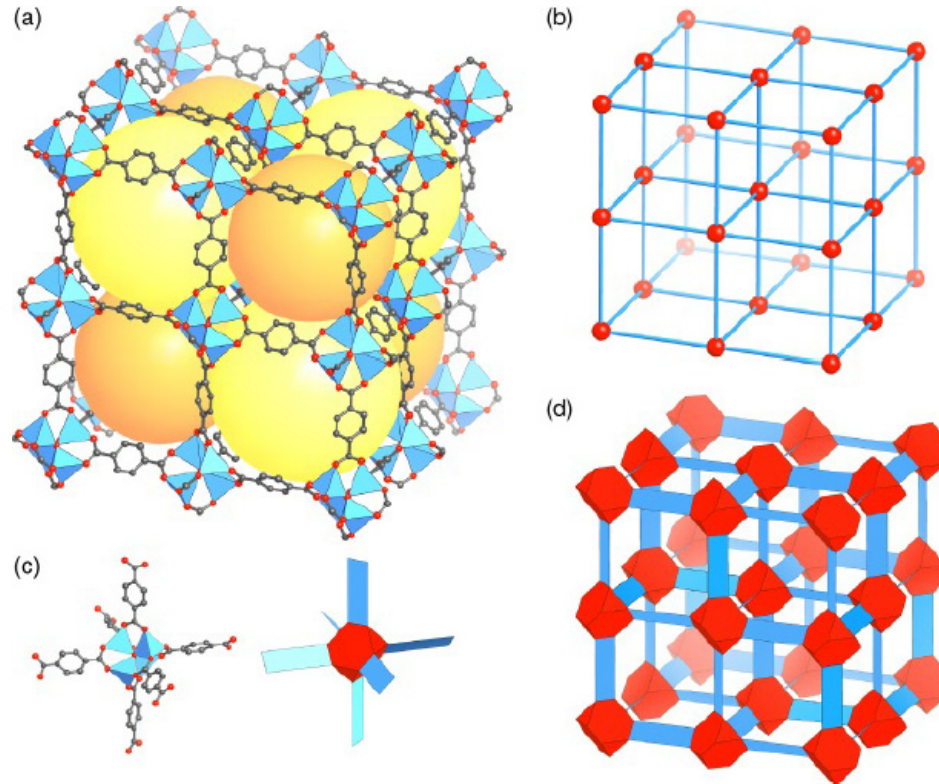
Šta su to metal-organske umrežene strukture (*engl. metal-organic frameworks, MOF*)?



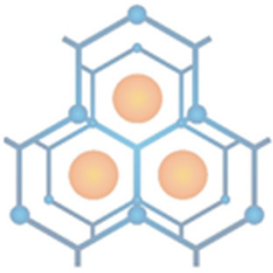


Šta su to metal-organske umrežene strukture (engl. metal-organic frameworks, MOF)?

MOF-5

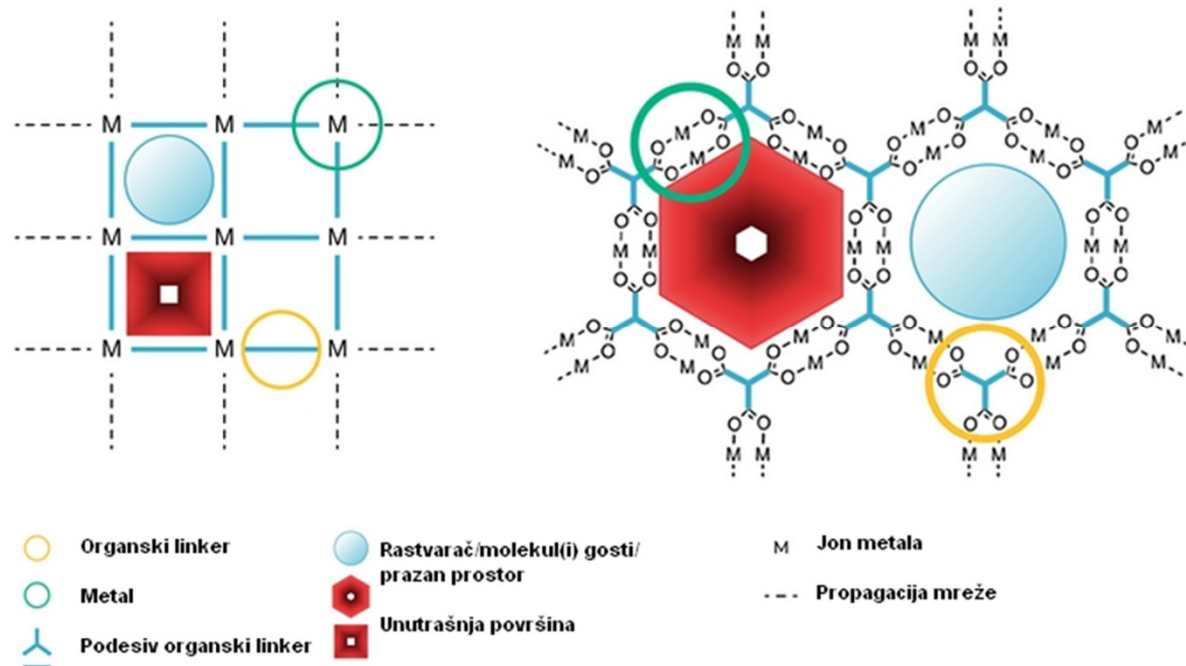


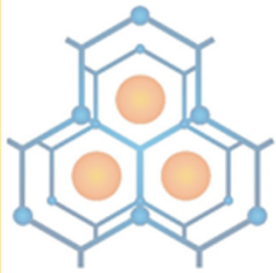
(a) Kristalna struktura MOF-5, dve različite veličine pore su istaknute žutim sferama (velike pore) i narandžastim sferama (male pore). (b) Pojednostavljeni prikaz osnovne strukture MOF-5. SBU su zamenjeni jednim atomom – čvorovi, a BDC ligandi su zamenjeni ivicama. (c) Prikaz oktaedarskih $Zn_4O(COO)_6$ SBU kao skraćenih tetraedara i BDC liganada kao pravougaonika. (d) Prikaz strukture MOF-5 da bi se istakla njena arhitektonska stabilnost koja potiče iz međusobno okomitog rasporeda BDC liganada oko SBU. Šifra boje: Zn, plavi tetraedri; C, siva; O, crveno. U topologiji čvorovi su prikazani crvenom bojom, linkeri plavom bojom.



Poroznost MOF-ova

- Poroznost materijala se definiše kao odnos zapremine pora i ukupne zapremine koju zauzima čvrsta supstanca.
- Budući da su porozni materijali delimično sastavljeni od praznog prostora, u koji se mogu smestiti molekuli gostiju, obično se poroznost opisuje u smislu adsorpcije gasa/gasova.
- MOF-5 ima trajnu poroznost sa specifičnom površinom koja premašuje površinu zeolita, poroznih silikata i poroznih materijala na bazi ugljenika.
- MOF-ovi pokazuju ultra-visoku poroznost **nadmašujući poroznost svih ostalih klasa poroznih čvrstih materijala.**





Dizajniranje veličine pora i površine MOF-ova

Za dizajn MOF-ova sa velikim veličinama pora može se koristiti jednostavno geometrijsko razmatranje za dobijanje idealne simetrije pora.

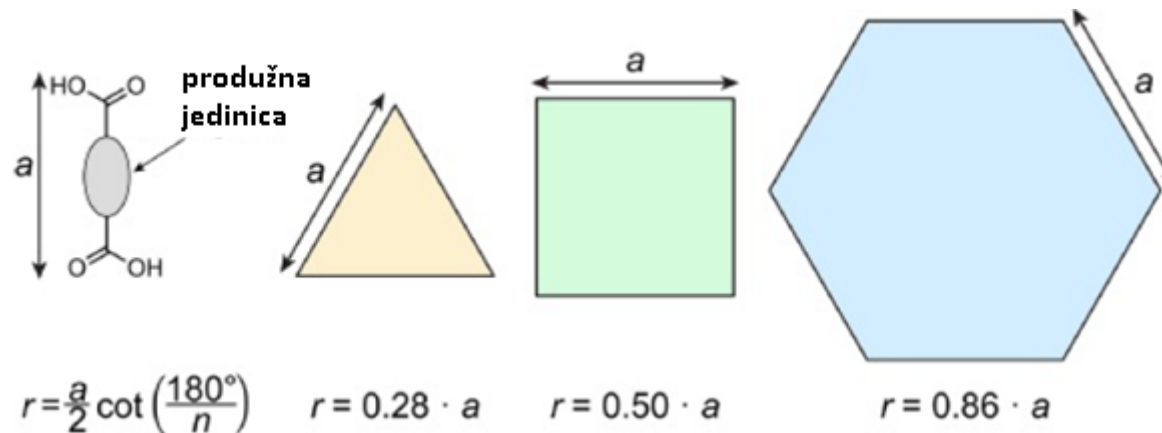
Jednačina (1) opisuje odnos između poluprečnika upisane kružnice mnogougla (r) i dužine njegove ivice (a):

$$r = \frac{a}{2} \cot\left(\frac{180^\circ}{n}\right) \quad (1)$$

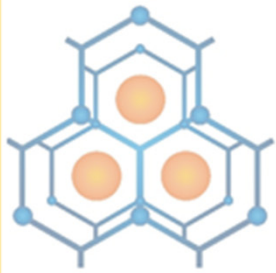
a – dužina ivice (linkera)

n – broj ivica

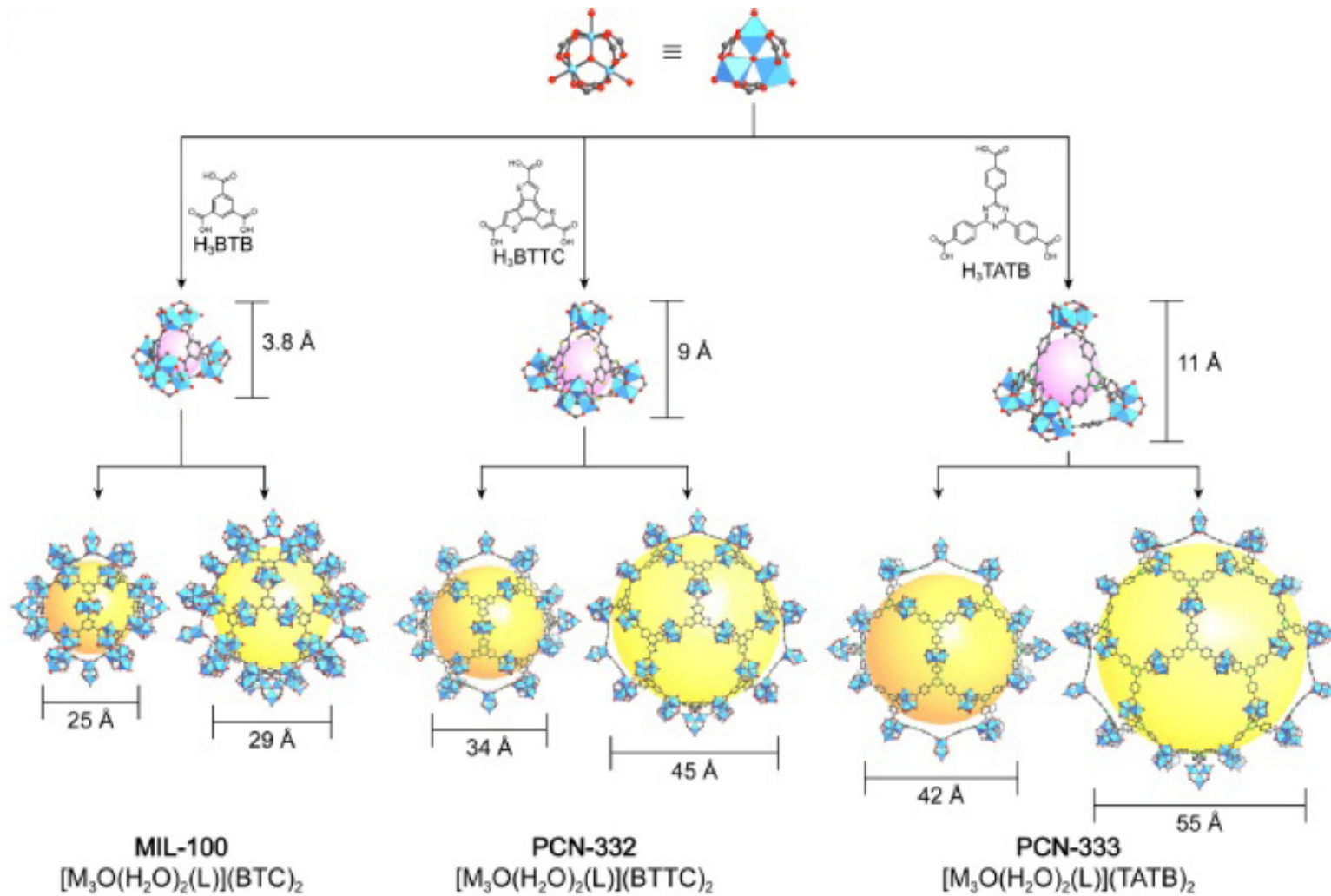
Shodno tome, za datu dužinu ivice a upisani krug je veći što više uglova ima poligon/mnogougao.

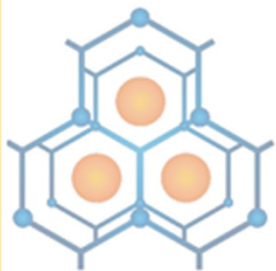


Geometrijsko razmatranje odnosa između broja ivica (n) mnogougla, dužina ivice a i poluprečnika upisane kružnice r . Poluprečnik upisanog kruga mnogougla sa n stranica date dužine stranice a postaje veći što više ivica ima mnogougao.

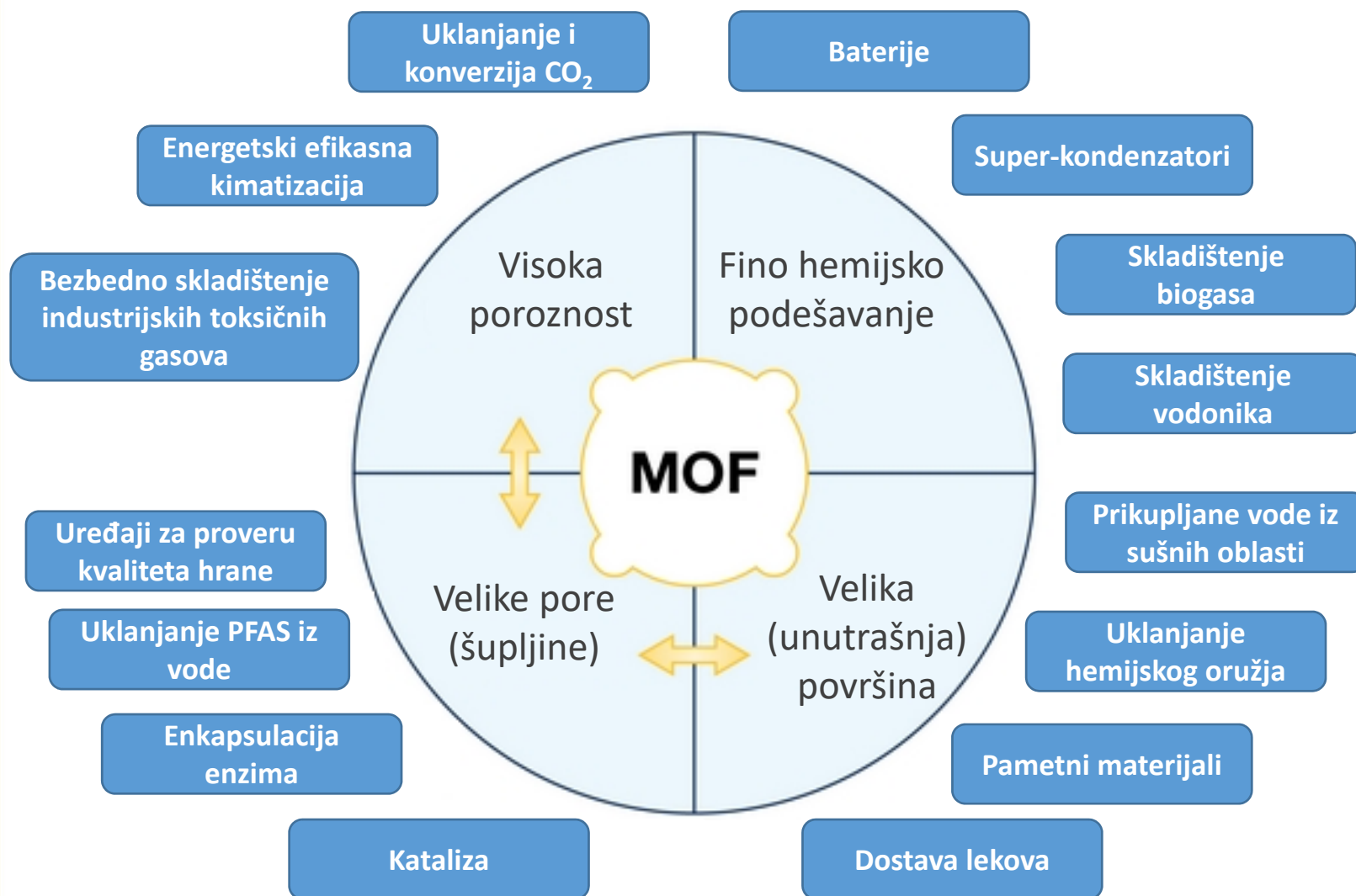


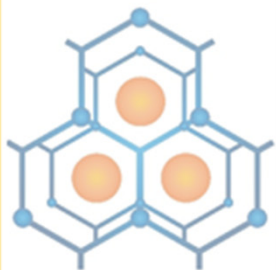
Dizajniranje veličine pora i površine MOF-ova





Primena MOF-ova





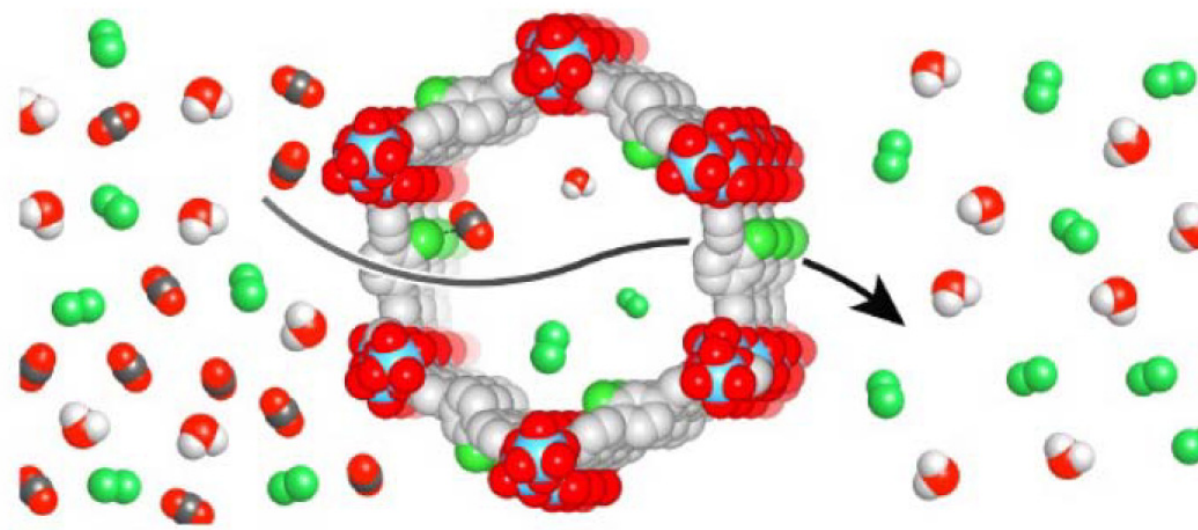
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Primena MOF-ova

Selektivno uklanjanje gasova (CO_2)

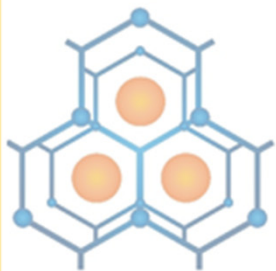


Dimni gas
 N_2 , CO_2 , H_2O

IRMOF-74-III
selektivno vezuje CO_2

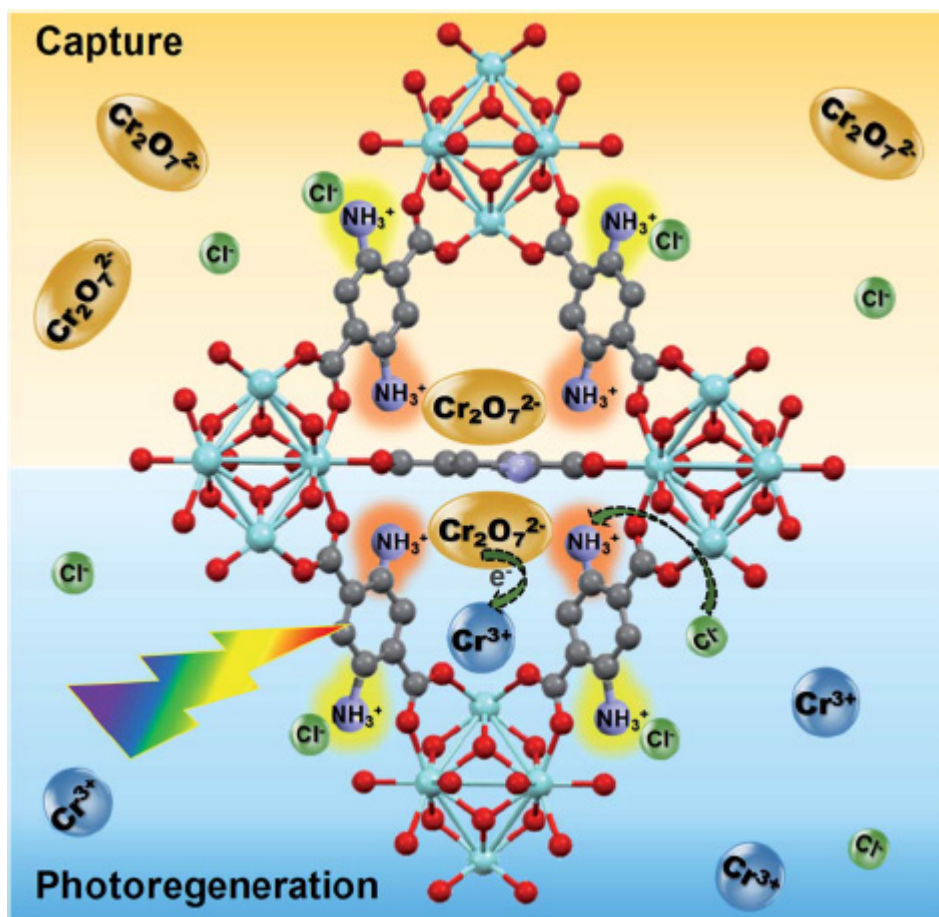
Prečišćena smeša
 N_2 , H_2O

MOF se regeneriše
zagrevanjem

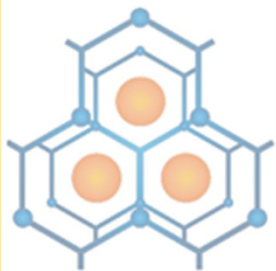


Primena MOF-ova

Prečišćavanje otpadnih voda



Shema hvatanja i fotoredukcije Cr(VI)



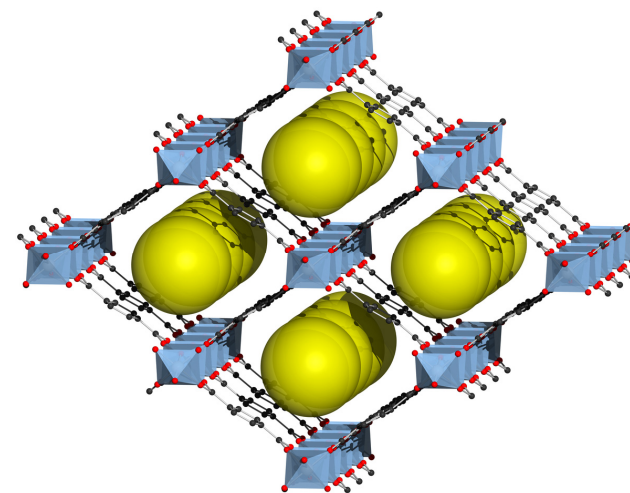
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

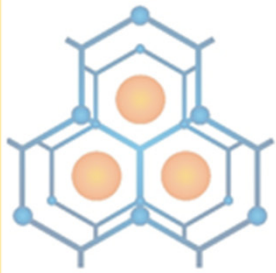


Primena MOF-ova

Sistemi za hlađenje



MIL-53(AI)

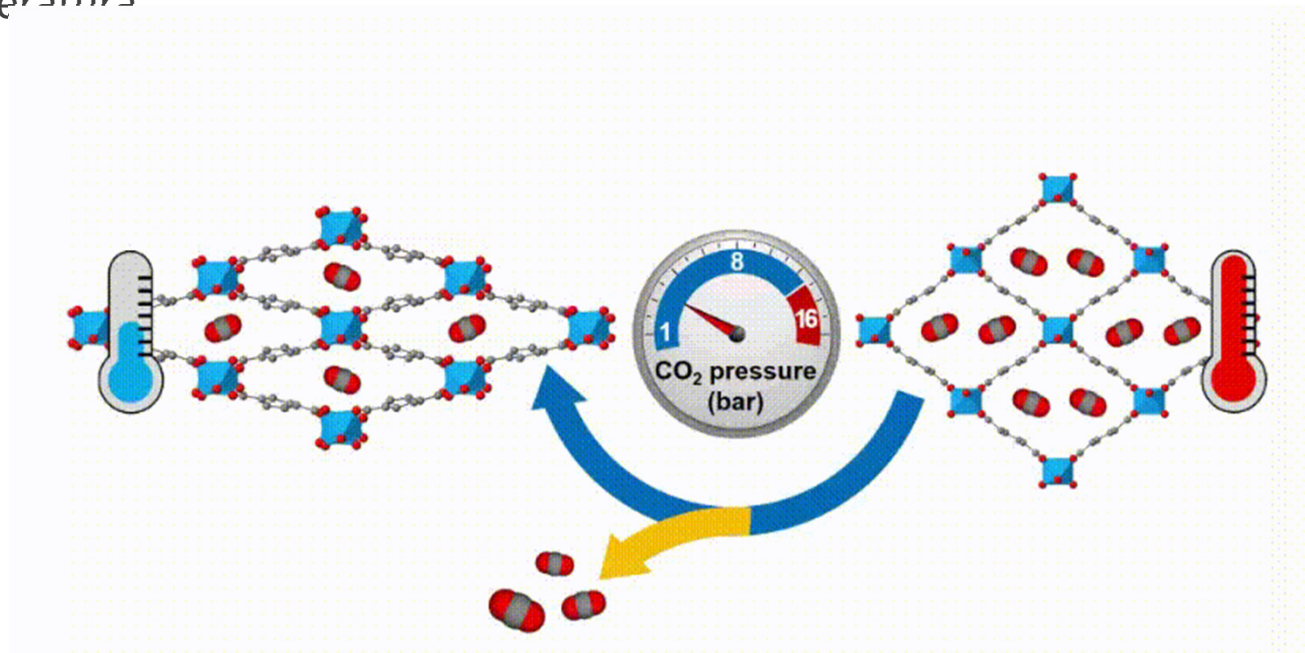


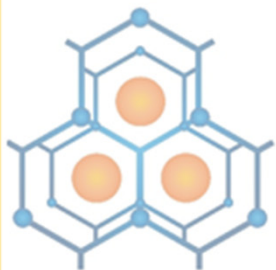
Primena MOF-ova

Sistemi za hlađenje

Ekološki prihvatljiva alternativa postojećim sistemima za hlađenje

„Disajno-kalorični“ efekat, novi termin za definisanje veoma velikih toplotnih promena koje nastaju kombinacijom strukturnih promena i procesa adsorpcije gasa, koji se dešavaju tokom prelaza u procesu „disanja“ MOF-a. Kalorijski efekat se javlja pod veoma niskim radnim pritiscima i u širokom opsegu radnih temperatura

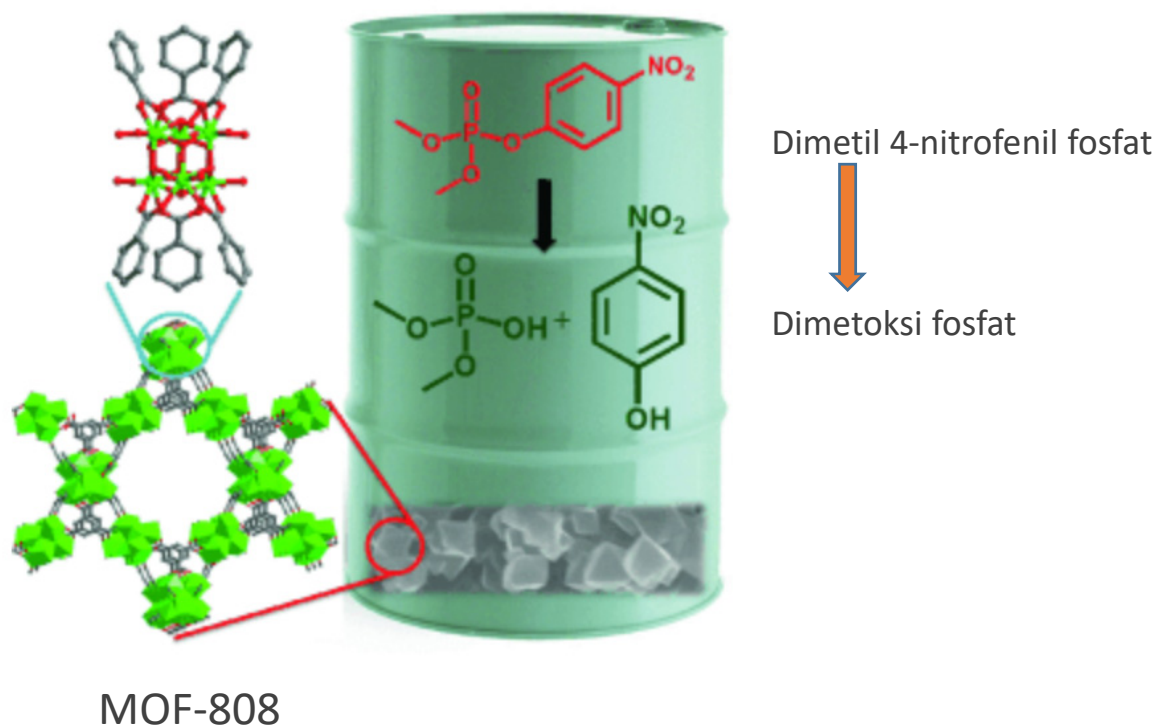
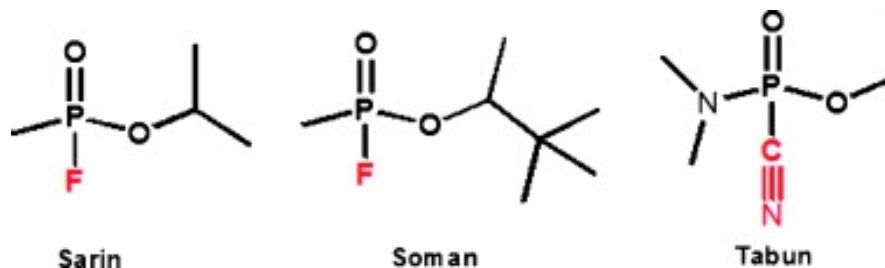


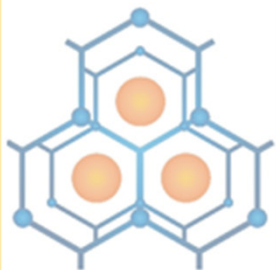


Primena MOF-ova

Degradacija hemijskog oružja

Nervni agensi

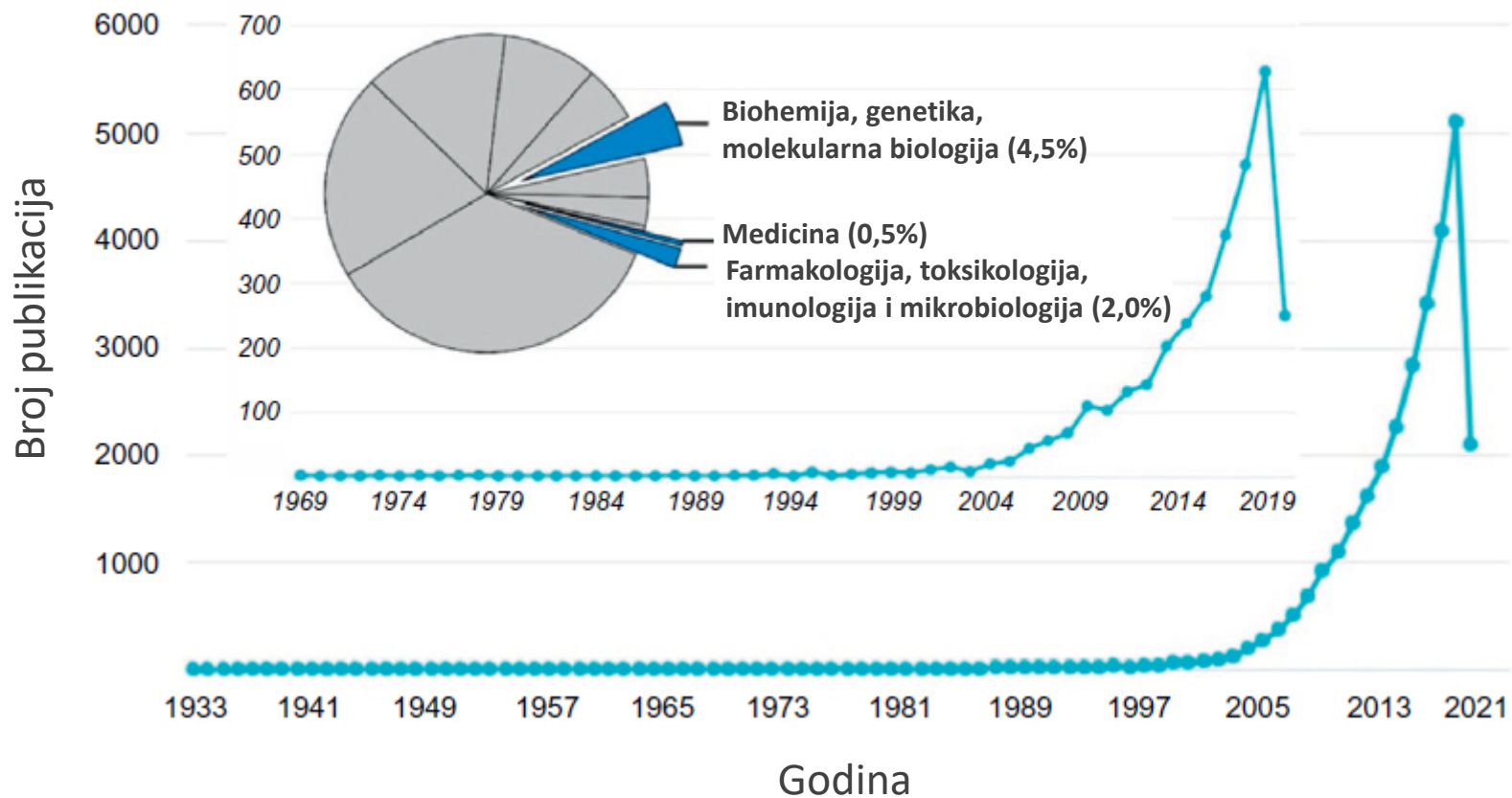


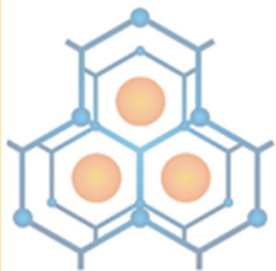


Primena MOF-ova

Biološki sistemi

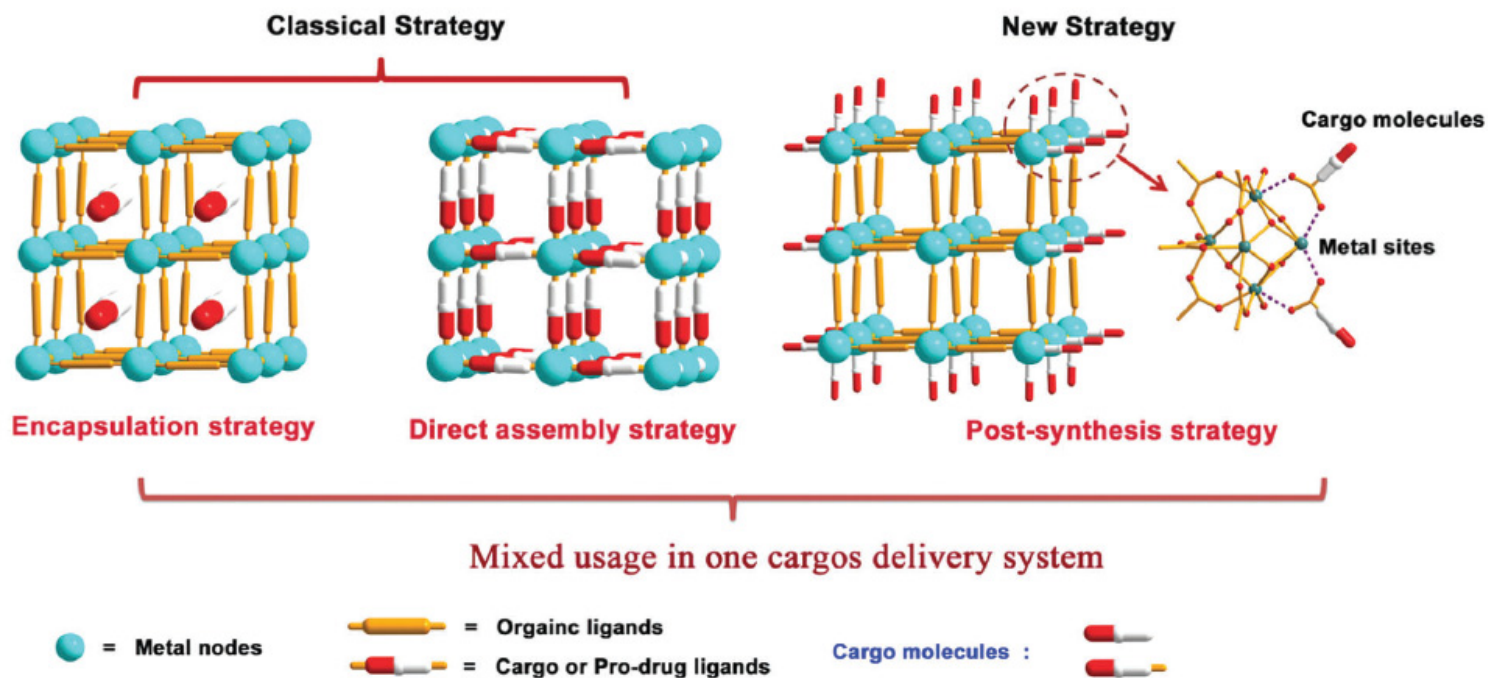
Symbiosis
 SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

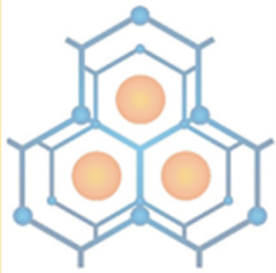




Primena MOF-ova

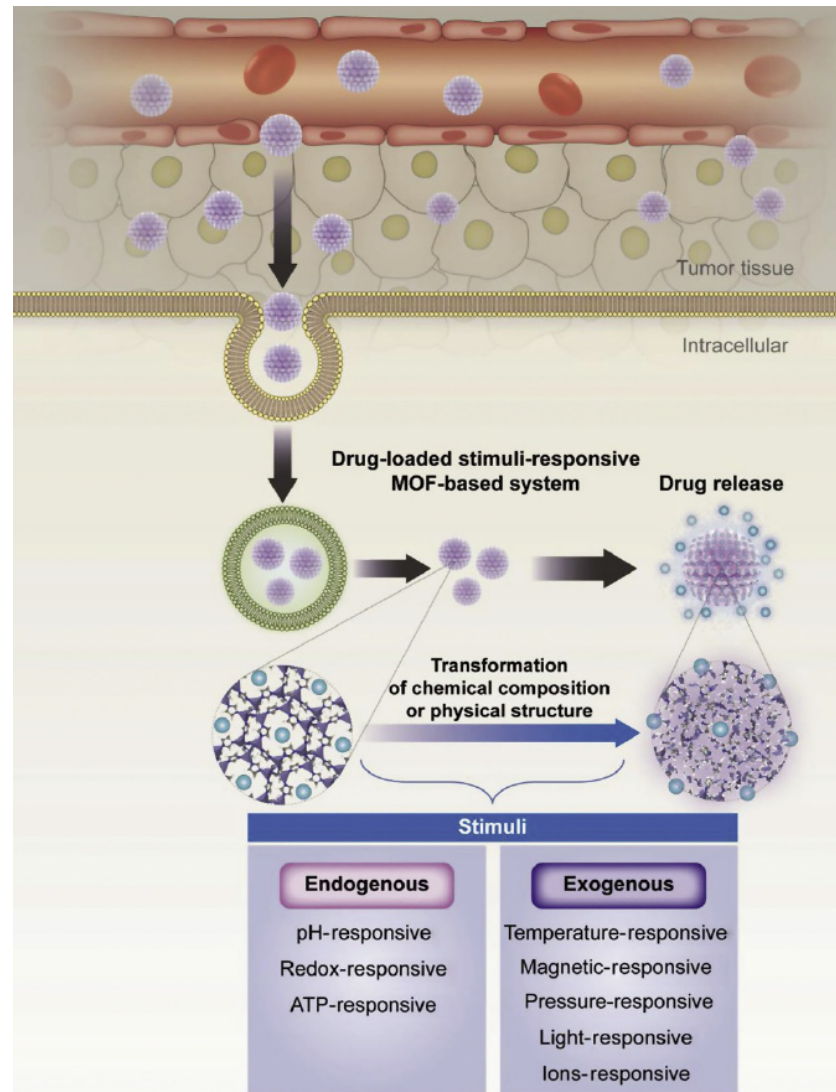
Dostava lekova



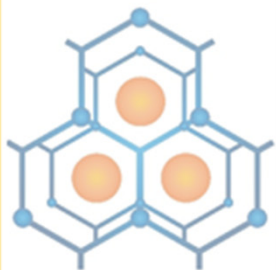


Primena MOF-ova

Dostava lekova

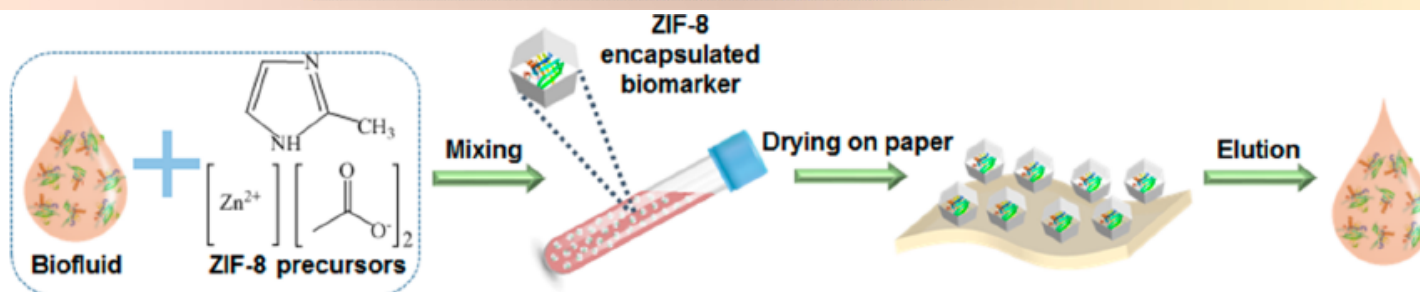
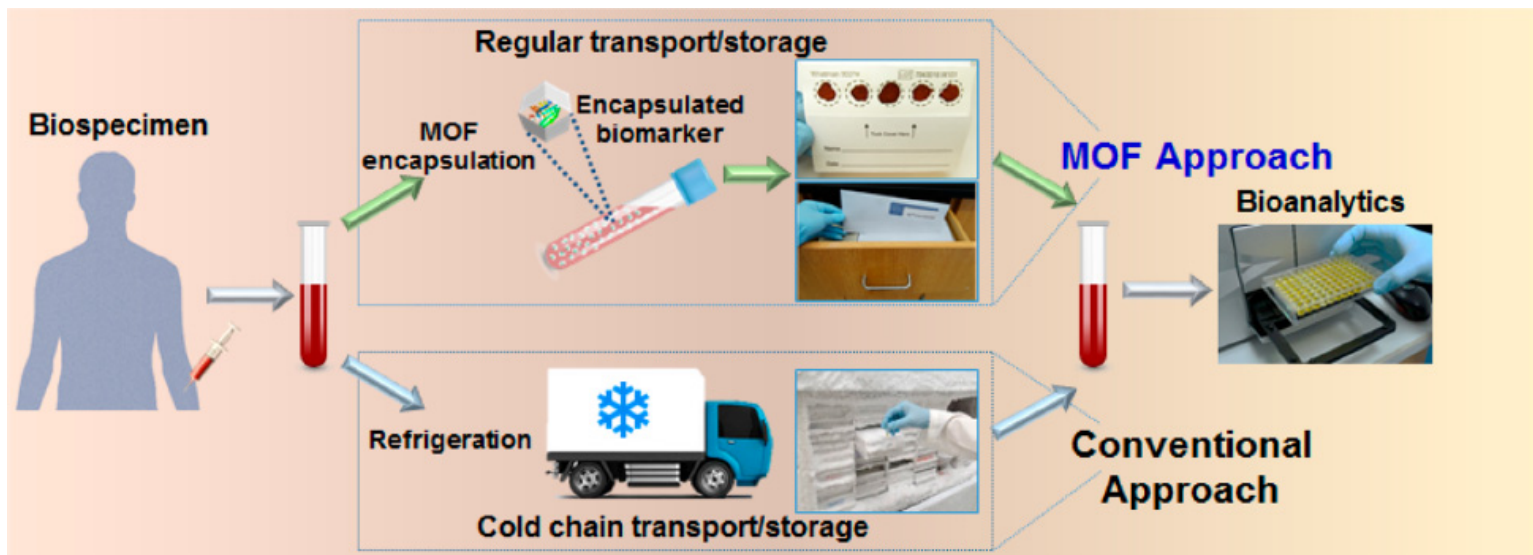


Opšta shema dostave lekova pomoću MOF-ova koja je regulisana različitim stimulusima

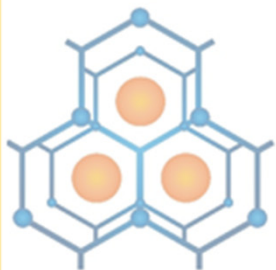


Primena MOF-ova

Čuvanje biouzoraka

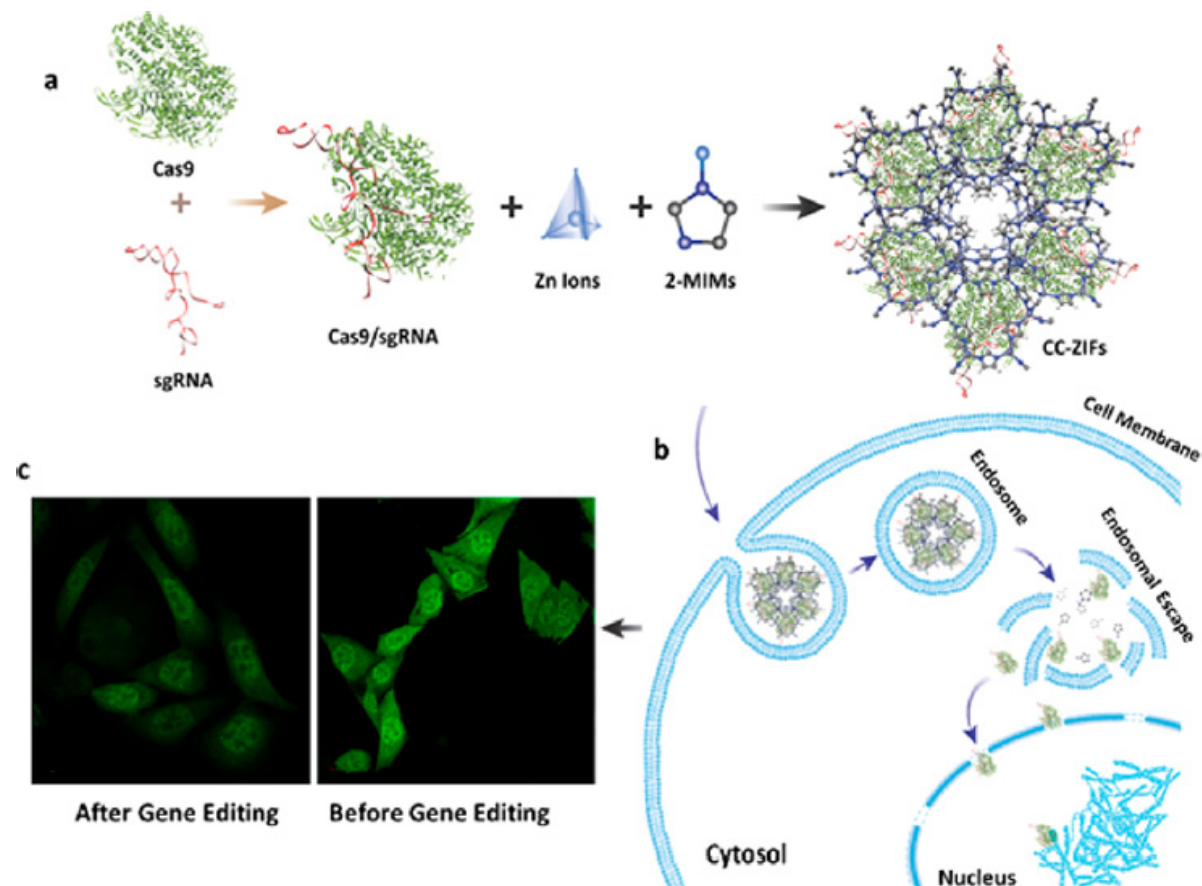


Shema koja prikazuje koncept upotrebe MOF-ova za inkapsulaciju i čuvanje biouzoraka. Kombinovanjem inkapsulacije u MOF-u i *dry-spot* tehnike, proteinski biomarkeri se mogu sačuvati na papirnoj podlozi u uslovima bez hlađenja. Pre bioanalize, MOF-inkapsulirani proteini se mogu oporaviti bez gubitka strukture i funkcije.



Primena MOF-ova

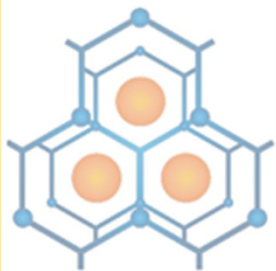
Enkapsulacija i dostava sistema za editovanje gena



(a) Inkapsuliranje negativno naelektrisanog Cas9/sgRNA unutar pozitivno naelektrisanog MOF-a ZIF-8 i formiranje biokompozita CC-ZIF.

(b) Stvaranje endozoma i njegova razgradnja uz odpuštanje CC-ZIF-a.

(c) CLSM slike ćelija pre i posle tretmana CC-ZIF-om.



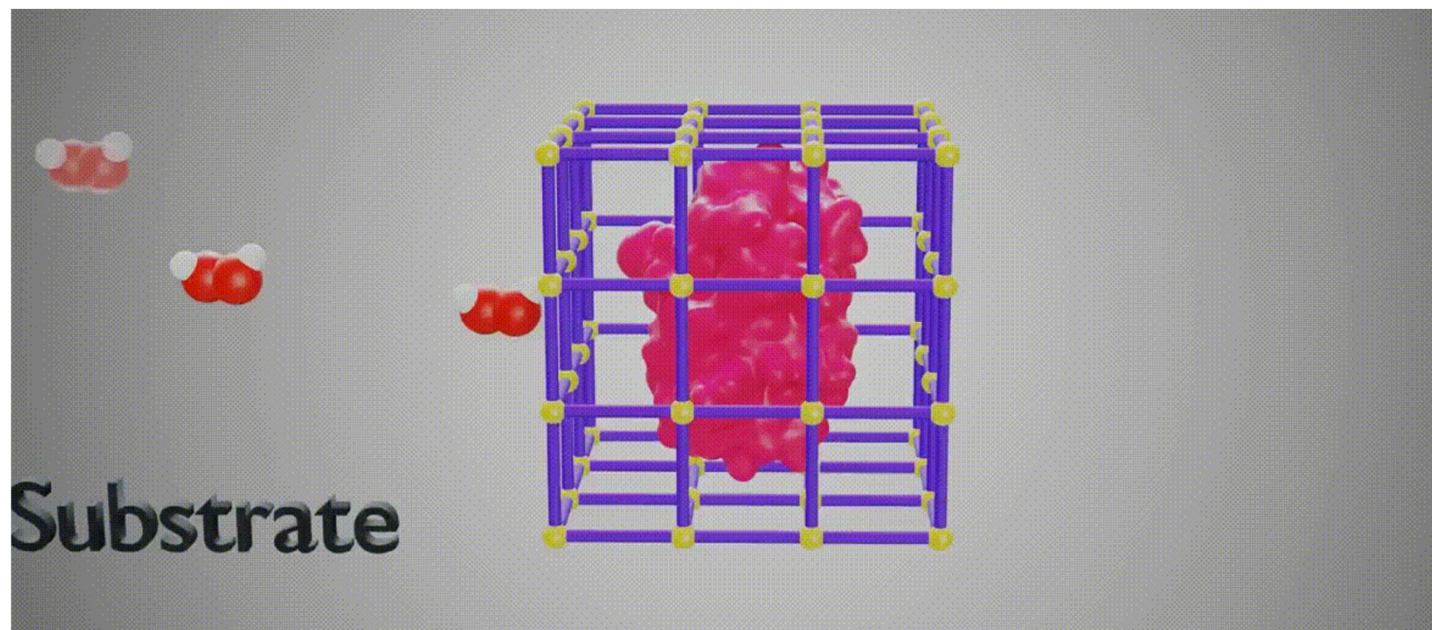
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Primena MOF-ova

Enkapsulacija enzima



Izvor:

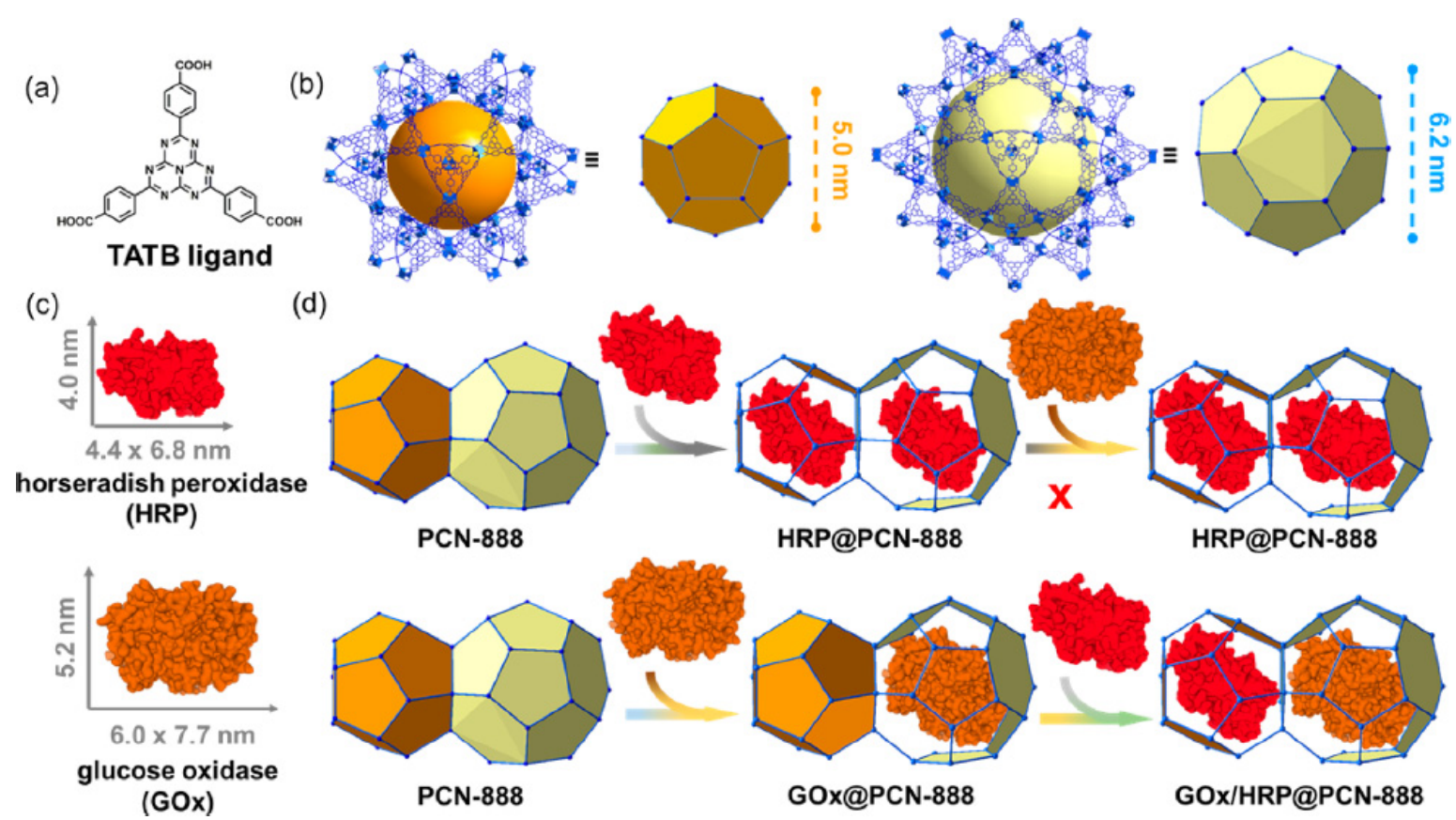
https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.chemrev.0c01029/suppl_file/cr0c01029_si_003.mp4

Chem. Rev. 2021, **121**, 1077–1129.

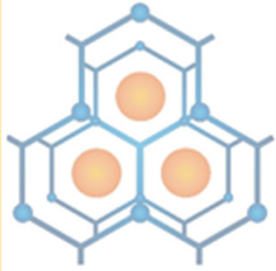


Primena MOF-ova

Enkapsulacija enzima – tandemski nanoreaktor



Formiranje GOx/HRP@PCN-888 kompozita zahteva razmatranje podudaranja veličine MOF mezopora i enzima. GOx/HRP@PCN-888 kompoziti mogu da se generišu samo ako se prvo uvede veći enzim GOx jer se time zaobilazi kompletno zasićenje pora HRP-om.



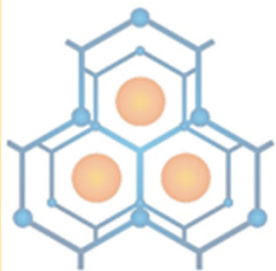
Primena MOF-ova

Enkapsulacija enzima – problemi

- curenje enzima zbog nespecifičnih interakcija sa unutrašnjom površinom MOF-a
- nemogućnost višestruke upotrebe
- mala količina ugrađenog enzima tokom templatne sinteze biokompozita
- ograničen transfer mase
- nereproduktivnost sinteza

Enkapsulacija enzima – naša rešenja

- primena ISM metode i molekuskog dokinga za modelovanje interakcija između površinskih AK ostataka proteina gosta i MOF domaćina
- primena proteinskog inženjeringa za dobijanje željenih mutiranih enzima
- glikozilacija površine enzima ekspresijom u mikroorganizmu *P. pastoris*
- hemijska modifikacija glikozilovanih enzima radi povećanja negativne šarže na površini enzima
- prečišćavanje komercijalnih enzimskih preparata radi dobijanja čistih izoformi enzima



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



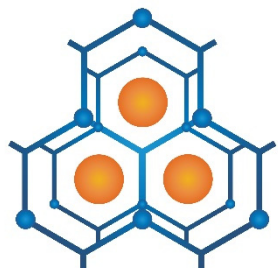
Laboratorija 559, Hemijski fakultet Laboratorija za koordinacione polimere



Tamara, Branka, Pavle, Sanja, Jovana, Peđa

Sinteza,
karakterizacija i
primena
koordinacionih
polimera

Kontakt:
tamarat@chem.bg.ac.rs



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

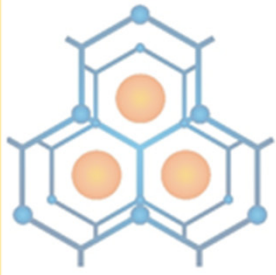
PROTEINSKI INŽENJERING

Radivoje Prodanović
Univerzitet u Beogradu-Hemijski fakultet



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997



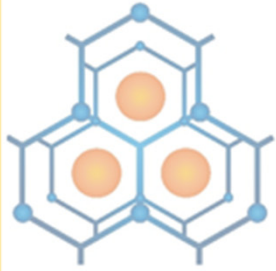
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pregled predavanja

- Evolucija života i proteina
- Dirigovana evolucija enzima
- High Throughput Screening
- Osnovne bioinformatičke metode



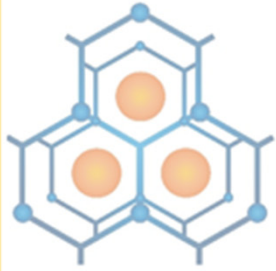
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Proteinski inženjering

- Racionalni dizajn
 - poznata struktura, nedostatak “high-throughput” skrining metoda
- Semi-racionalni dizajn
- Dirigovana evolucija
 - nepoznata 3D struktura, dostupnost “high-throughput” skrining metoda
- de novo sinteza proteina



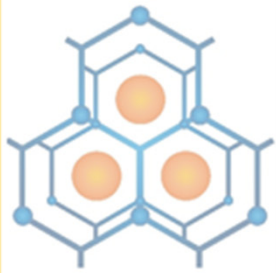
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Osobine proteina

- Aktivnost
 - specifična aktivnost, pH optimum, transfer elektrona ka elektrodi
- Specifičnost
 - enantioselektivnost, supstratna specifičnost
- Stabilnost
 - termostabilnost, oksidativna stabilnost, organski rastvarači, jonske tečnosti, visoka jonska sila, pH stabilnost, proteazna stabilnost, deterdženti
- Rastvorljivost
 - dirigovana imobilizacija, organski rastvarači, modifikacija površine



Symbiosis

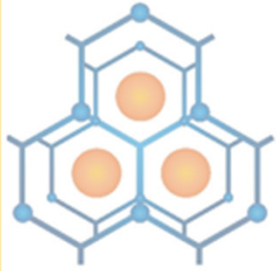
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Proteinski inženjering

- Generisanje novih molekula proteina sa novim funkcijama mutiranjem postojećih proteinskih sekvenci ili *de novo* sintezom proteina
- Razumevanje fundamentalne veze strukture i aktivnosti, „svetog grala“ Biohemije (jedan od 125 najvećih naučnih problema – *Science*)
- *Nobelova nagrada za Hemiju za 2018. godinu za Dirigovanu Evoluciju Proteina (Francis Arnold)*





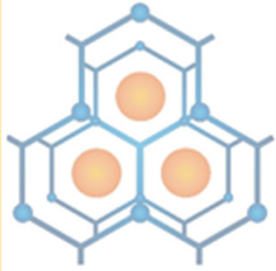
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Osnovne karakteristike živih sistema

- Replikacija (Održavanje informacije)
- Mutacija (Evolucija)
- Metabolizam (Razmena materije i energije)



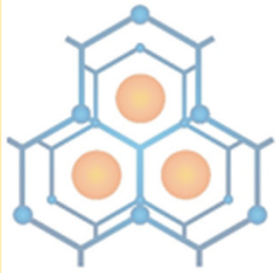
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Stupnjevi abiogeneze

- 1 Nastanak bioloških monomera
- 2 Nastanak bioloških polimera
- 3 Evolucija molekula i udruživanje u ćelije



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

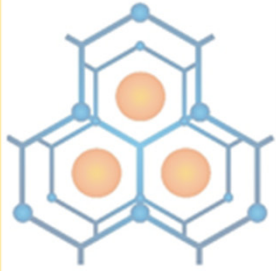


Uslovi na zemlji pre 5 milijardi godina

- Atmosfera bez kiseonika
- CO_2 , H_2O , CO , H_2 , N_2
- NH_3 , H_2S , CH_4
- Energija (sunce, termalna, električna)



Slika 1. Umetnički prikaz površine zemlje pre 5 milijardi godina



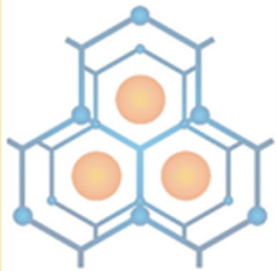
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

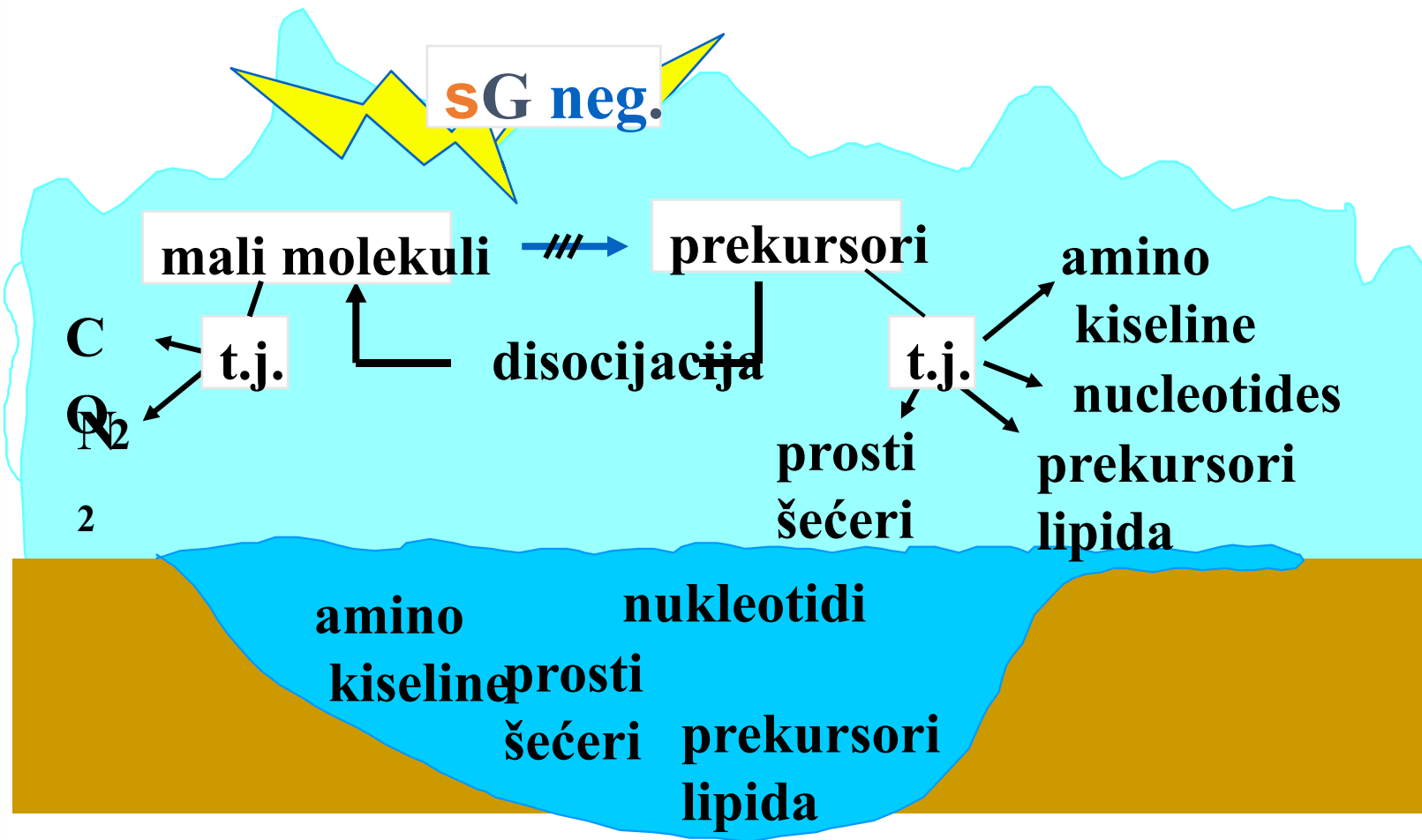


Uslovi za nastanak života

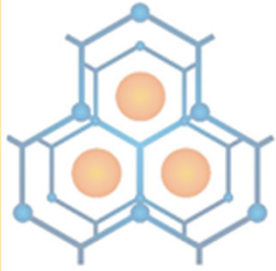
- Redukujuća atmosfera + Munje (metan, vodonik, amonijak, voda)
- Hidrotermalni izvori na dnu okeana (vodonik sulfid+ ugljen dioksid + toplota)
- Primitivni kristali minerala (gline) su mogli da katalizuju nastanak polimera od monomera
- Teorija o vanzemaljskom poreklu života (međuzvezdana prašina, komete)



Hemijska evolucija

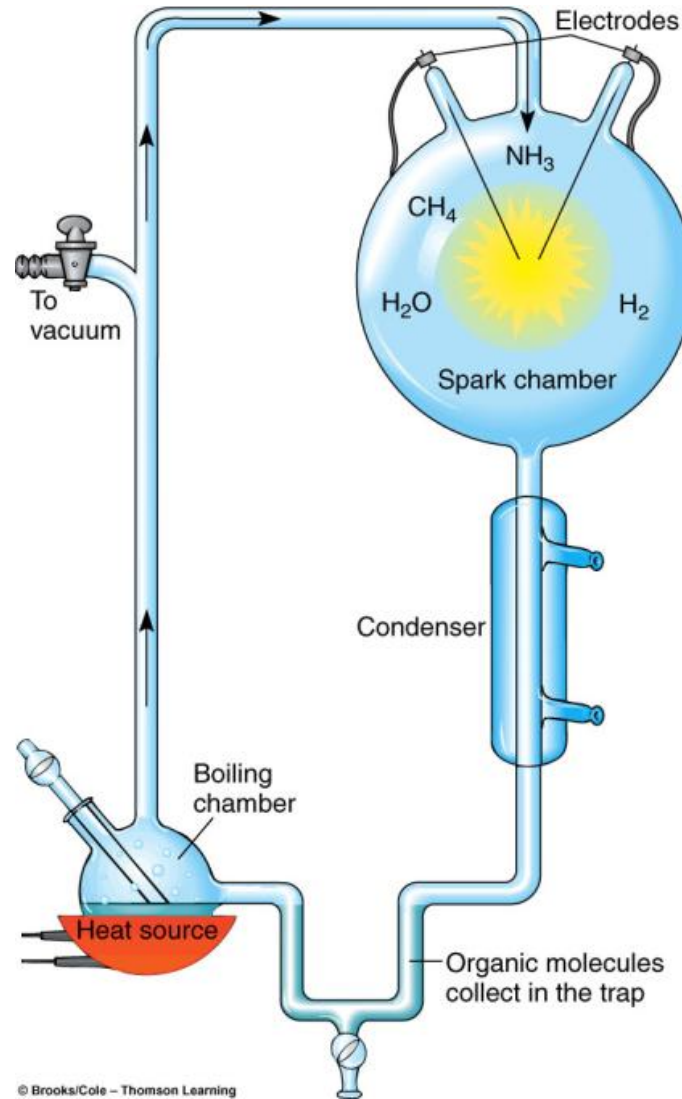


Slika 2. Grafički prikaz nastanka osnovnih gradivnih blokova biomakromolekula



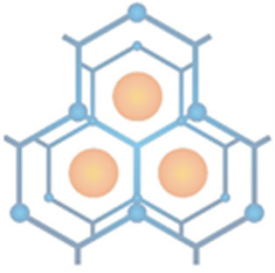
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



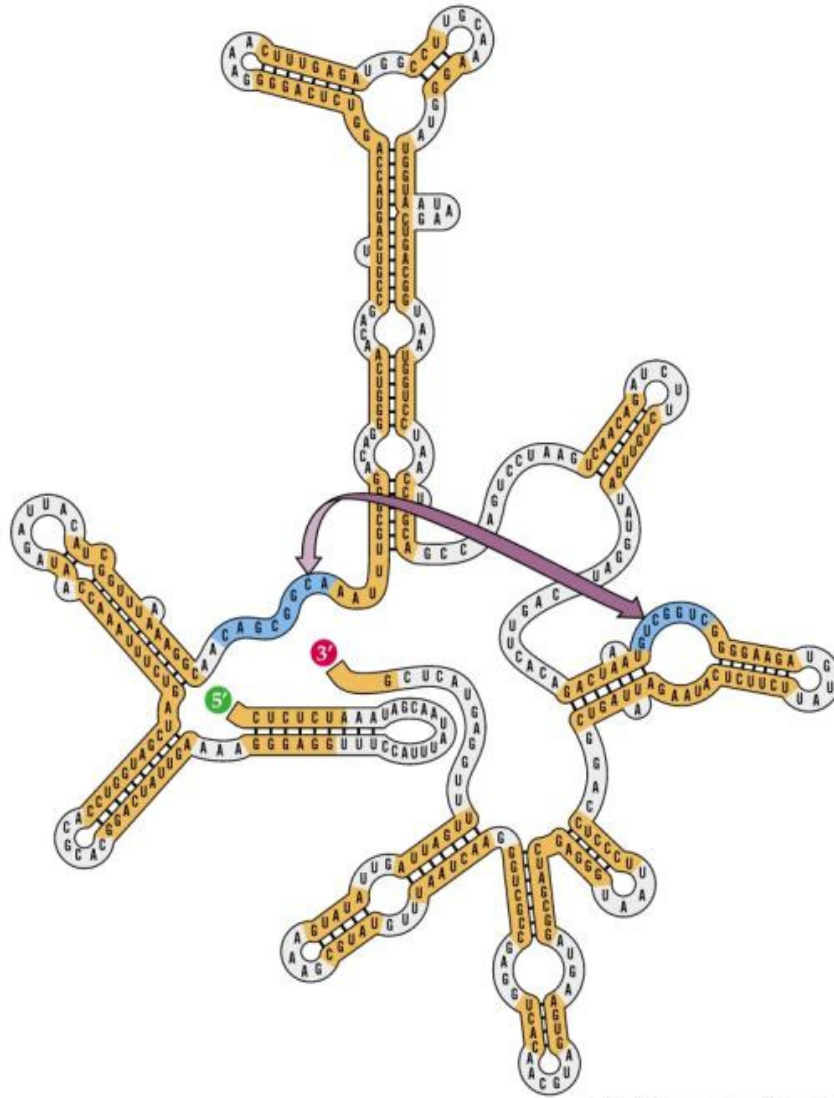
Miller-Urey
eksperiment

Slika 3. Miller-Urey eksperiment



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



RNK molekuli mogu da zauzmu složenu 3D strukturu i da prenose informacije

Slika 4. 2D prikaz RNK sekundarne structure RNK

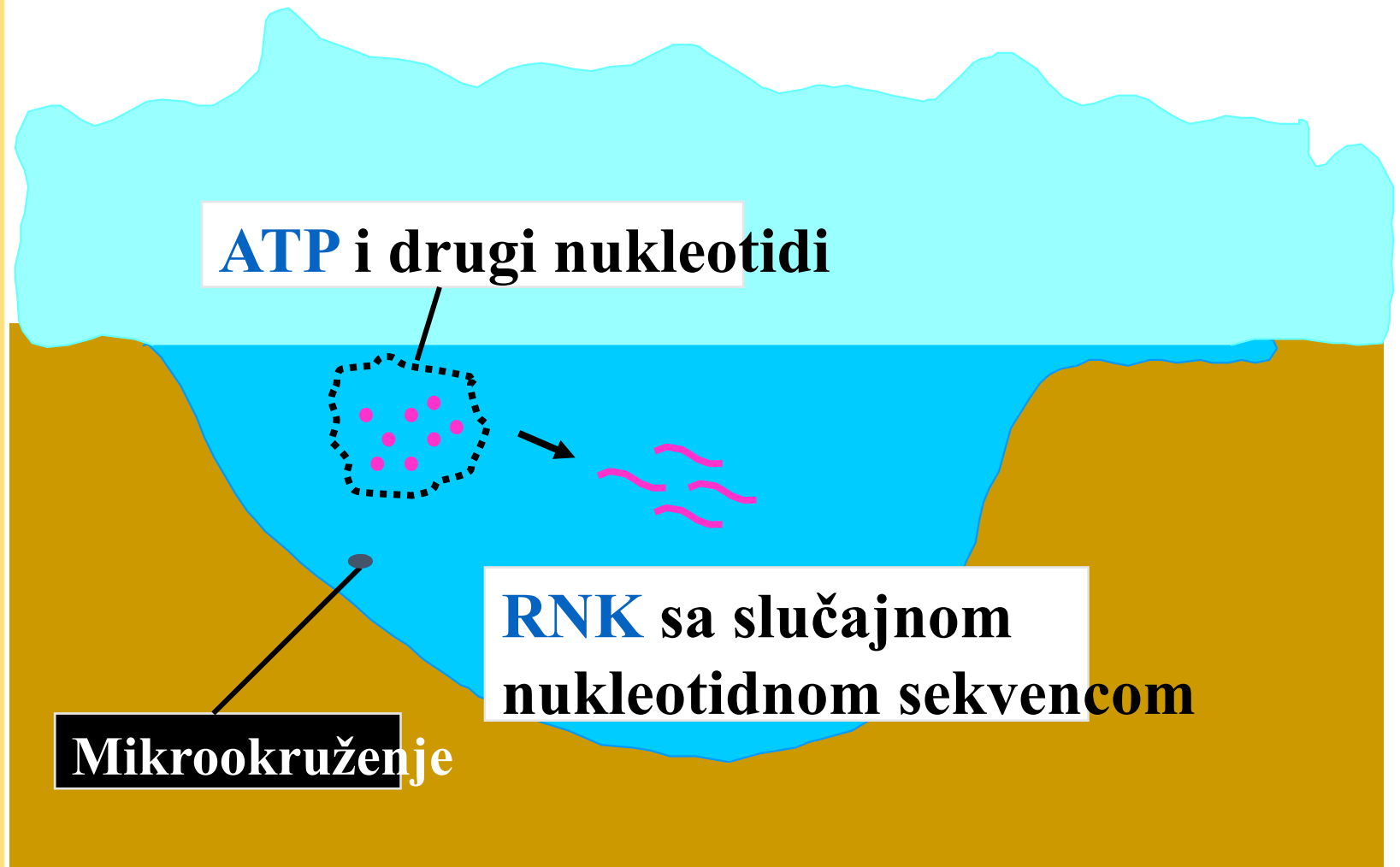


Symbiosis

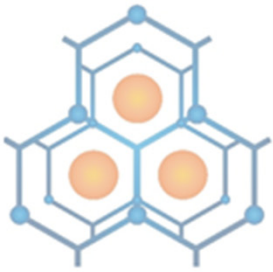
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Kritičan momenat: nastanak RNK oblika



Slika 5. Grafički prikaz nastanka RNK oligomera

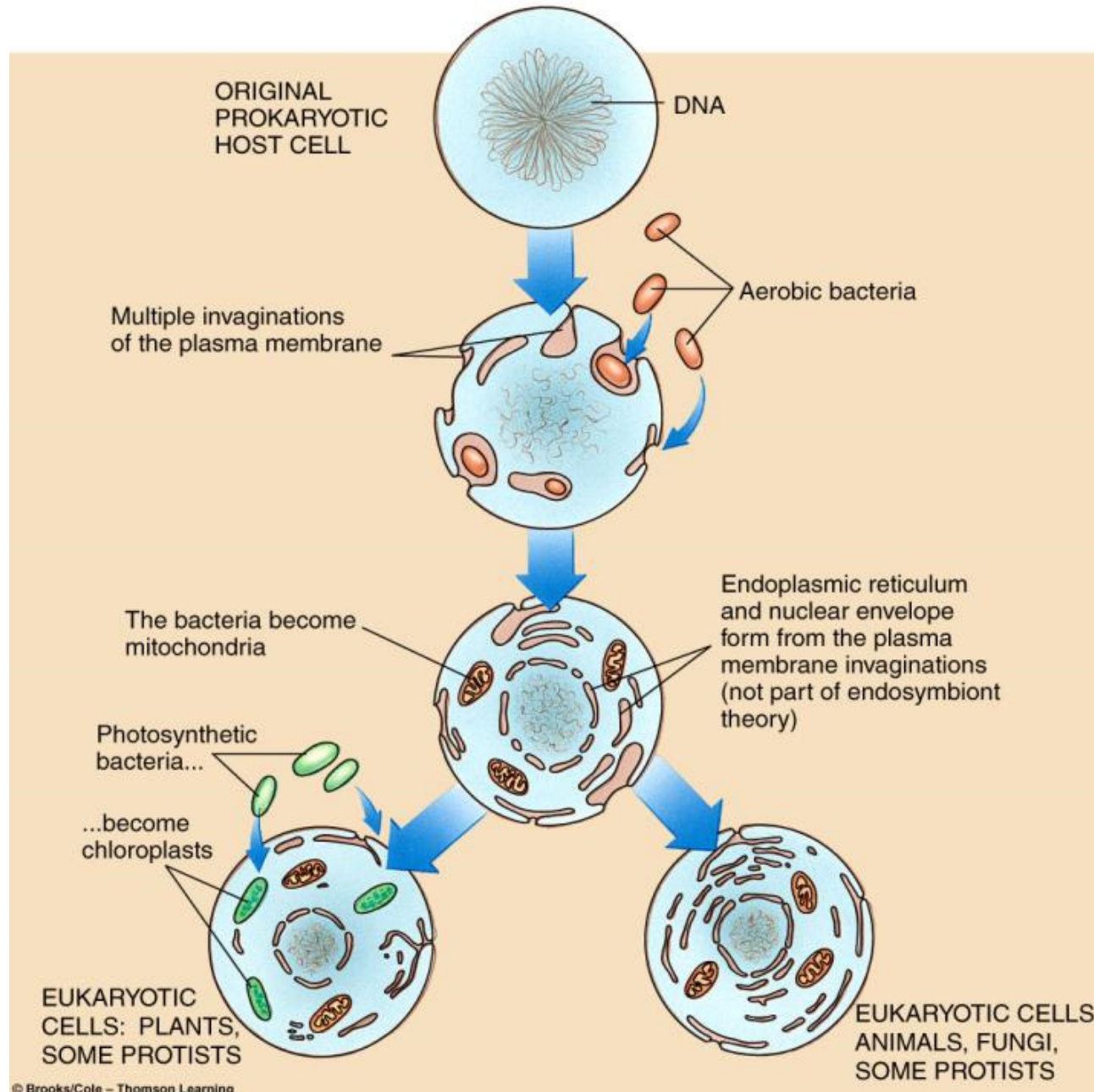


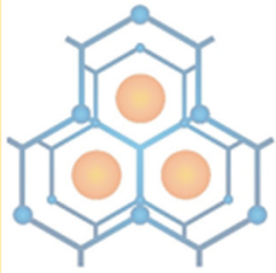
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



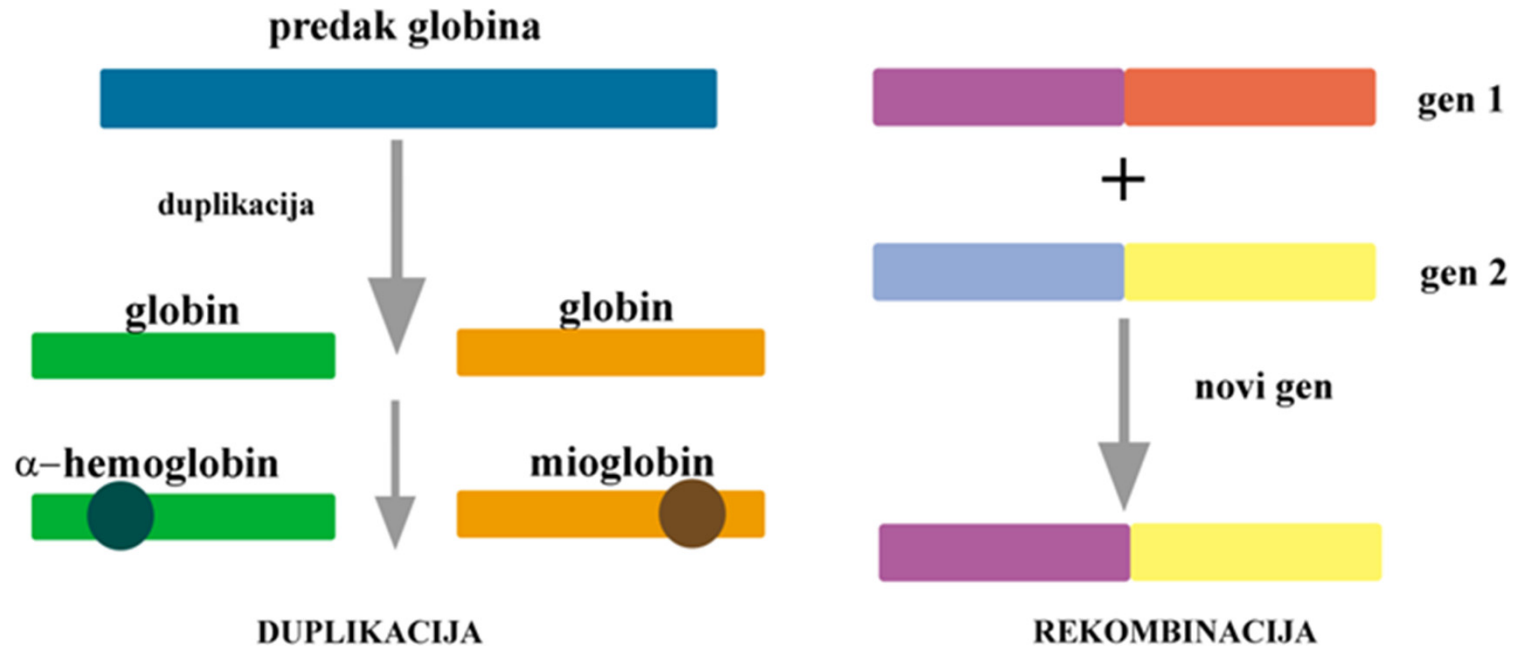
Endosimbiotska teorija (Lynn Margulis, 1970)



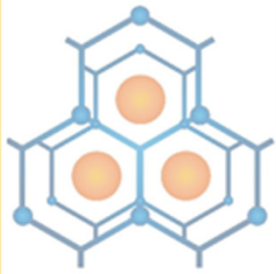


Duplikacija gena i rekombinacija

Novi geni se javljaju pri duplikaciji gena i rekombinaciji



Slika 6. Grafički prikaz nastanka novih gena/proteina



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Adenozin 5'-fosfat kinaza (1d6j)

```
25 GLTIWLTGLSASGKSTLAVELEHQVLRDRR 54  
+ + + + + + + + + + + + (12)  
GEIVALVGPSGSGKSTLLRALAGLLKPTSG
```



Histidin permeaza (1b0u)

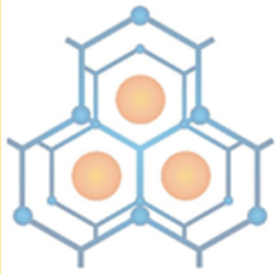
```
92 RTRLTMVFQHFNLWSHMTVLENVMEAP 118  
+ + + + + + + + + + + + (13)  
RRGIGMVFQNYALFPHLTVLENVALGL
```



Flavocitohrom c fumarat reduktaza (1d4c)

```
127 DVVIIGSGGAGLAAAVSARDAGAKVILLE 155  
++ + + + + + + + + + + + + (16)  
DVIVGAGPAGLAAALVLARAGAKVLVIE
```

Slika 7. Polipeptidi dužine 30 aminokiselinskih ostataka kao osnovne jedinice strukture.

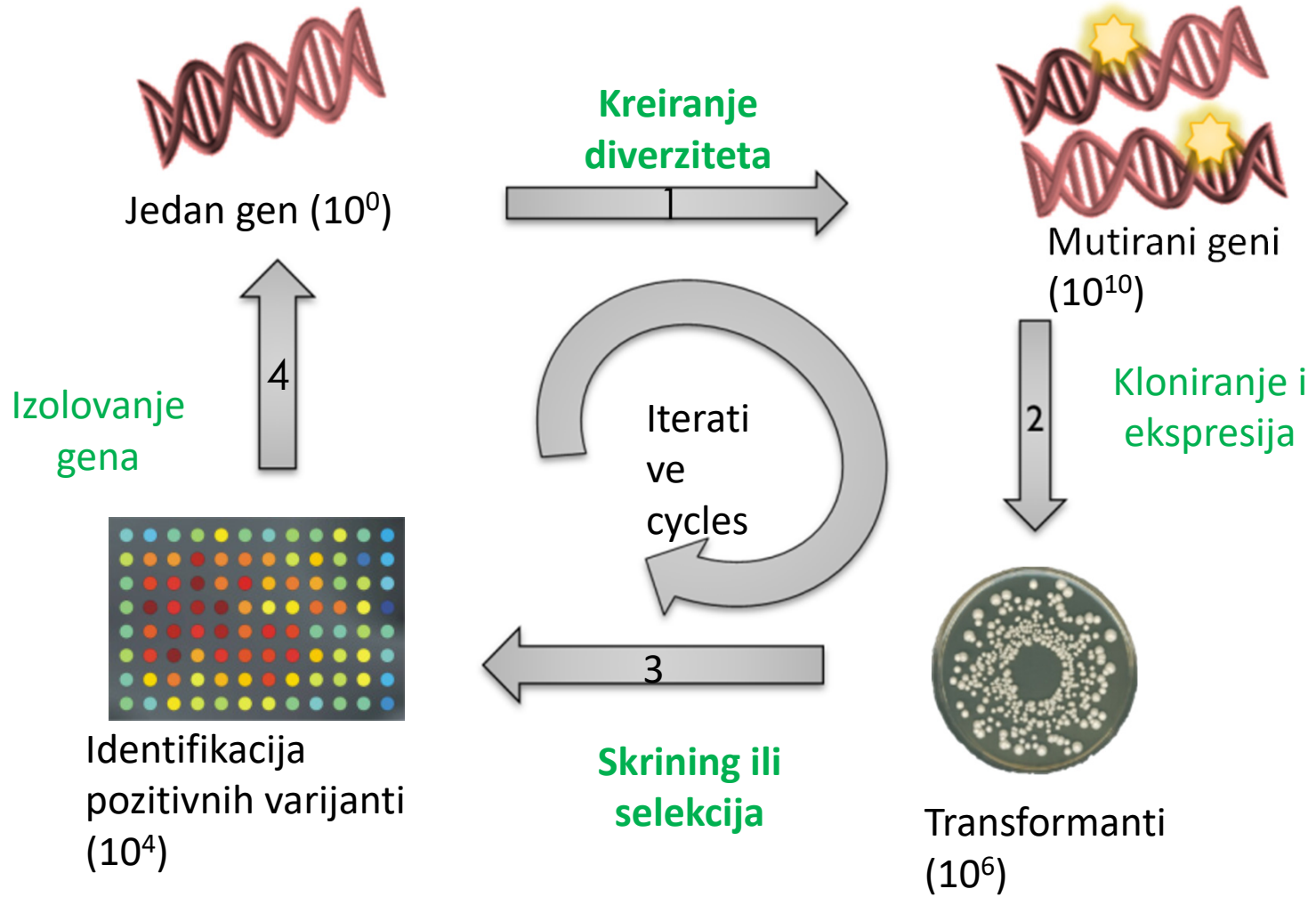


Symbiosis

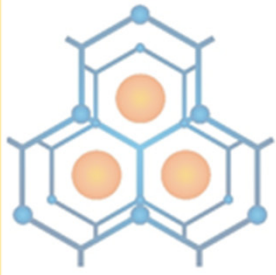
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Dirigovana evolucija enzima



Slika 8. Shematski prikaz koraka kod dirigovane evolucije proteina.



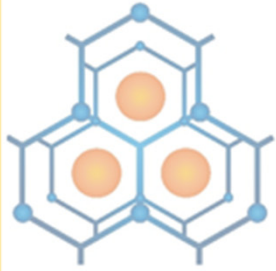
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Metode pravljenja biblioteke gena

- Slučajna mutageneza
- Mesto usmerena mutagenaza
- Saturaciona mutageneza
- Rekombinacija



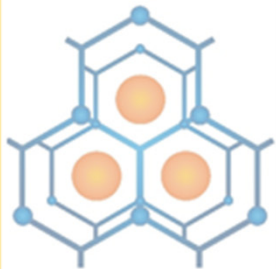
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Slučajna mutageneza

- Substitucije, delecije, insercije
- UV svetlost, X zraci, hemijska mutageneza
- Mutator sojevi kao domaćini za umnožavanje gena: E.coli XL1-Red (MutS, MutD, MutT – 5000 puta veća mutabilnost)
- Error prone PCR
 - Različiti odnosi nukleotida
 - Neprirodni nukleotidni analozi
 - Mutanti DNK polimeraze



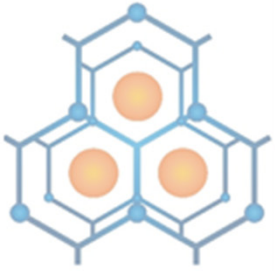
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Hemijski mutageni

Hemijski agens	Vrsta DNK promene	Vrsta mutacije
ICR-170	Interkalacija	Promena okvira čitanja
MMC, DEO	Umrežavanje lanaca DNK	Delecije
4-NQO, DEB	Formiranje adukata DNK	Supstitucije baza
MNNG, EMS, MNU	Alkilacija	Supstitucije baza
NA, HA	Modifikacija baza	Supstitucije baza
2AP	Analog baza	Supstitucije baza
MMS MA BS	Alkilovanje, kidanje lanca Tranzicije Modifikacija citozina	Različiti tipovi promena, G/C u A/T

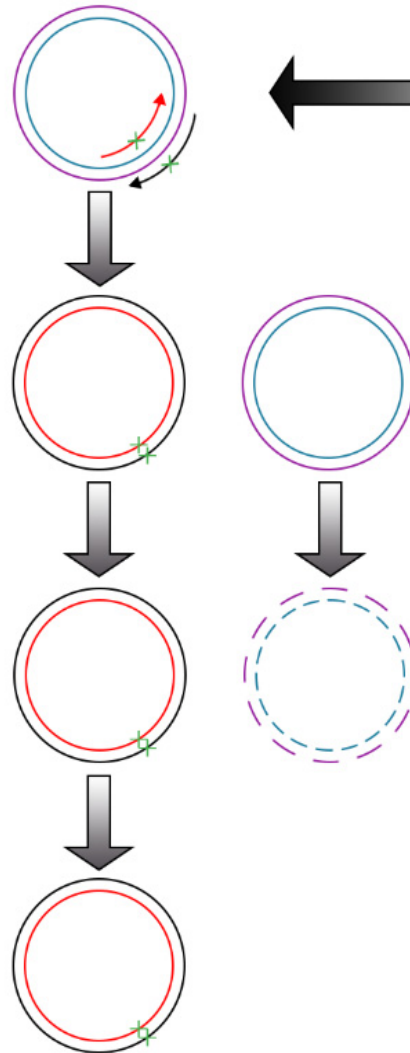


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Quick change site directed mutagenesis kit



Sinteza mutiranih lanaca

Termički ciklus se izvodi da bi se

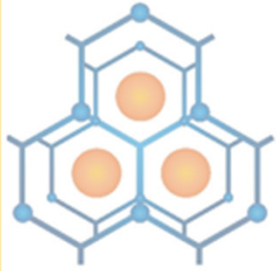
- 1) denaturisao DNK templat
- 2) spojili mutageni prajmeri koji sadrže odgovarajuće mutacije
- 3) produžili prajmeri sa *PfuUltra* DNK polimerazom

Dpn I Digestija templata

Digestovanje parentalnog metilovanog i hemimetilovanog DNK sa *Dpn* I.

Transformacija

Transformacija kompetentnih ćelija mutiranim DNK molekulima pri čemu dolazi do popravke DNK lanca.

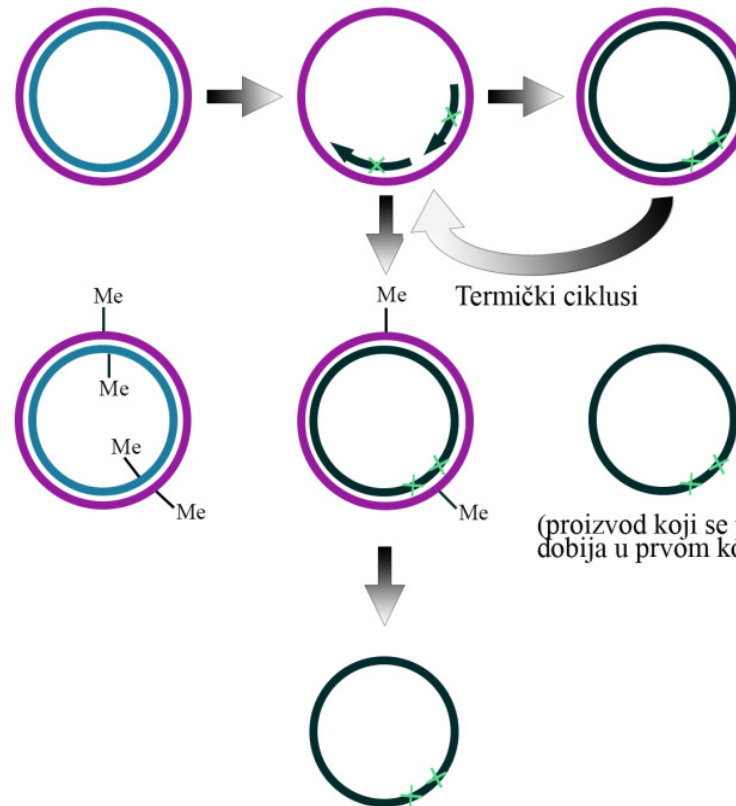


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



QuikChange Lighting metoda za uvođenje višestrukih mutacija



1. Brža sinteza mutiranih lanaca

Termičkim ciklusima se:

- * denaturiše DNK templat
- * spajaju mutageni prajmeri
- * produžuju prajmeri i spajaju prekidi sa enzimskom smešom baziranoj na *Pfu* fusiji

Ukupno vreme reakcije: 2 sata.

2. Brža *Dpn* I digestija templata

Digestovanje metilovanog i hemimetilovanog DNK sa NOVIM *Dpn* I enzimom

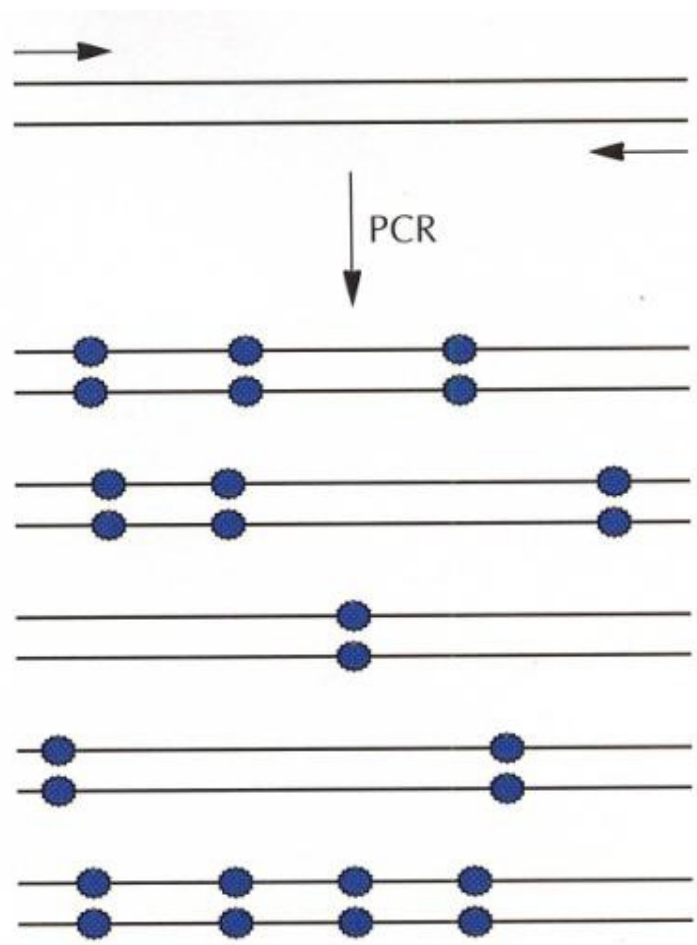
Ukupno vreme reakcije: 5 minuta.

3. Transformacija

Transformacija mutirane ssDNK u XL10 Gold ultrakompetentne ćelije

Ukupno vreme reakcije: 1,5 sati.

Generisanje diverziteta: epPCR



Wild-type sequences

Amino acid	N-Phe	Arg	Trp	Ile	Ala	Asn-C
mRNA	5'-UUU	CGA	UGG	AUA	GCC	AAU-3'
DNA	3'-AAA	GCT	ACC	TAT	CGG	TTA 5'
	5'-TTT	CGA	TGG	ATA	GCC	AAT 3'

Missense

3'-AAT	GCT	ACC	TAT	CGG	TTA-5'
5'-TTA	CGA	TGG	ATA	GCC	AAT-3'
N-Leu	Arg	Trp	Ile	Ala	Asn-C

Nonsense

3'-AAA	GCT	ATC	TAT	CGG	TTA-5'
5'-TTT	CGA	TAG	ATA	GCC	AAT-3'
N-Phe	Arg	Stop			

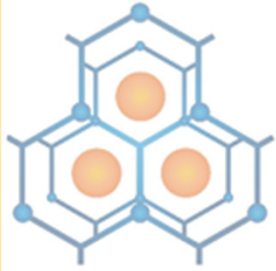
Frameshift by addition

3'-AAA	GCT	ACC	ATA	TCG	GTT A-5'
5'-TTT	CGA	TGG	TAT	AGC	CAAT-3'
N-Phe	Arg	Trp	Tyr	Ser	Gln

Frameshift by deletion

	GCTA				
	CGAT				
3'-AAA	↓ CCT	ATC	GGT	TA-5'	
5'-TTT	GGA	TAG	CCA	AT-3'	
N-Phe	Gly	Stop			

Slika 9. Shematski prikaz mutacija tokom epPCR.

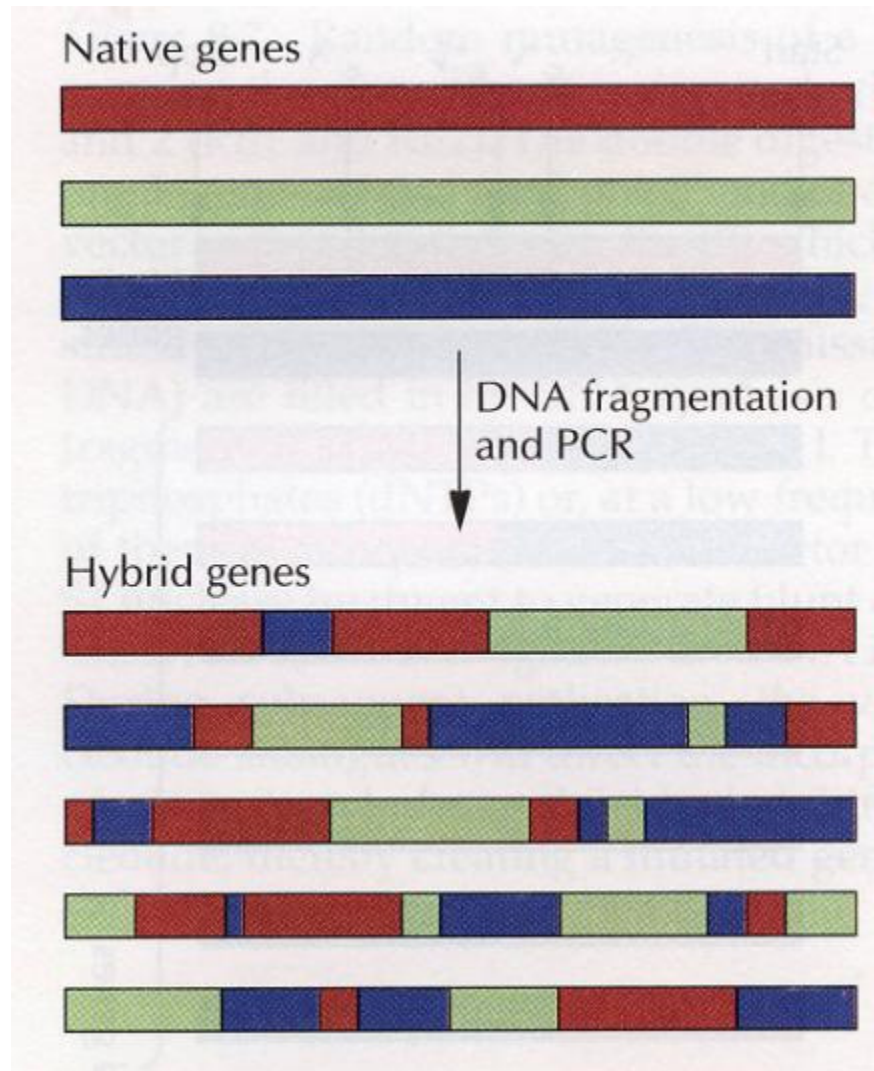


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



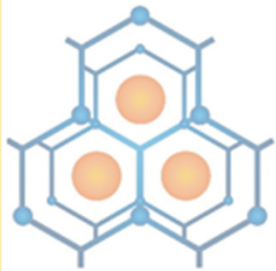
Generisanje diverziteta: rekombinacija



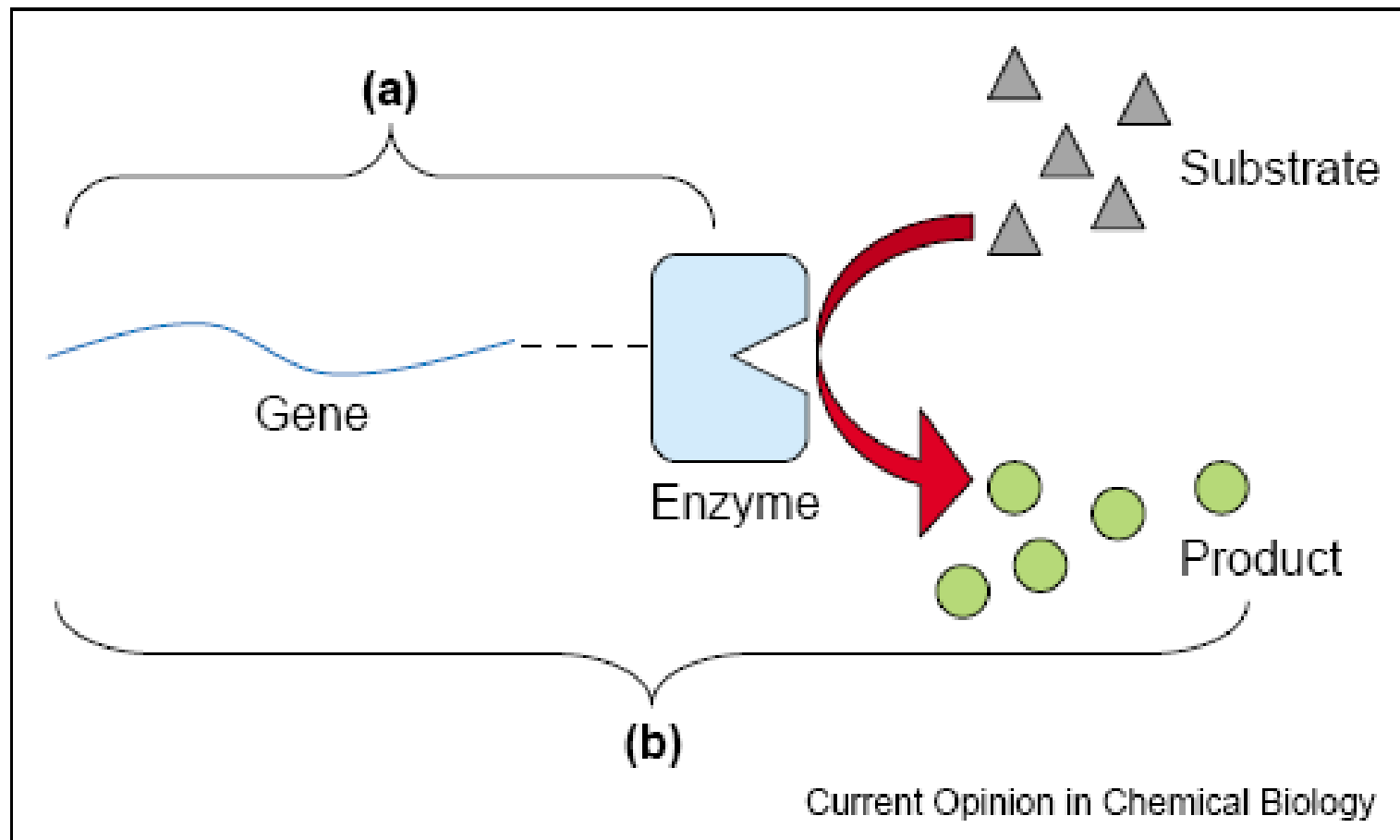
Geni poreklom iz iste familije-> veoma slični

-> Family shuffling

Slika 10. Shematski prikaz rekombinacije homolognih gena.



Fizička veza između genotipa i fenotipa



Slika 11. Shematski prikaz genotip-fenotip veze.

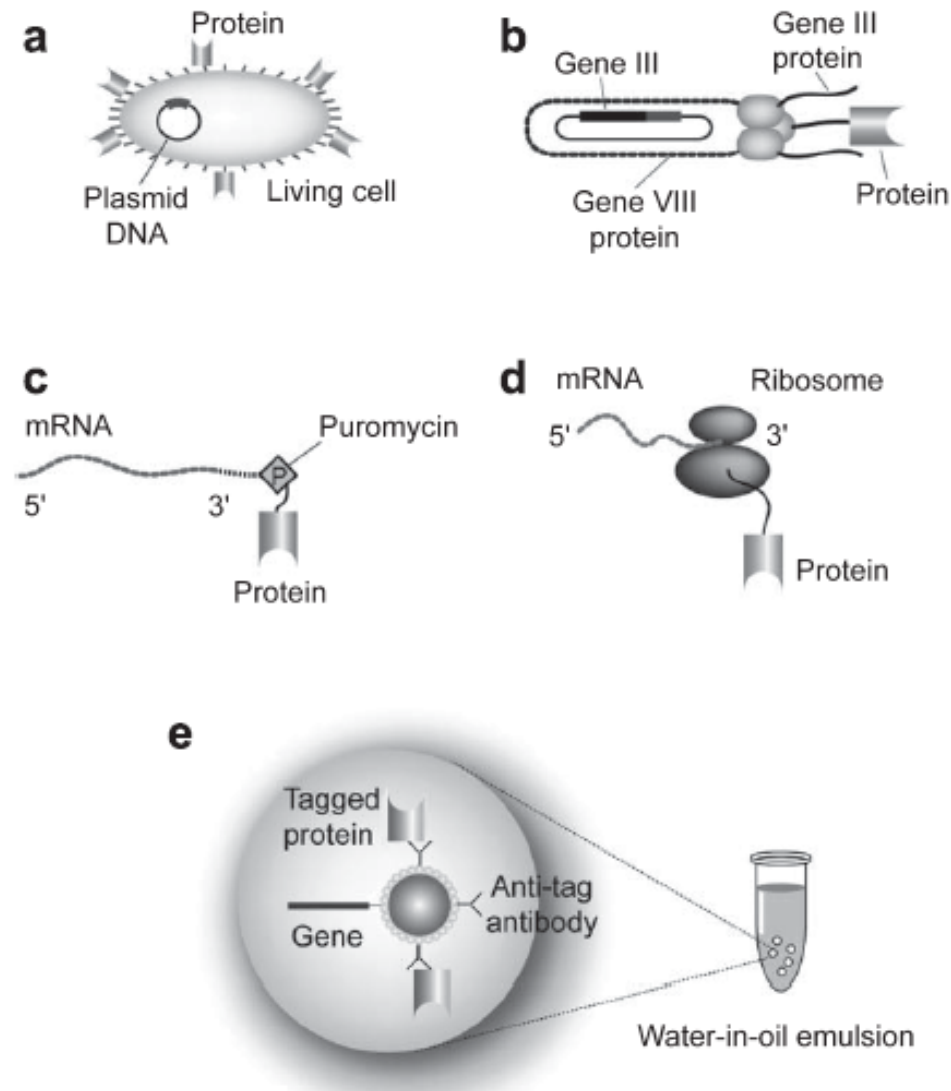


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



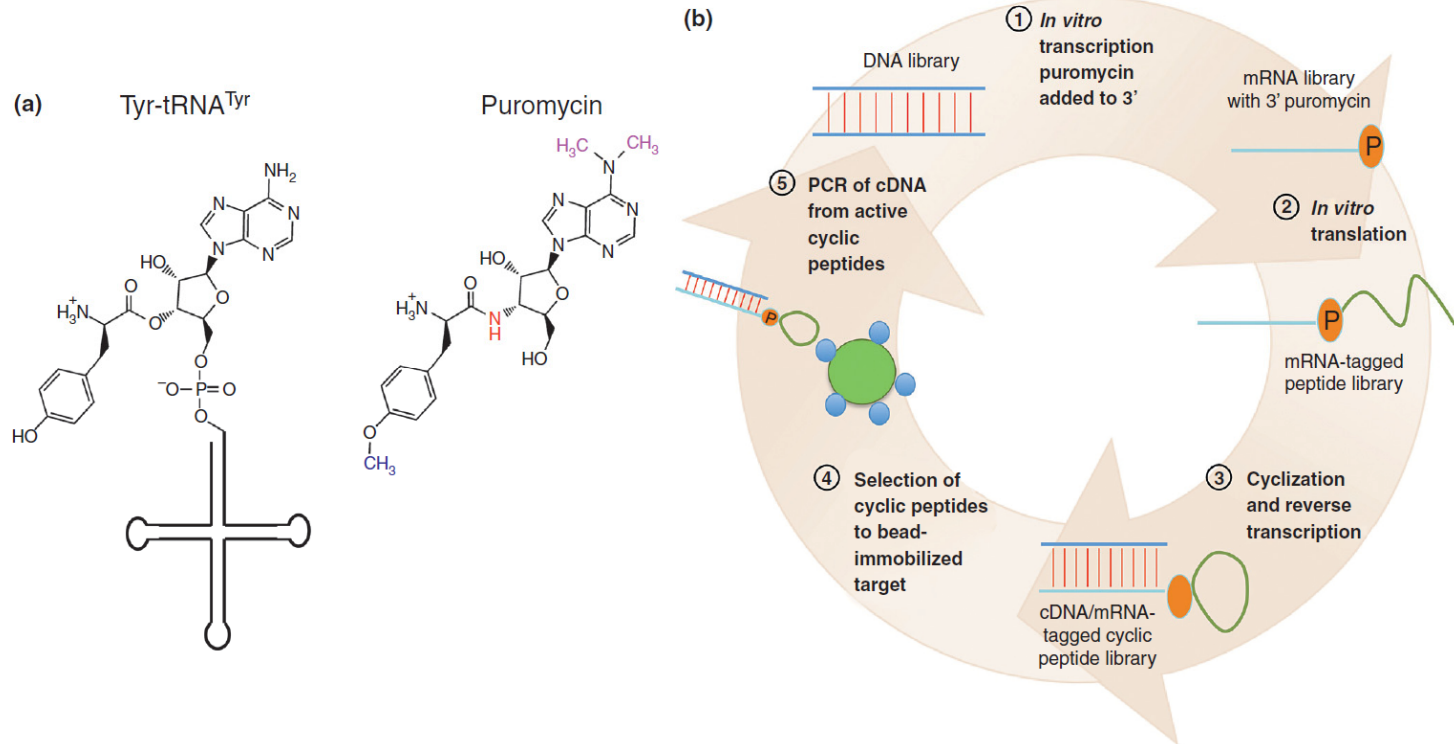
Fizička veza između genotipa i fenotipa



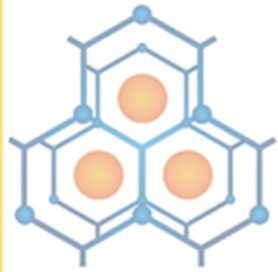
Slika 12. Shematski prikaz ekspresije proteina na površini.



mRNA display

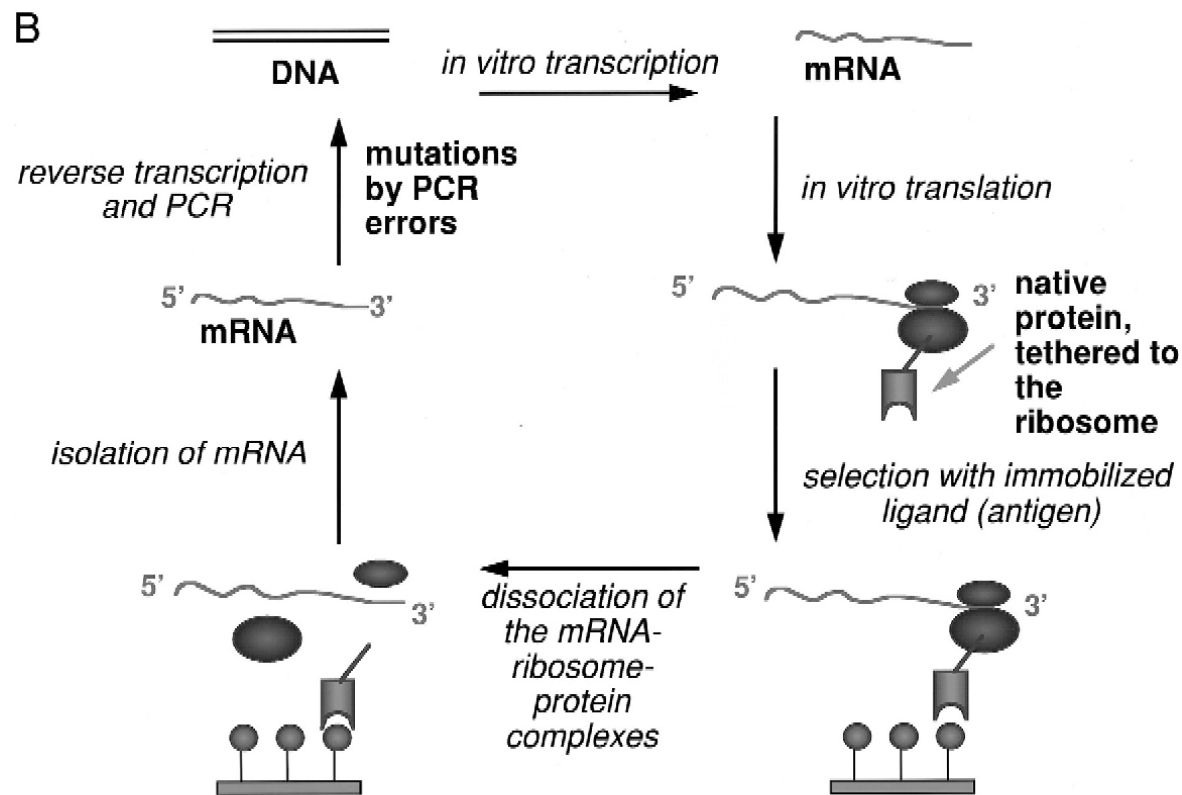


Slika 13. Shematski prikaz ekspresije proteina na površini mRNK.

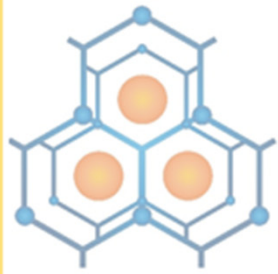


Ribosome Display

- mRNK nema stop kodon posle linkera i nastaje ternarni kompleks mRNK, ribozomi, protein/peptid

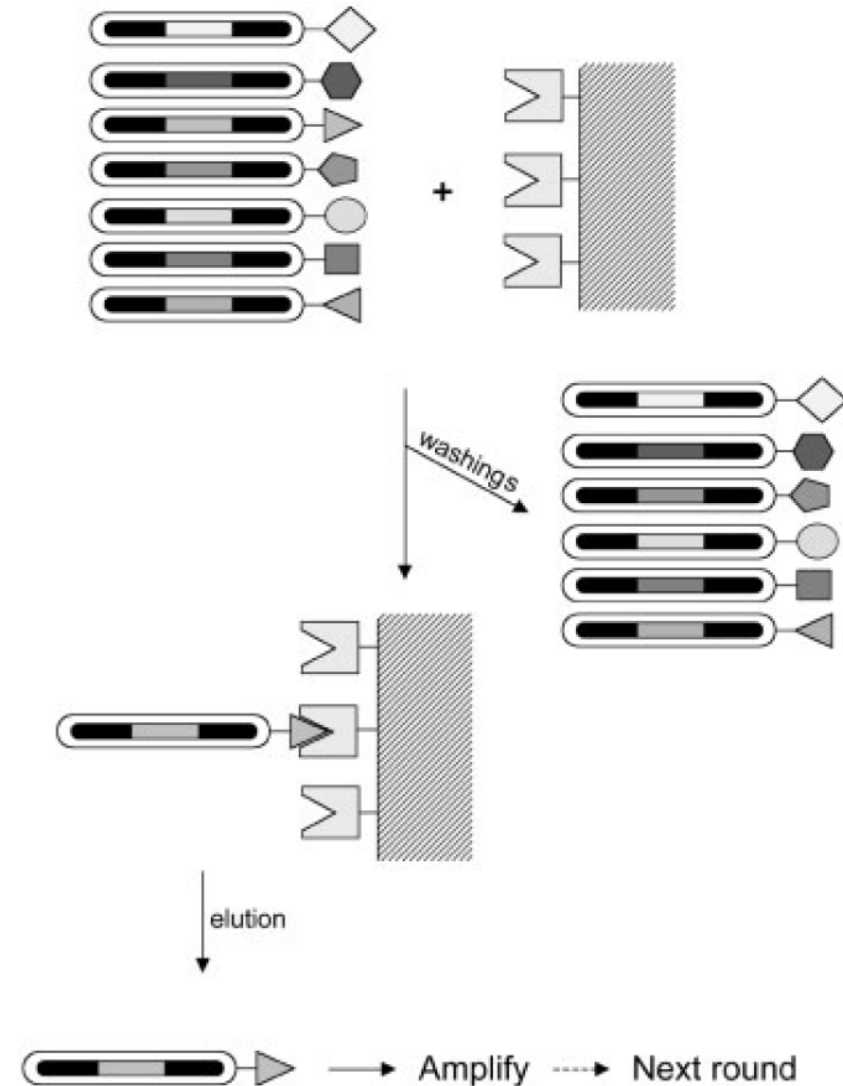


Slika 14. Shematski prikaz ekspresije proteina na površini ribozoma.

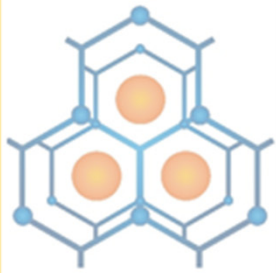


Phage display

- Uvedeno 1985 (George I Smith)
- Ekspresija proteina na površini filamentoznog bakteriofaga
- Uglavnom za afinitetno vezivanje



Slika 15. Shematski prikaz ekspresije proteina na površini bakteriofaga.

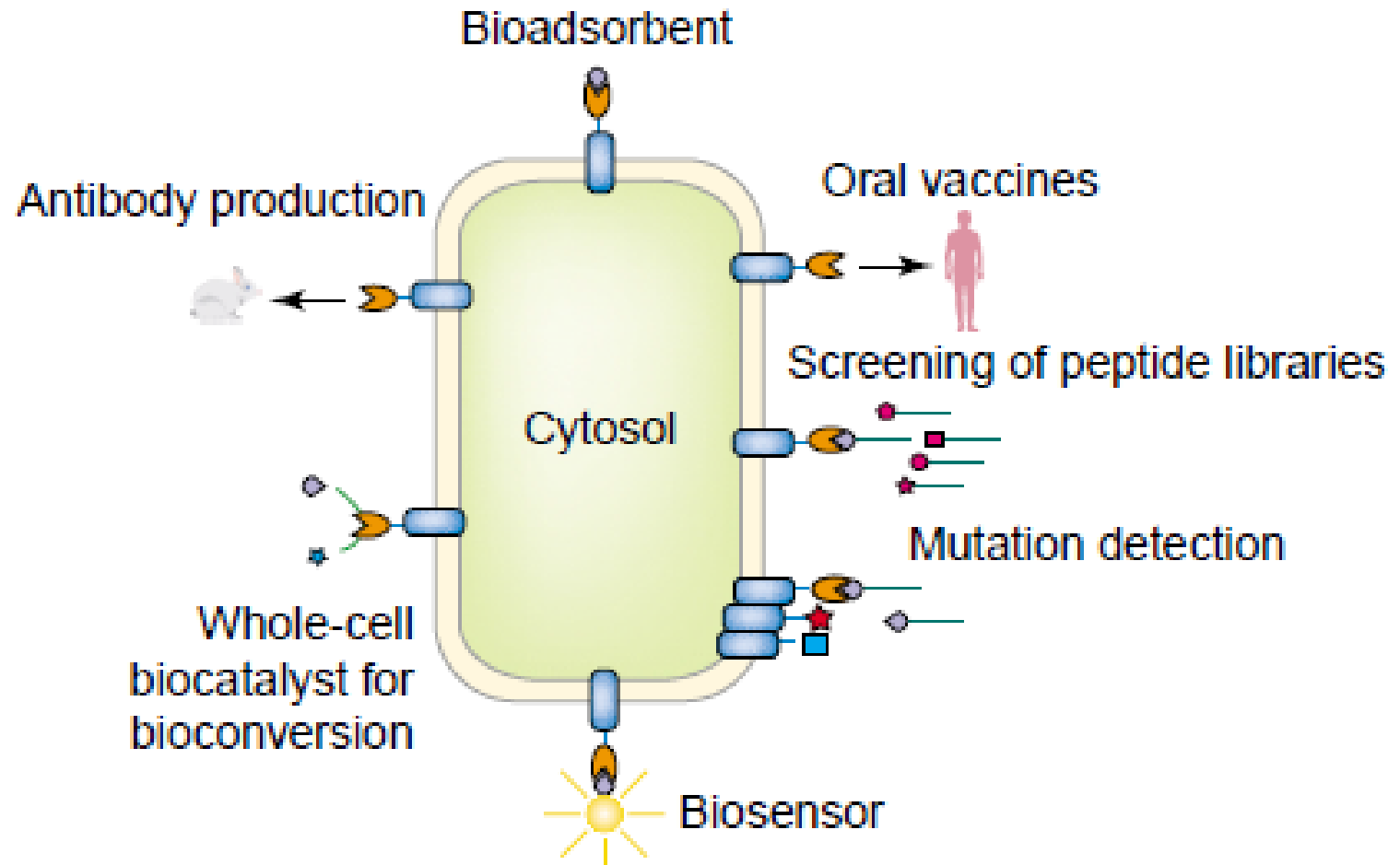


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Cell surface display



Slika 16. Shematski prikaz ekspresije proteina na površini ćelije.

Skrining sistem (assay)

- Esej mora biti specifičan
- Pozadinska aktivnost minimalna (slepa proba)
- Supstrati stabilni u uslovima merenja
- Ni supstrat ni proizvod ne smeju da podležu bočnim metaboličkim reakcijama
- Signal mora da bude koncentraciono zavistan (enzim, proizvod)
- Esej mora biti brz

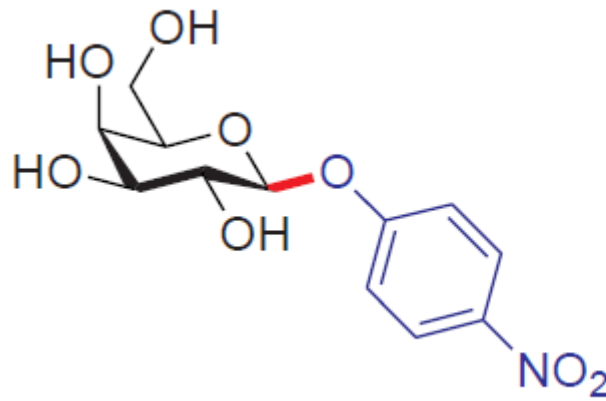


Skrining sistem (assay)

- Agar plejt esej
- Spektrofotometrijski esej u kiveti
- Esej u mikrotitar pločicama
- High-throughput screening system

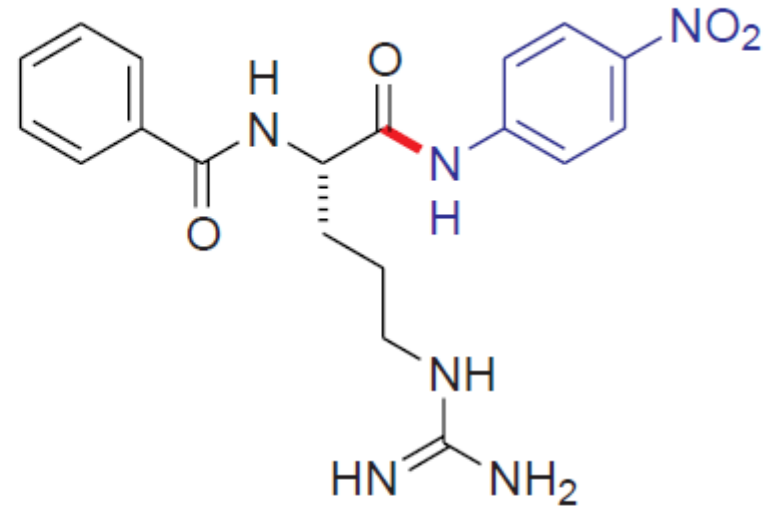


Enzimski supstrati



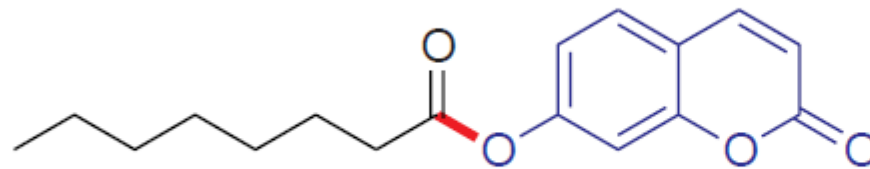
1

β -glucosidase



2

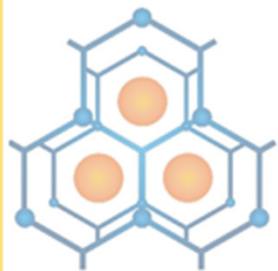
Trypsin



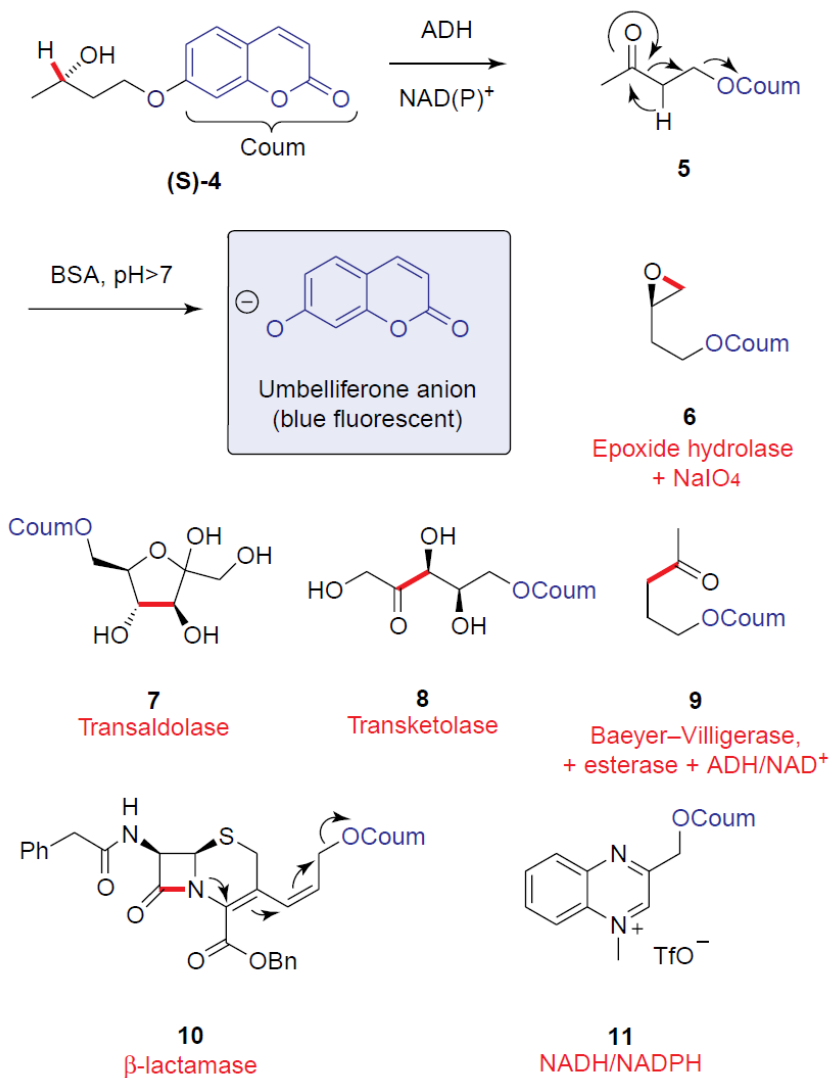
3

Lipases

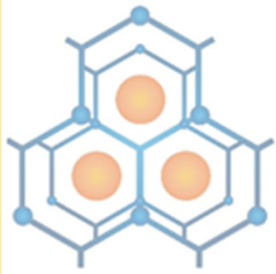
Slika 17. Hemijske strukture izabranih enzimskih supstrata.



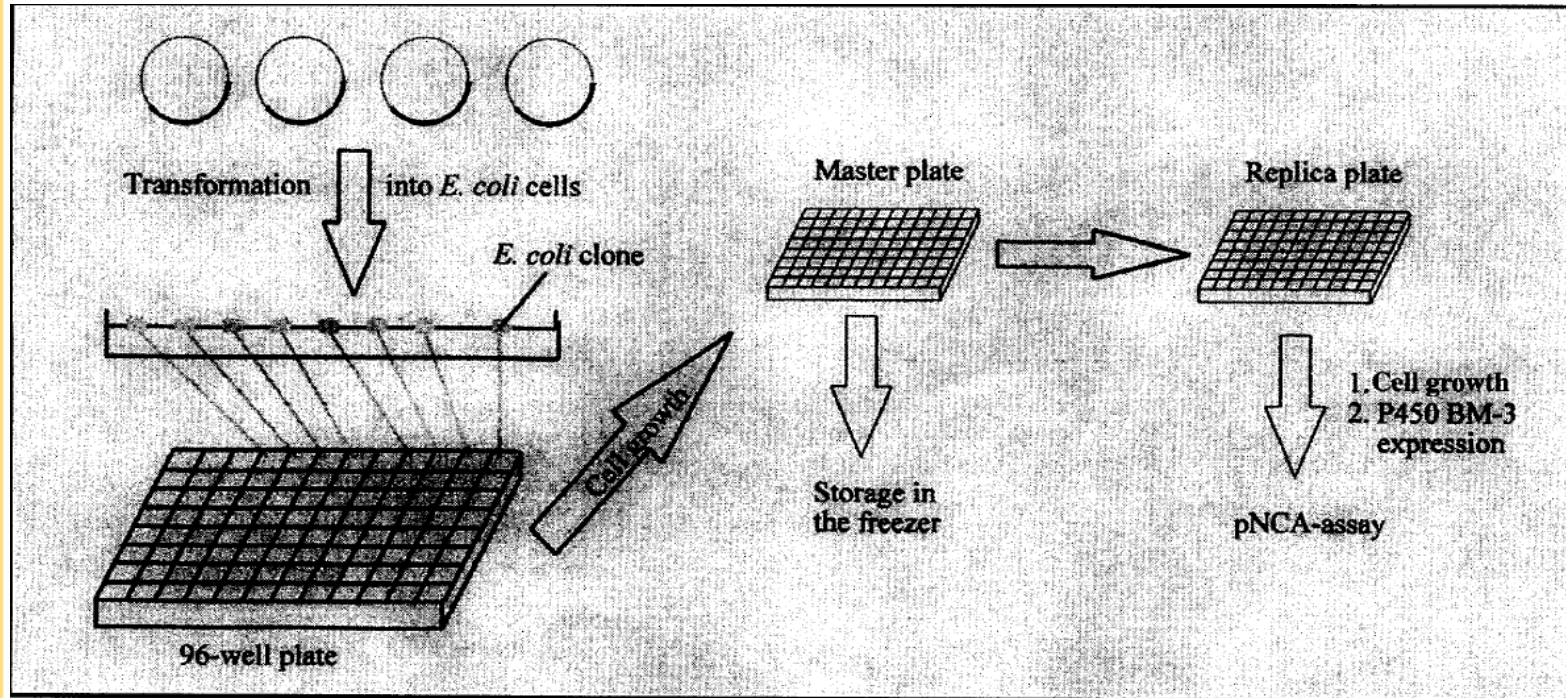
Enzimski supstrati



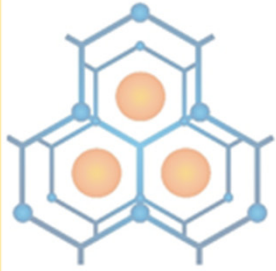
Slika 18. Hemijske strukture izabranih enzimskih supstrata.



Očuvanje fizičke veze genotip feotip u mikrotitar pločama i merenje aktivnosti biblioteke

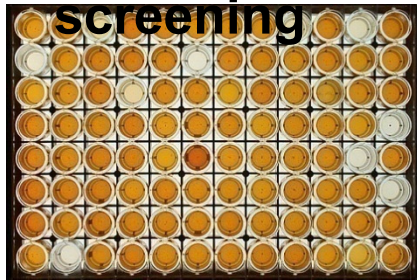


Slika 19. Shematski prikaz postupka skrininga u mikrotitar pločama.



Skrining sistemi

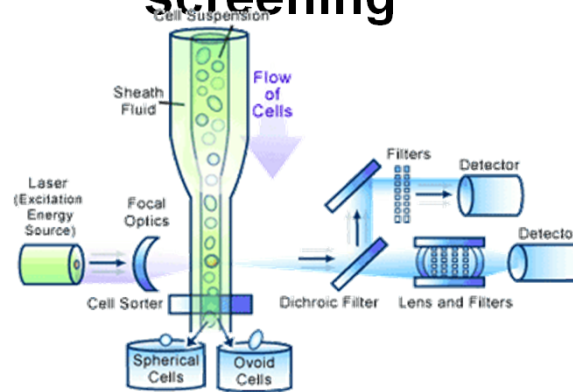
Microtiter plate screening



$10^3 - 10^5$

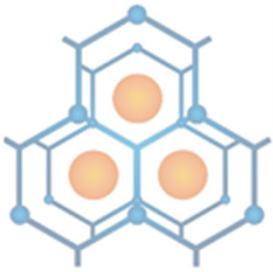
- Medium throughput
- High expenses
- Laborious

Flow cytometry screening



$> 10^7$

- Ultra high throughput
- Low operating costs
- Detection mode – limited to fluorescence
- Connection between gene and product

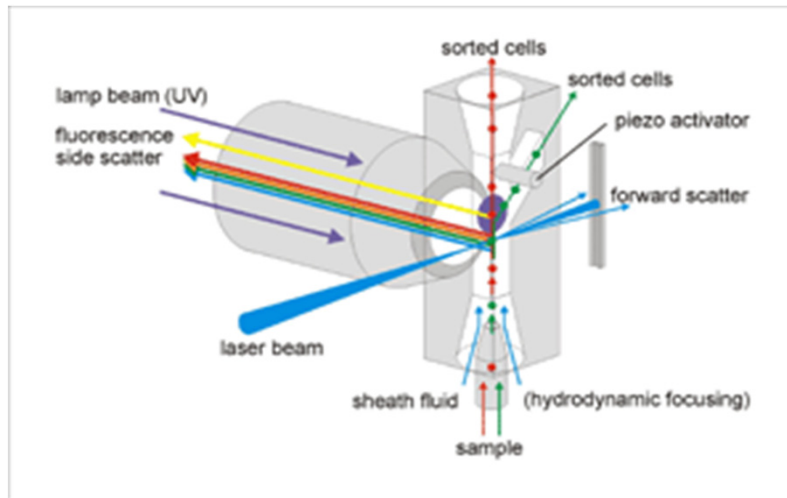


Symbiosis

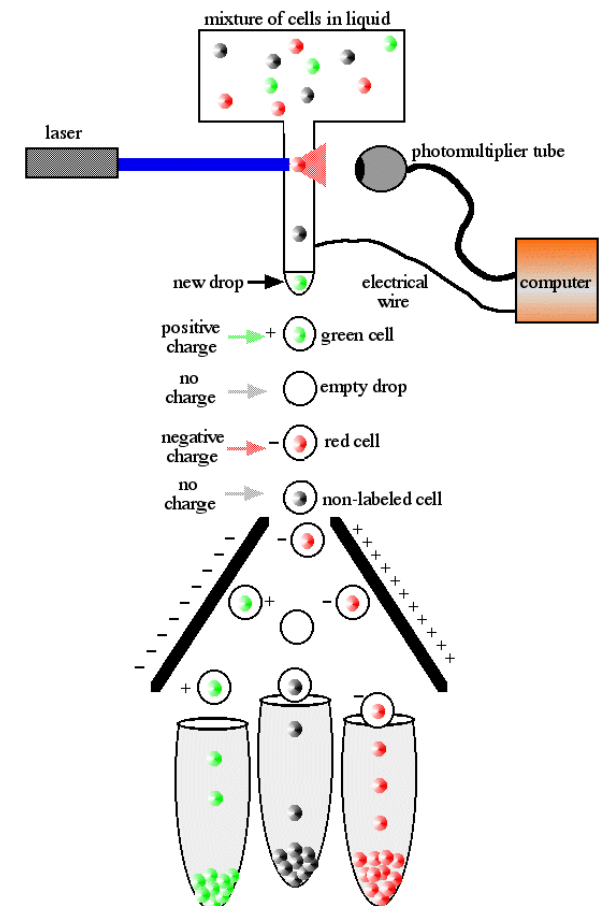
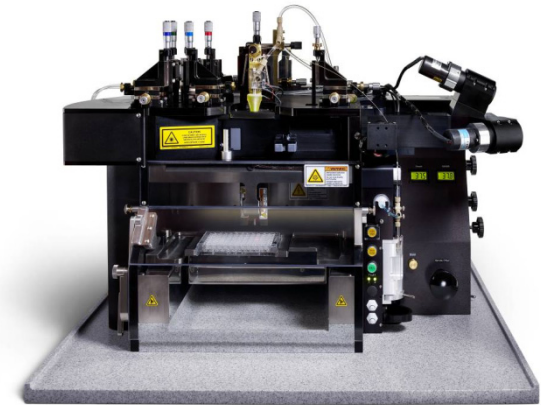
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



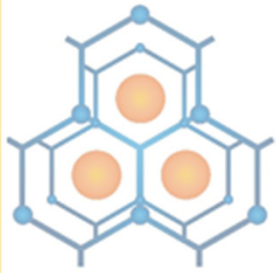
Fluorescence Activated Cell Sorter



Mechanical sorter



Electrical sorter

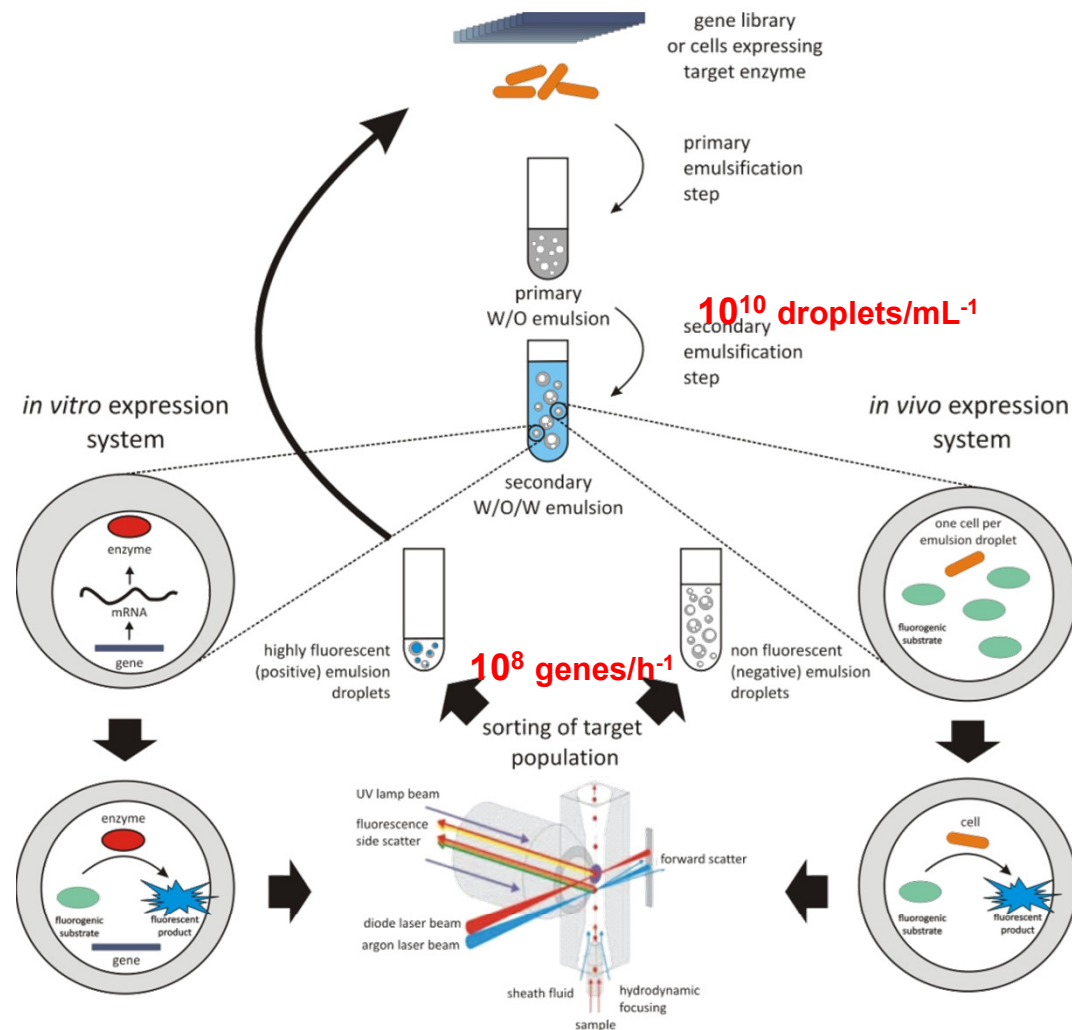


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

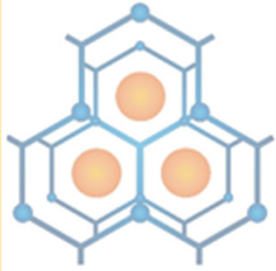


In vitro kompartmentalizacija



Scheme of flow cuvette taken from Partec FlowSpace cell cytometer from Partec, Munster, Germany

Slika 20. Shematski prikaz *in vitro* kompartmentalizacije i skrininga.



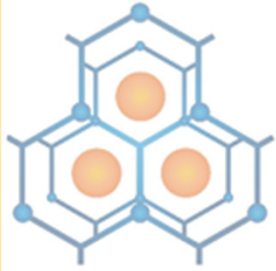
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



HTS sistemi zasnovani na FACS-u

- Genotip-Fenotip veza
 1. Intracelularna ekspresija
 2. Surface display
 3. *In vitro* translacija u emulzijama
- Fluorescentni eseji
 1. Fluorescentni proizvod mora odgovarati **FACS** -u (ekscitacija/emisija)
 2. Fluorescentni proizvod mora odgovarati **dvostrukoj emulziji**
 3. Fluorescentni esej ne sme interferirati sa biohemijskim reakcijama unutar ćelije
 4. Fluorescentni esej treba da odslikava osobine koje tražimo („**You get what you screen for**“)



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Dizajn čipova mikrofluidnih uređaja

2 poklopca

Zaštita

Memorijski čip

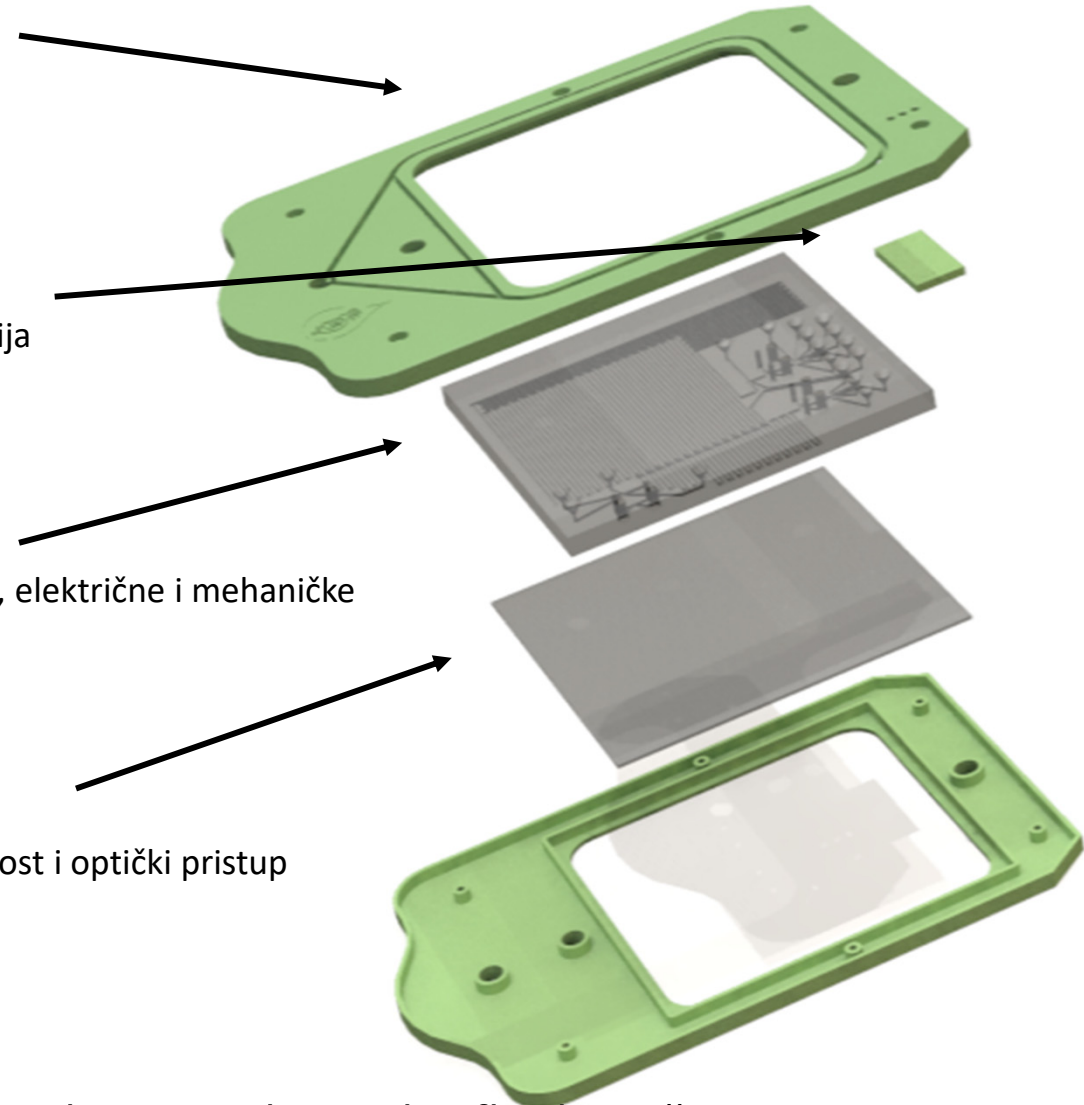
Serijski broj i istorija

PDMS Silikon

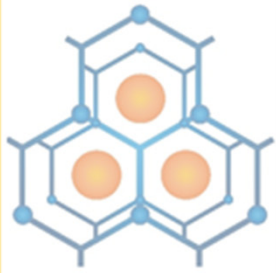
Sadrži mikrokanale, električne i mehaničke kontakte

Staklena ploča

Obezbeđuje rigidnost i optički pristup kanalima



Slika 21. Strukturni prikaz mikrofluidnog čipa.

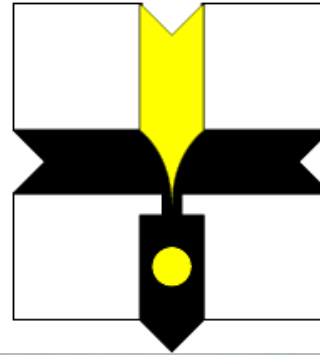


Symbiosis

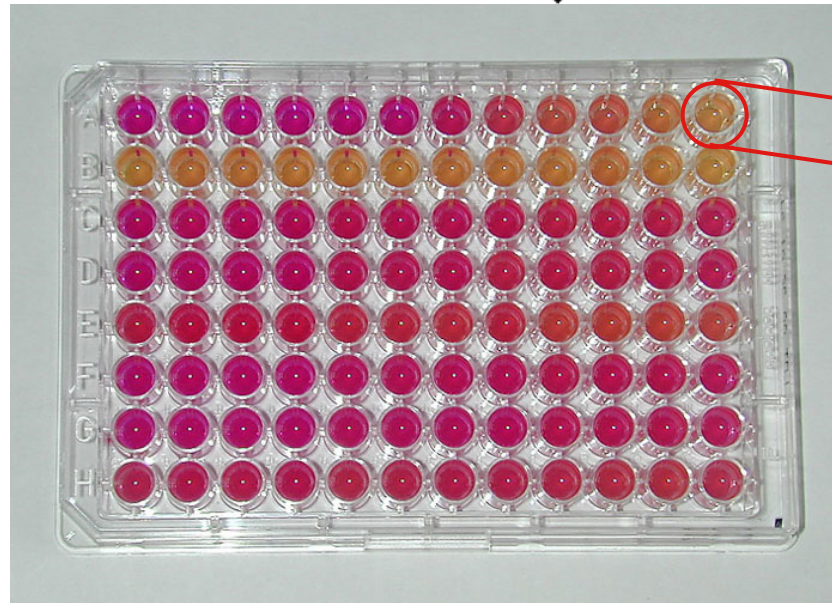
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



EMULZIONI MODUL

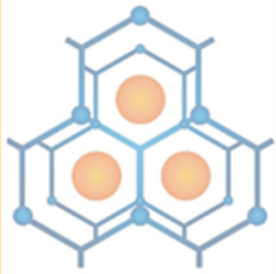


- Manje od 1.5% polidisperziteteta
- Do 20.000 kapljica u sekundi
- 5 to 100 μm dijameter kapljica
- 1 nl to 1 pl zapremene kapljice



Svaka kapljica odgovara bunariću mikrotitar ploče

Slika 22. Grafički prikaz mikrofluidnog modula čipa za emulzifikaciju.

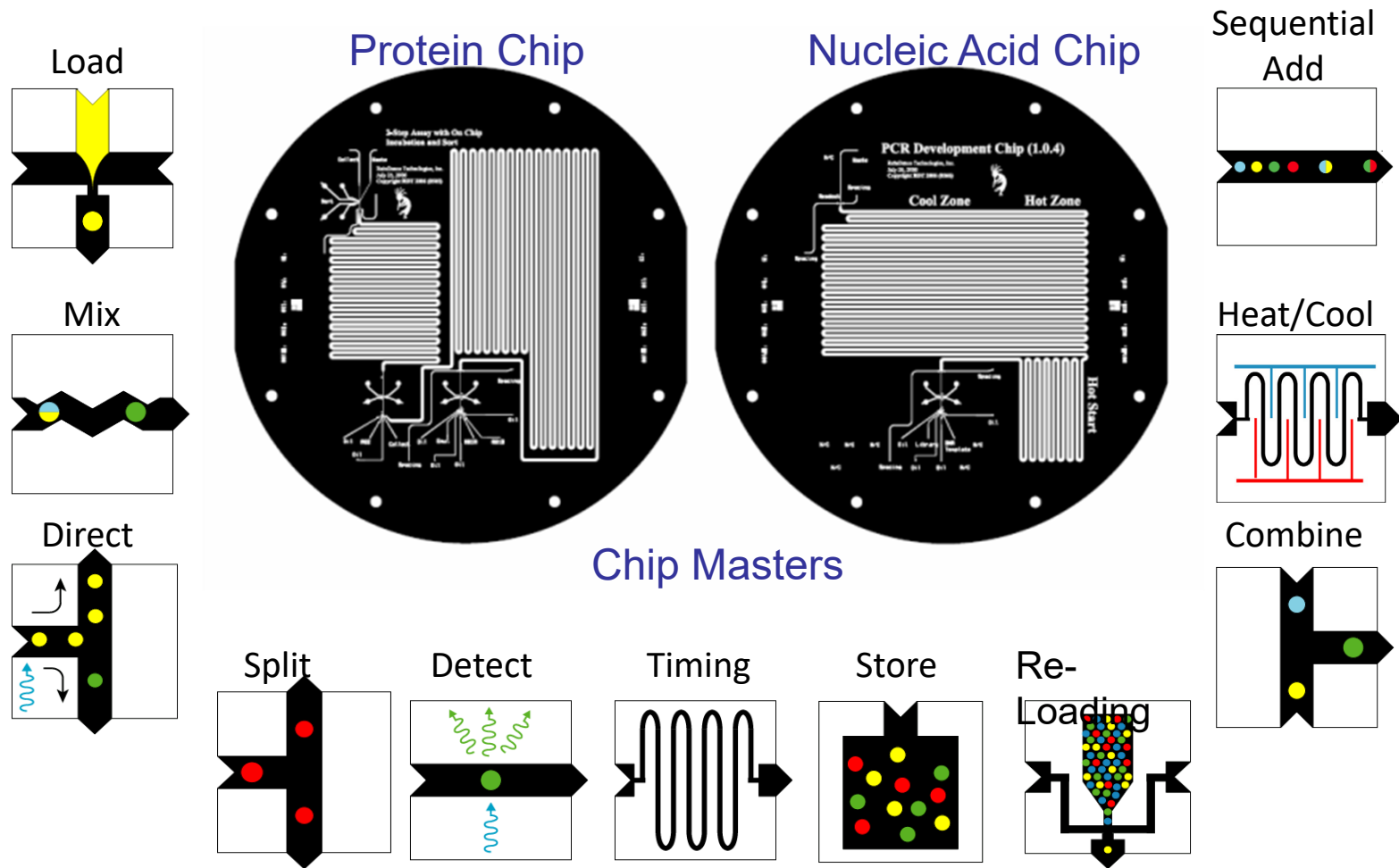


Symbiosis

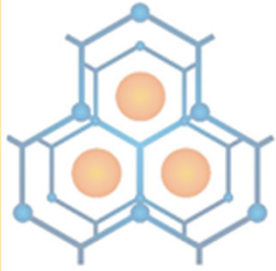
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



MIKROFLUIDINI MODULI NA ČIPU



Slika 23. Grafički prikaz različitih mikrofluidnih modula.

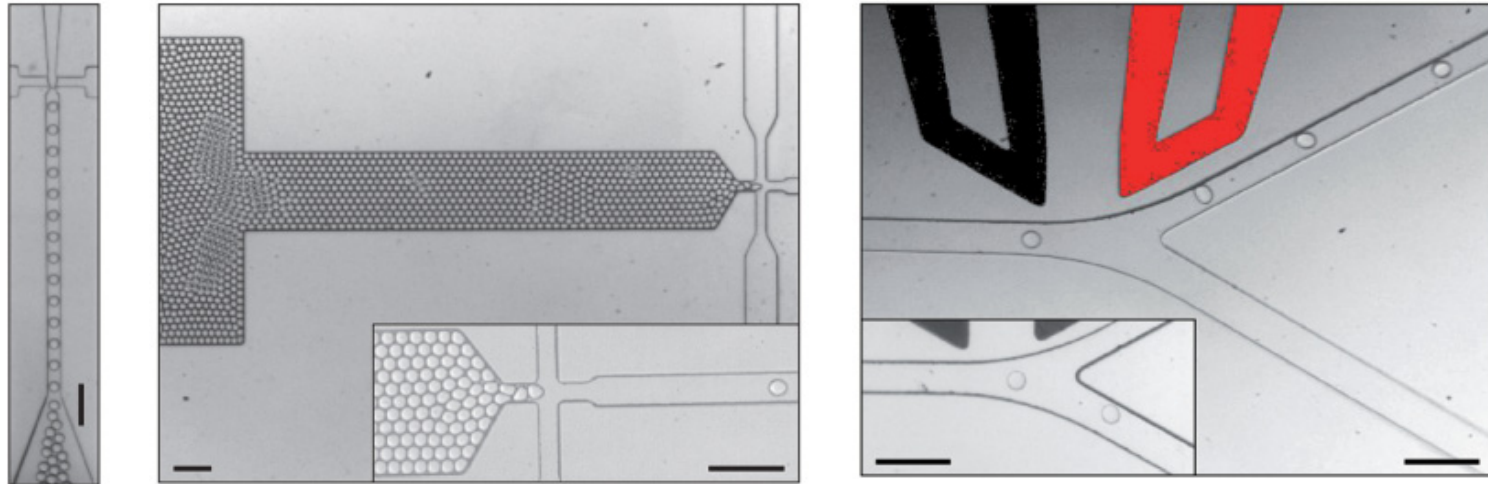


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

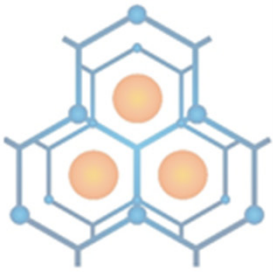


MIKROFLUIDNI UREĐAJI



a) Generisanje kapljica, b) skladištenje kapljica, c) sortiranje kapljica

Slika 24. Fotografije mikrofluidnog modula čipa za sortiranje.

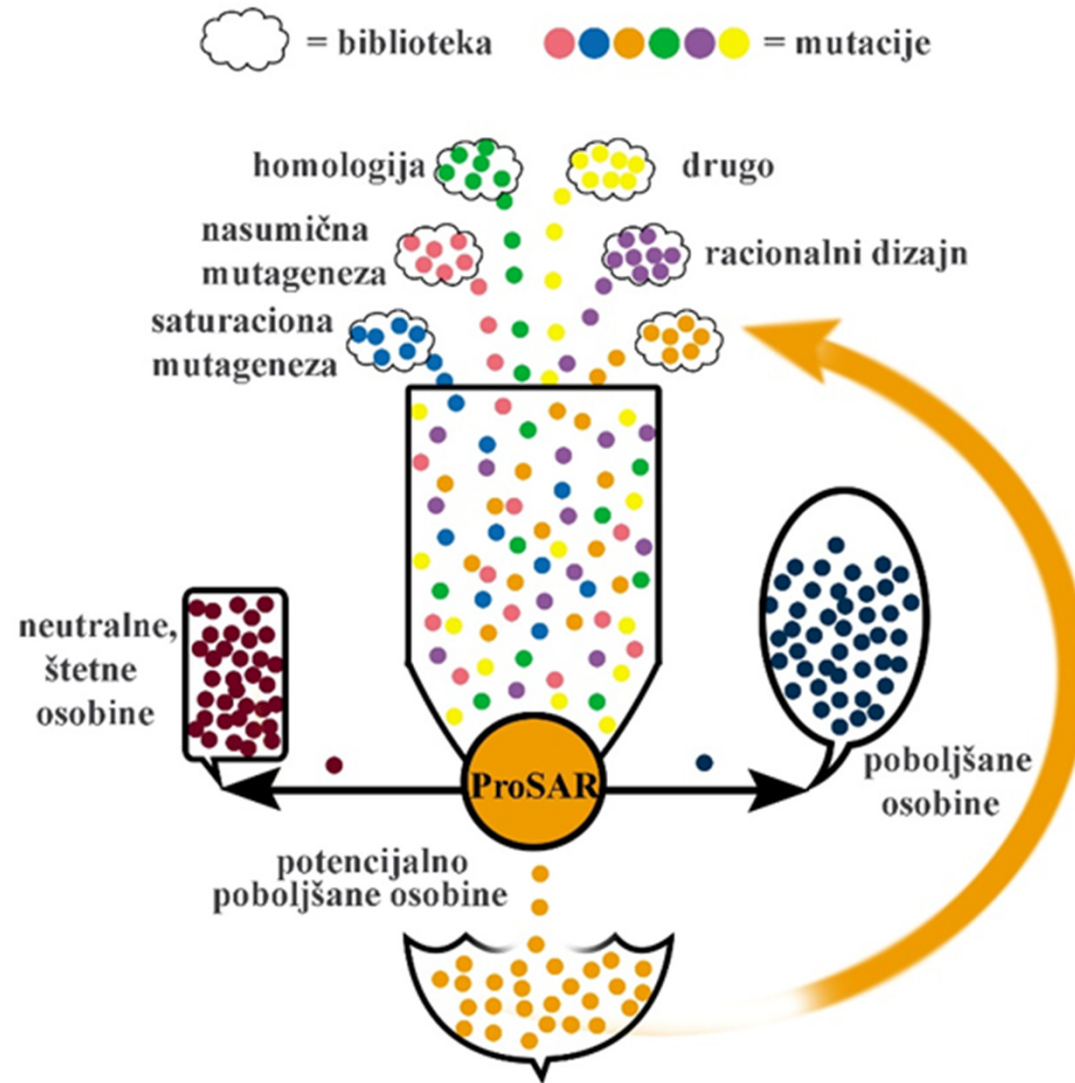


Symbiosis

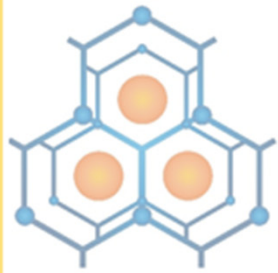
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



PROSAR



Slika 25. Shema algoritma ProSAR metode.



Symbiosis

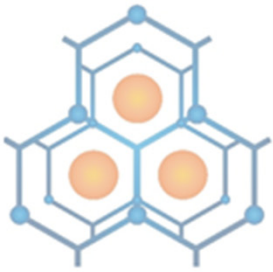
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



ProSAR

$$y = c_{1a}x_{1a} + c_{1b}x_{1b} + c_{2a}x_{2a} + c_{2b}x_{2b} + \dots + c_{ja}x_{ja} + c_{jb}x_{jb} + \dots$$

- Protein Structure Activity Relationship
- Y – predviđena aktivnost proteina
- C_{ja}- regresioni koeficijent koji opisuje uticaj mutacije na poziciji j u AK ostatak j
- X_{ja} – varijabla koja ukazuje na prisustvo (X_{ja}=1) ili odsustvo (X_{ja}=0) AK ostatka a na poziciji j
- Mutacioni efekti su uglavnom aditivni o po linearnoj zavisnosti

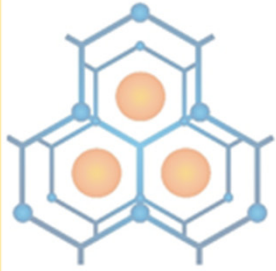


PROSAR

		pozicija																										
aktivnost		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
6.2	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	K	G	D	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	N	
3.3	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	R	G	D	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	N	
4.7	M	T	S	Q	E	D	S	Y	S	D	G	K	G	N	Y	N	T	I	M	P	G	A	V	F	Q	L	N	
8.5	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	R	G	D	Y	N	T	I	M	P	G	A	V	F	Q	L	N	
9.2	M	K	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	R	G	N	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	Q	
9.8	M	K	S	Q	E	D	S	Y	S	D	G	R	G	D	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	N	
1.5	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	R	G	D	Y	N	T	I	Y	P	G	A	V	F	Q	L	N	
2.7	M	T	A	Q	E	D	S	Y	S	D	G	R	G	E	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	Q	
6.4	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	K	G	D	Y	N	T	I	M	L	G	A	V	F	Q	L	N	
3.5	M	T	A	Q	D	D	S	Y	S	D	G	R	G	E	Y	N	T	I	Y	L	G	A	V	F	Q	L	N	

		varijabla																
aktivnost		2T	2K	3A	3S	5D	5E	12K	12R	14D	14N	14E	19Y	19M	20L	20P	27N	27Q
6.2		1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0
3.3		1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0
4.7		1	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0
8.5		1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0
9.2		0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1
9.8		0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0
1.5		1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0
2.7		1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1
6.4		1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0
3.5		1	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0

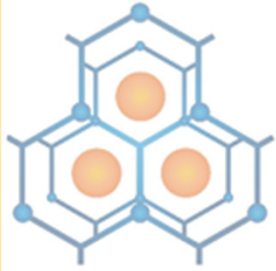
Slika 26. Shema algoritma ProSAR metode.



STABILIZACIJA PROTEINA KONSENZUS MUTAGENEZOM



Slika 27. Shema algoritma konsenzus metode.



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



HOMOLOGNO MODELOVANJE STRUKTURE PROTEINA

Model 02 - Structure Assessment

Model-Template Alignment

Putative hexose oxidase

28.74%

Model 01 - Structure Assessment

Global Quality Estimate

QMEAN	-1.96
CP	-2.28
All Atom	-1.42
Solvation	-1.35
Torsion	-1.27

Local Quality Estimate

Comparison

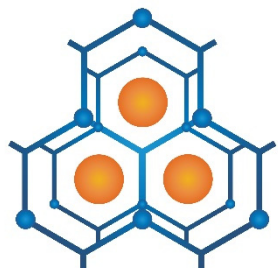
Template: 5d79_1.A, Seq Identity: 42.99%, Coverage: [Progress bar]

Description: Berberine bridge enzyme-like protein

Model-Template Alignment

```
Model_01: MNMSRVEFLVLDLSPCVSFGALSSIFDVTSTSEDFTLCLQSNHNVTISQVVPFANTSYPIWQAADPIRFNKSZIFKFSVYTPPTDQTQTALLCARRGGVFRIRGGHDFEGNSYTA
5d79_1.A: ---SFLPFIILLFPLNISPVLVSARG--SYEDFLKCLGRNNDVTVQVIGKRRGSSICELIKREVSSTPRKFDLQSPVIGEDVQVIFCALGGLVATLQAGHCEGLSYTA
Model_01: NAFPVMLDLYNMRATPIVNRRTALVGGGLGELYTYISUKTDLDFPAGIAGVQVVSFGLSGGGVGNLRRYGLGADNLDIRFDVNGNIDLRKSMGDELFWALGGGASSFGIVLQWKN
5d79_1.A: NIKFVPLDLYNMRATPIVNRRTALVGGGLGELYTYISUKTDLDFPAGIAGVQVVSFGLSGGGVGNLRRYGLGADNLDIRFDVNGNIDLRKSMGDELFWALGGGASSFGIVLQWKN
Model_01: LVPVPRVTLFVSSTLGGGATDIFHKYQVYLRPRDRLLIRVQLNTEIIGNTKTKVRLIHLGIGNNIDTLPLNGSPPELVNTRPVQOVNMYOTLLEGGFNISTPTSLANRSALPKLS
5d79_1.A: LVPVPRVTLFVSSTLGGGATDIFHKYQVYLRPRDRLLIRVQLNTEIIGNTKTKVRLIHLGIGNNIDTLPLNGSPPELVNTRPVQOVNMYOTLLEGGFNISTPTSLANRSALPKLS
Model_01: FQKSDIVRTPIPRSGLRKWRKMFEDNSQLDMIDFQGXMBESDTAIPFRAQVLIQVFKRVDVDFQSDRTLLSLRRLAWLRSPDRTLEPVSNPRRAIMNIDDLGQ---DSAA
5d79_1.A: FQKSDIVRTPIPRSGLRKWRKMFEDNSQLDMIDFQGXMBESDTAIPFRAQVLIQVFKRVDVDFQSDRTLLSLRRLAWLRSPDRTLEPVSNPRRAIMNIDDLGQ---DSAA
Model_01: EEASEWQERYWKRNPKKLIRIKAVDPENFFRPOSIPVRSRPLSDM
5d79_1.A: EEASEWQERYWKRNPKKLIRIKAVDPENFFRPOSIPVRSRPLSDM
```

Slika 28. Primer 3D strukture enzima Carbohydrate oxidase iz *Helianthus annuus* određene homolognim modelovanjem na SWISS-MODEL serveru.



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

BIOINFORMATIKA U SLUŽBI DIZAJNA ENZIM@MOF KOMPOZITA

Milan Senčanski

Laboratorija za bioinformatiku i računarsku hemiju,
Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Institut od
nacionalnog značaja za Republiku Srbiju



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

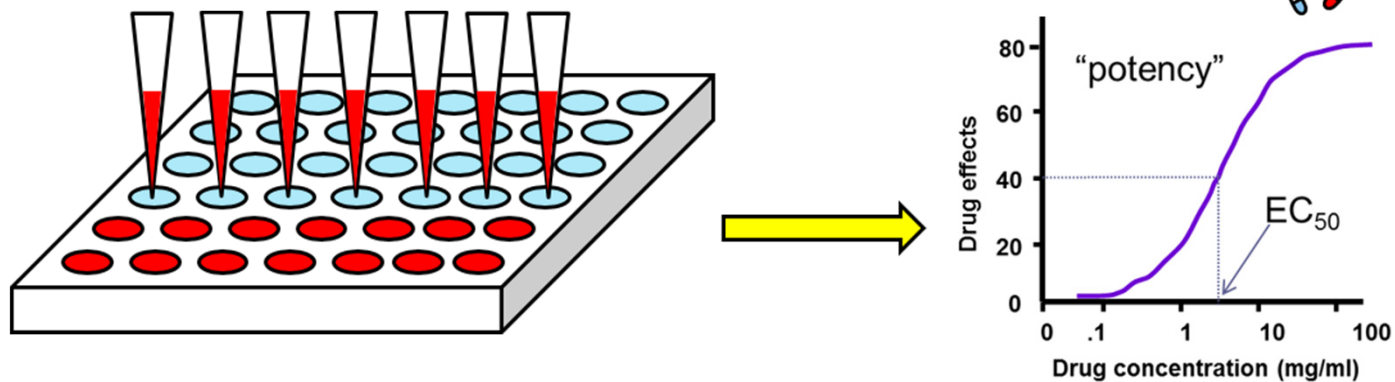


Uvod

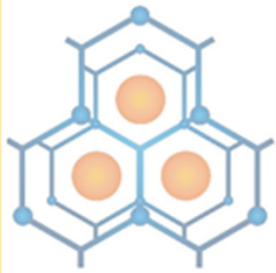
Bioinformatika i računarska hemija

Razlika između klasičnog High-Throughput Screening-a (HTPS) i CADD VS (Computer Aided Drug Design Virtual Screening)

In Silico metode

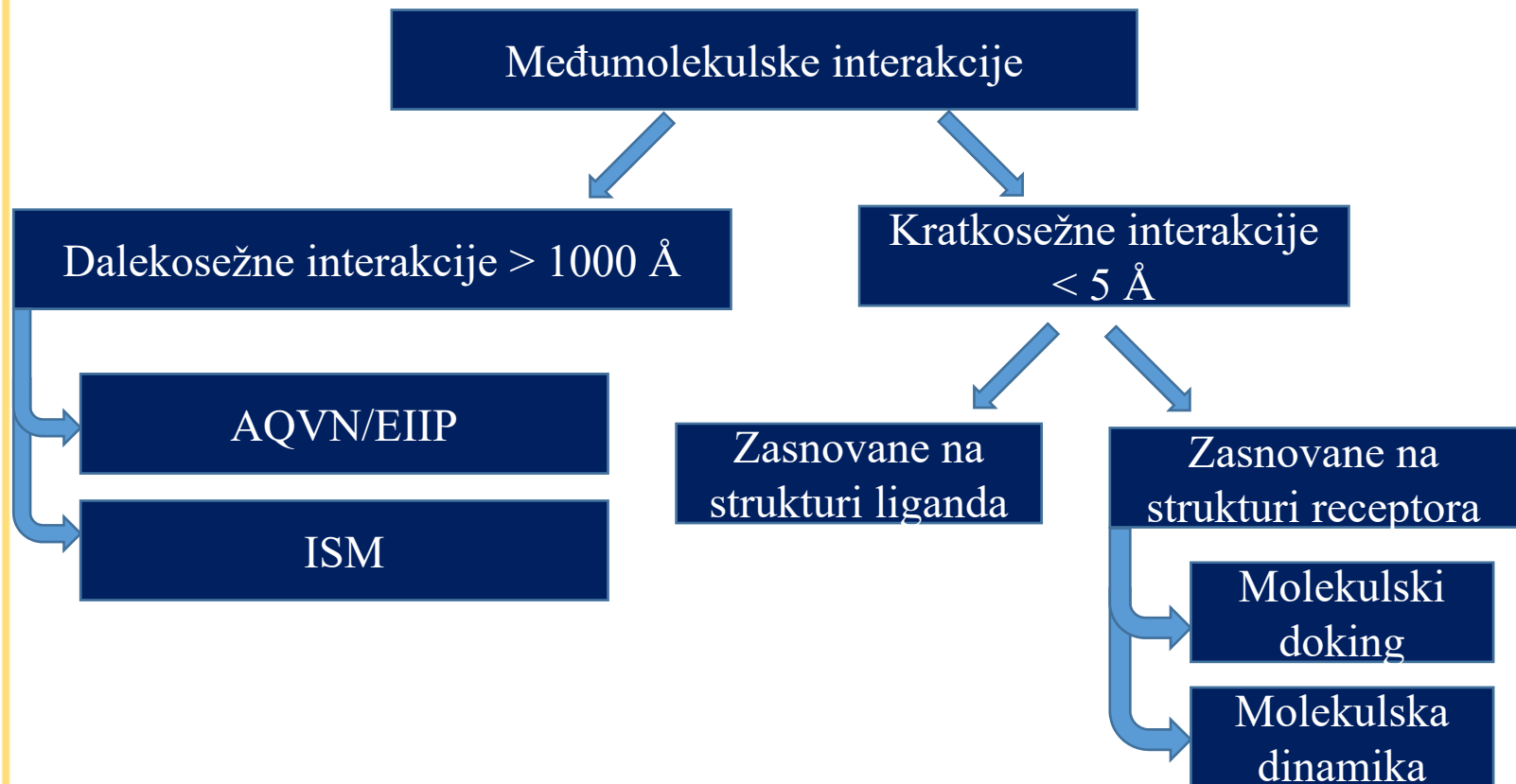


Slika 1. Klasična eksperimentalna pretraga i računarska

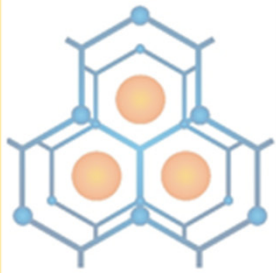


In Silico metode

Međumolekulske interakcije



Slika 2. Podela međumolekulskih interakcija.



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Dalekosežne interakcije

Fishing Concept of Intermolecular Interactions in Biological Systems - *Biomolecular Sensing* -

The ISM/EIIP Approach

Fishing Analogy

RTD

Interaction without RTD

Interaction with RTD

The ISM/EIIP Approach

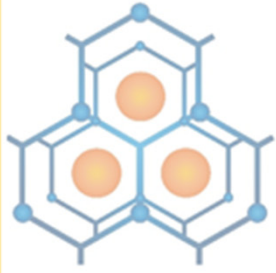
The EIIP/ISM concept

According to the EIIP/ISM concept the electrons along a protein molecule are considered as delocalized. The charges moving along the protein backbone induce transient polarization of the side groups resulting in attraction and repulsion between some parts of the molecule and oscillation of the molecule as a whole. These oscillation can be propagated through polar media (water) at large distances (100 - 1000 Å) and interfere with oscillations of other molecules [Fröhlich H., Int. J. Quant. Chem. 2, 641 (1968); Fröhlich H., Nature, 228, 1093 (1970); Fröhlich H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 72, 4211 (1975). As demonstrated by Fröhlich, between two molecules encompassing in their oscillation the same frequency component can be establish the resonant interaction which results in highly specific attractive forces between these molecules. It is also proposed that biological macromolecules can attract small molecules at large distance inducing their "passive" oscillations. This long-distance interaction directly influences a number of productive collisions between interacting biochemical molecules and their kinetics. Characteristics of these oscillations are determined by the electronic properties of the "building blocks" (amino acids and nucleotides) and their distribution along the sequence. It has been demonstrated that the electron-ion interaction potential (EIIP) [Veljkovic V., Slavic I. Phys. Rev. Lett., 209, 105 (1972); Veljkovic V., Phys. Lett., 45A, 41 (1973); Veljkovic V., Lalovic D., Phys. Lett., 45A, 59 (1973).] of amino acids and nucleotides represents an essential physical property determining characteristics of these molecular oscillations.

The ISM technique

According to the ISM approach, sequences (protein or nucleotide) are transformed into signals by assignment of numerical value of each element (amino acid or nucleotide). These values correspond to EIIP determining electronic properties of amino acids and nucleotides. The signal obtained is then decomposed in periodical function by Fourier transformation. The result is a series of frequencies and their amplitudes. The obtained frequencies correspond to the distribution of structural motifs with defined physico-chemical characteristics that are responsible for biological function of the sequence. When comparing proteins

Snimak 1. Koncept međumolekulskih interakcija u biološkim sistemima, Izvor: <https://youtu.be/FdDeh5TlbvA>



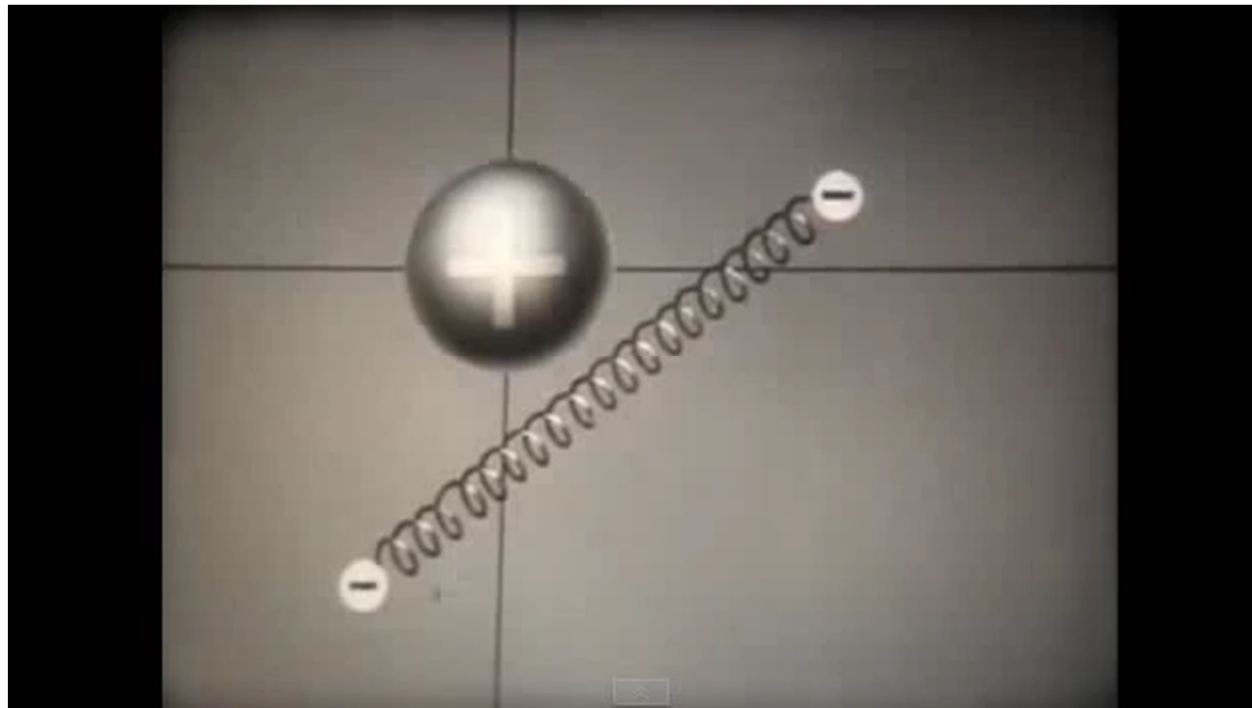
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

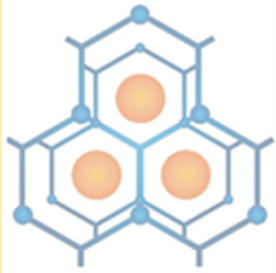


Koncept superprovodljivosti

Kuperovi parovi



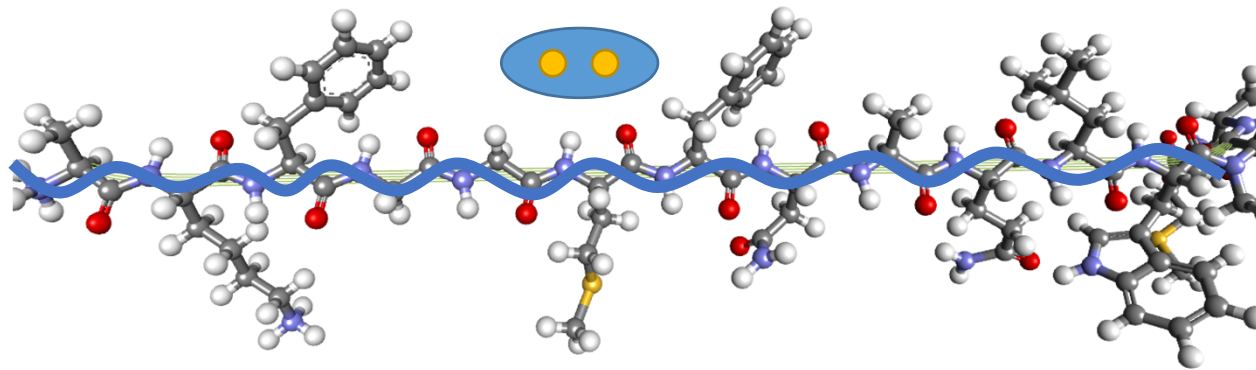
Snimak 2. Formiranje Kuperovih parova,
Izvor: <https://youtu.be/BgjsYiyBc9A>



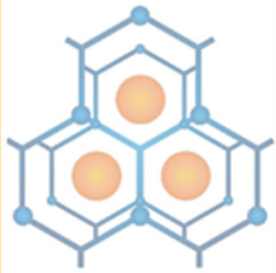
Koncept superprovodljivosti kod proteina

Smatra se da Kuperovi parovi, prolazeći kroz kičmu proteina, interaguju sa valentnim elektronima iz aminokiselinskih ostataka, izazivajući karakteristične vibracije na nivou celog proteina. One su odgovorne za međusobno prepoznavanje (dalekosežne interakcije).

Kako možemo okarakteristati protein? Moramo svaki aminokiselinski ostatak opisati (dodeliti deskriptor i njegovu vrednost).



Slika 3. Kretanje Kuperovog para duž kičme proteina.



Deskriptori AQVN i EIIP

Average Quasi Valence Number (Z^*)

Electron Ion Interaction Potential (EIIP)

$$Z^* = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^m n_i Z_i$$

$$EIIP = 0.25 \frac{Z^* \sin(1.04\pi Z^*)}{2\pi}$$

i - tip hemijskog elementa

Z – valenca i -tog hemijskog elementa

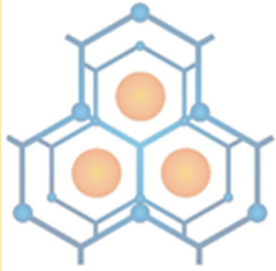
n – broj atoma i -tog hemijskog elementa u jedinjenju

m - broj tipova hemijskih elemenata u jedinjenju;

N – ukupni broj atoma

Amino acid	EIIP [Ry]
Leu	0.0000
Ile	0.0000
Asn	0.0036
Gly	0.0050
Glu	0.0058
Val	0.0057
Pro	0.0198
His	0.0242
Lys	0.0371
Ala	0.0373
Tyr	0.0516
Trp	0.0548
Gln	0.0761
Met	0.0823
Ser	0.0829
Cis	0.0829
Thr	0.0941
Phe	0.0946
Arg	0.0959
Asp	0.1263

Slika 4. EIIP vrednosti aminokiselinskih ostataka.



Računanje spektra

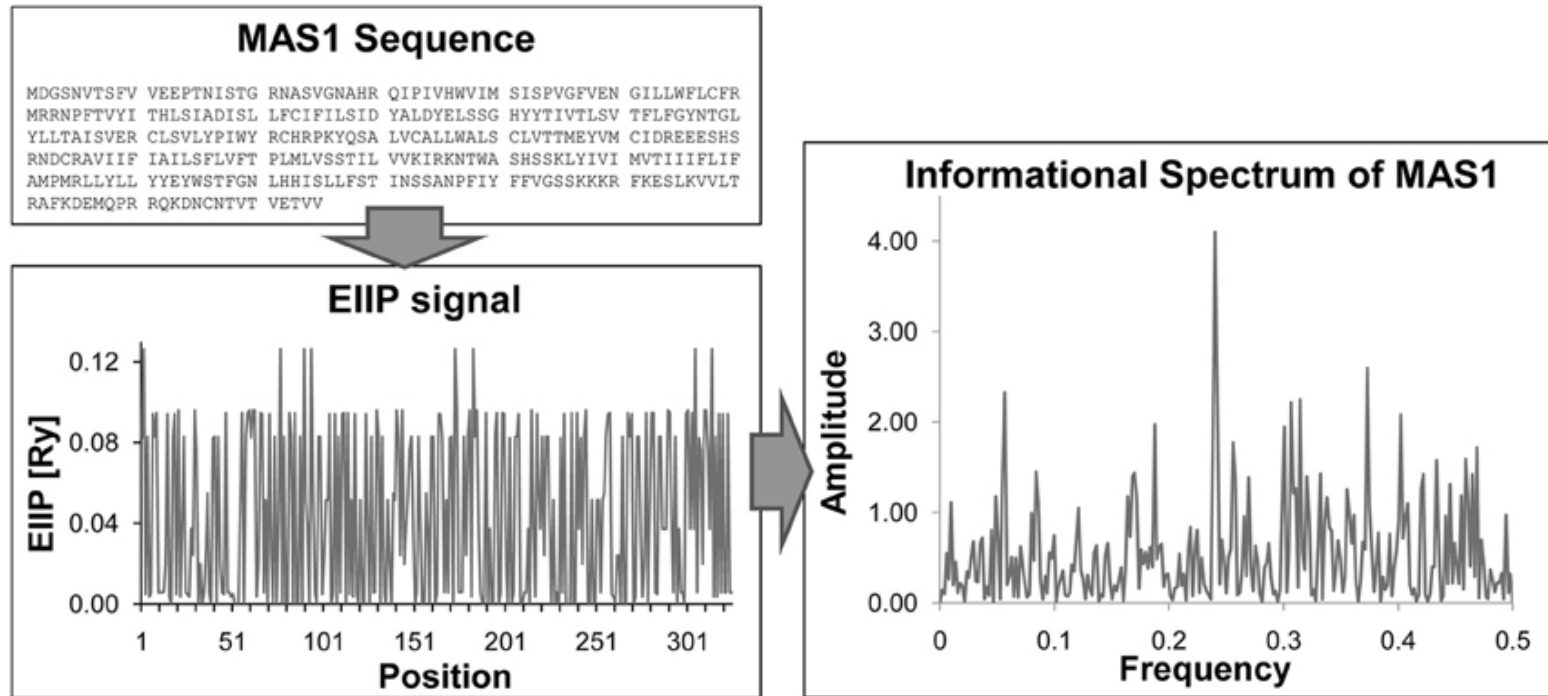
Od EIIP vrednosti svakog AK ostatka u zavisnosti od položaja u sekvenci proteina (EIIP signal), vršeci Furijeovu transformaciju, dobijamo Informacioni spektar (ISM spektar):

$$X(n) = \sum_{m=1}^N x(m) e^{-\frac{i\pi nm}{N}}, n = 1, 2, \dots, N/2$$

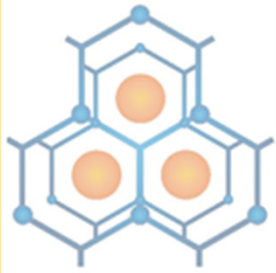
$$S(n) = X(n)X^*(n) = |X(n)|^2, n = 1, 2, \dots, N/2$$



Računanje spektra



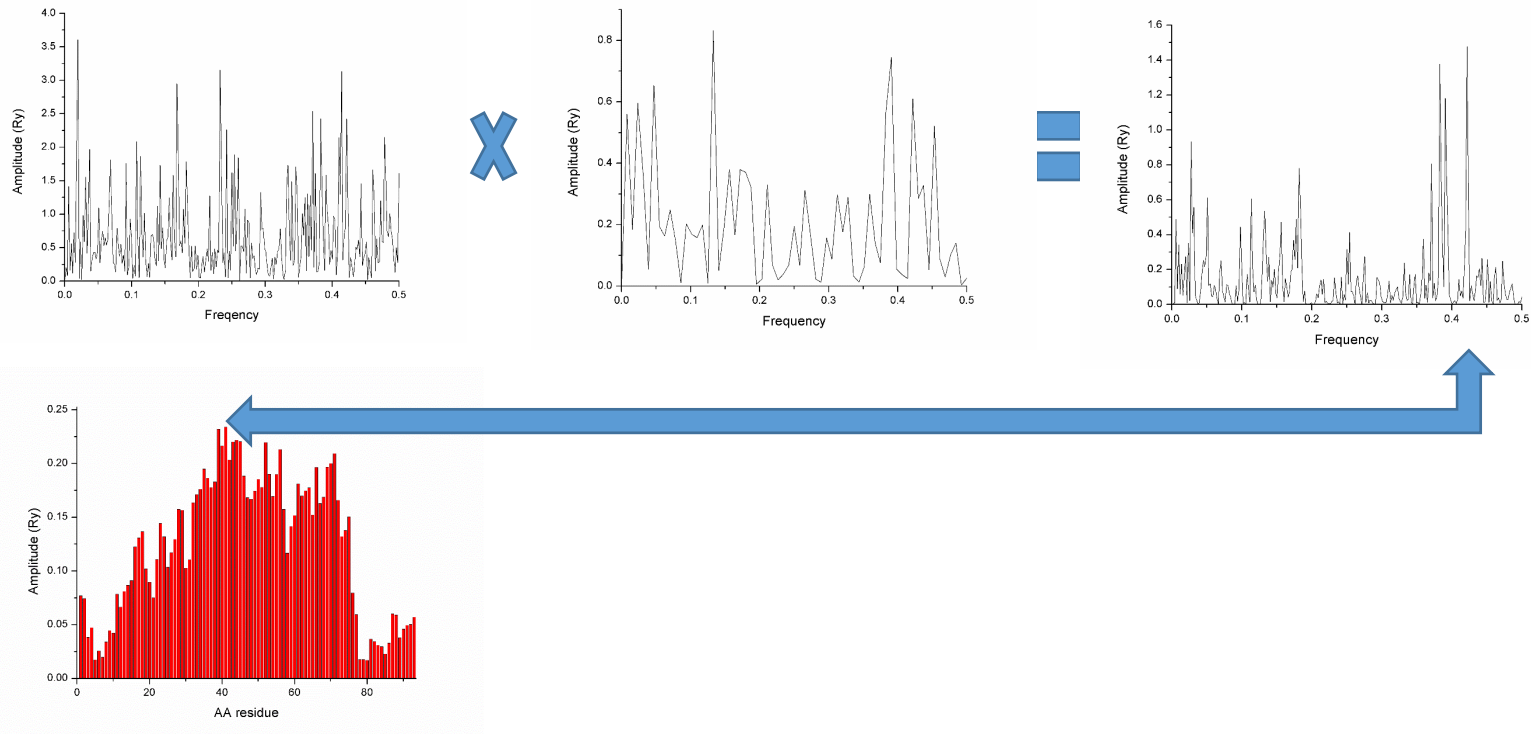
Slika 5. Dobijanje ISM spektra iz aminokiselinske sekvence.



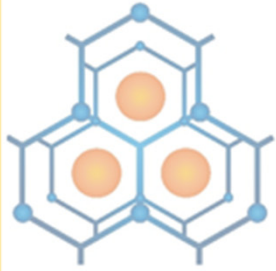
Cross spektar

Množenjem ISM spektara se dobija Cross spektar, i u njemu zajedničke frekvencije – one pokazuju da li dva proteina interaguju, a takođe određuju i domene koji su odgovorni za prepoznavanje.

$$S(n) = X(n) * Y(n)^*, n = 1, 2, \dots, N/2$$



Slika 6. Množenje spektara, dobijanje Cross spektra i mapiranje domena.



Symbiosis

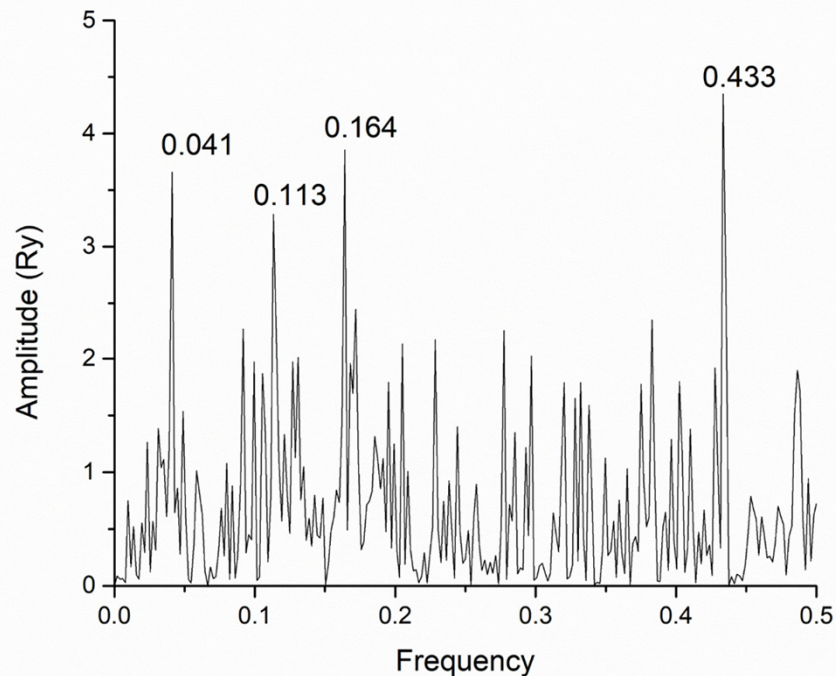
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



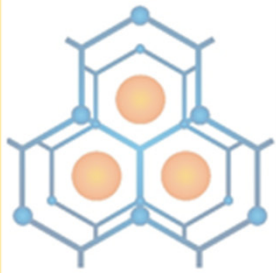
Primena u enzim@MOF dizajnu

Predviđanje aktivnosti mutanata enzima HRP – dizajn mutanata

Različiti mutanti daju različite vrednosti amplituda na istoj F u spektru. Možemo odabrati jednu F i posmatrati promenu vrednosti amplitude u ISM spektrima mutanata.



Slika 7. ISM spektar enzima HRP (Horseradish peroxidase).



Symbiosis

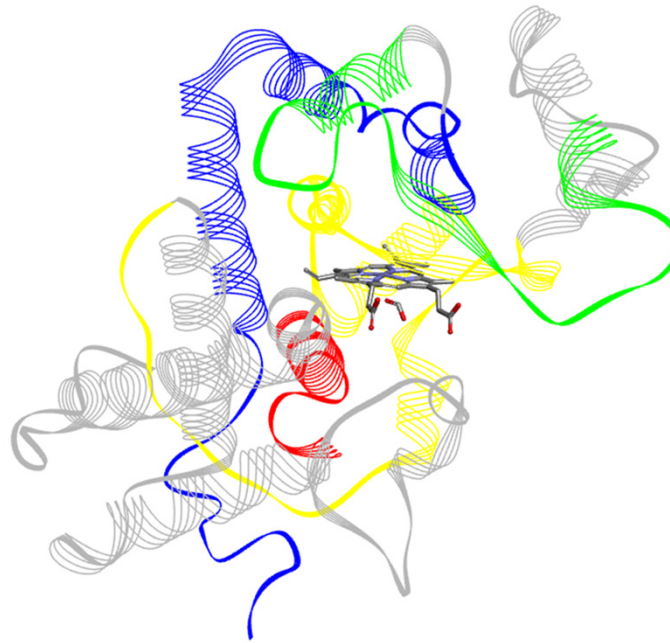
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



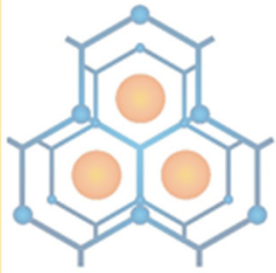
Primena u enzim@MOF dizajnu

Mapiranje domena HRP

Svakoj vrednosti frekvence u ISM spektru pripada određeni domen.



Slika 8. Domeni u kristalnoj strukturi HRP (PDBID 1W4W), koji odgovaraju F(0.041): ostaci 206-238 (zeleno); F(0.434): ostaci 37-53 (red); F(0.113): ostaci 115-179 (žuto); F(0.164) ostaci 242-306 (plavo).



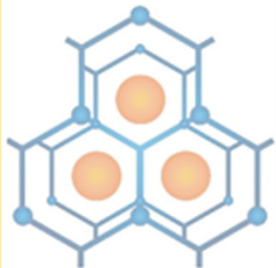
Primena u enzim@MOF dizajnu

Podaci iz literature – „kalibracija“

U literaturi se pretražuju eksperimentalno izmerene vrednosti enzimske aktivnosti kod mutanata u ovim domenima. Na osnovu razlike u aktivnosti između enzima mutanta i divljeg tipa (wild type, WT) i razlike u vrednostima amplituda na određenoj F u ISM spektru, možemo predvideti aktivnost novog mutanta.

To bi značilo, ako se vrednost amplitude povećava na određenoj F (na primer, 0.041), a aktivnost enzima snižava, u tom smeru treba ići pri dizajnu slabije aktivnog enzima i obratno.

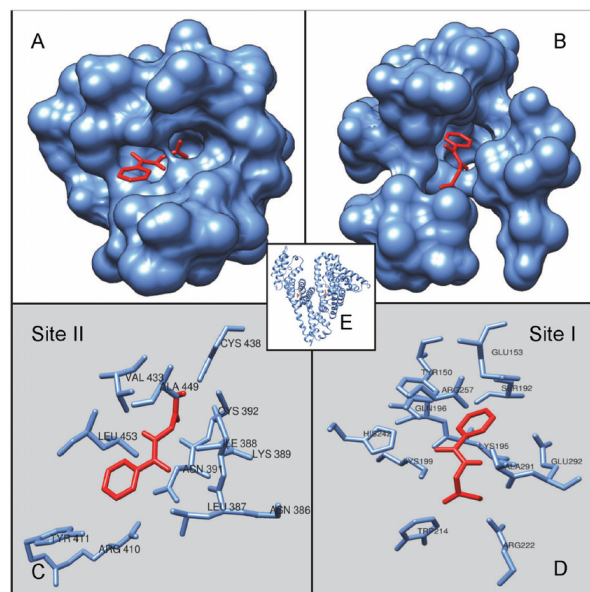
Generišu se svi mogući mutanti i računa se vrednost amplitude na datoj F. Na osnovu toga se vrši predviđanje da li će enzim biti više ili niže aktivnosti od WT.



Kratkosežne interakcije

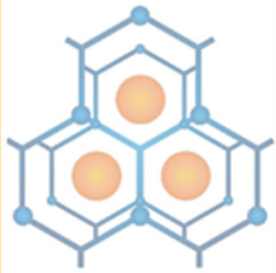
Molekulski doking

Koncept ključ-brava. Tokom dokinga, se pretražuje konformacioni prostor unutar definisanog aktivnog mesta. Generišu se različite konformacije liganda (i receptora), pri čemu se istovremeno računa slobodna energija vezivanja (ΔG). Zadržavaju se samo konformacije sa najnižim vrednostima ΔG , a ostale odbacuju.



Slika 9. Doking malog molekula u aktivno mesto receptora.

Izvor: August 2013 PLoS ONE 8(8):e71422



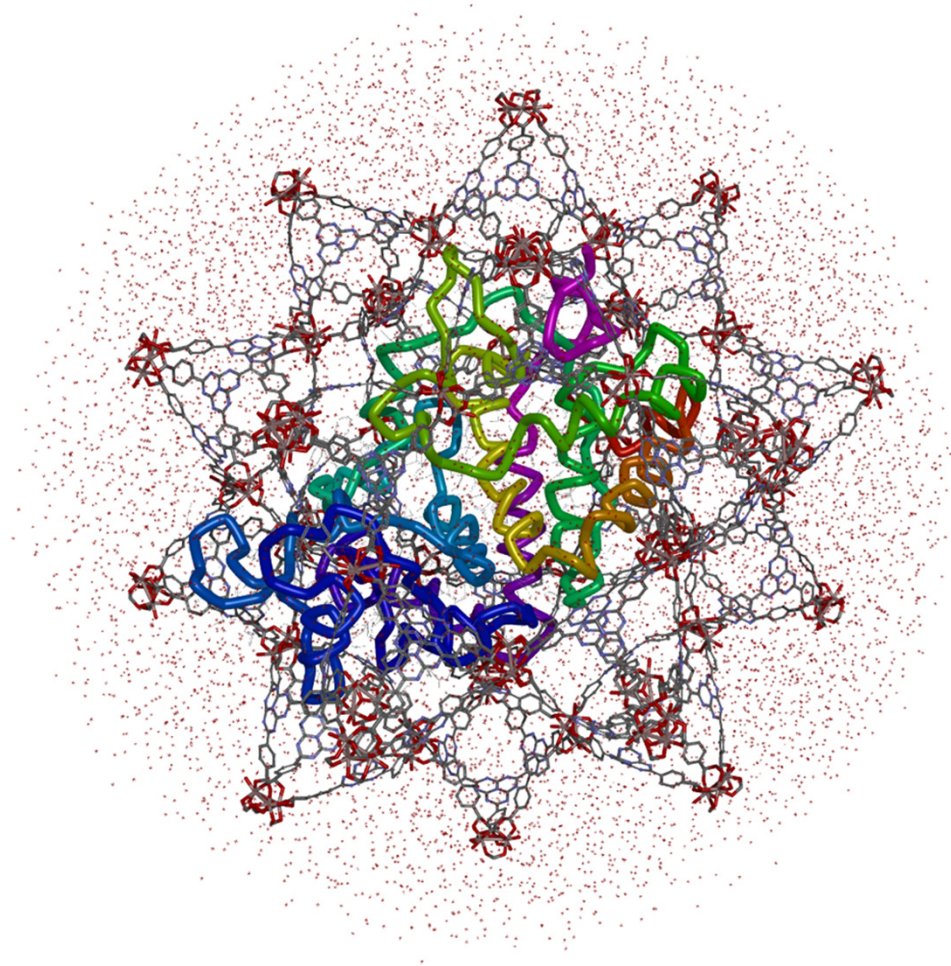
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Primena u enzim@MOF dizajnu

Dokovanje enzima u MOF



Slika 10. HRP enzim udokovan u PCN-888-Al MOF, u vodenoj sferi.



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

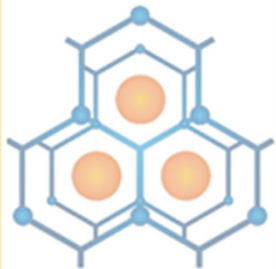


Primena u enzim@MOF dizajnu

A odakle nam MOF?

U idealnom slučaju, na osnovu koordinata iz kristalnih struktura (Cambridge Structural Database).

U nešto manje idealnom slučaju – ručno, koristeći određeni softver za strukturni dizajn materijala.

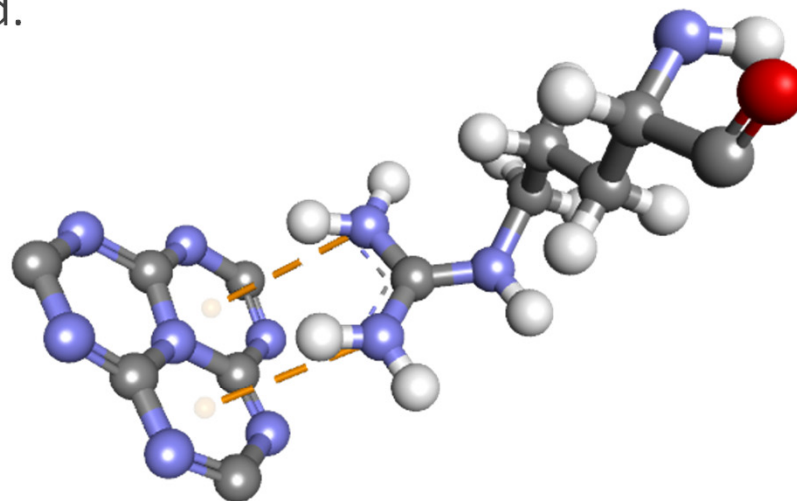


Primena u enzim@MOF dizajnu

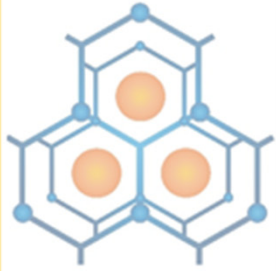
Enzim – MOF interakcije

Dizajn mutanta prema jačini interakcije – konstanti disocijacije enzim-MOF (Kd).

U zavisnosti od energije interakcije (slobodne energije vezivanja, ΔG) po aminokiselinskom ostatku, tačkastim mutacijama menjamo vrednost Kd.



Slika 11. Interakcija Arg ostatka sa PCN-Al-888 motivom.



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Primena u enzim@MOF dizajnu

Kombinovani dizajn enzima – koristeći oba kriterijuma

U zavisnosti od potrebe, možemo dizajnirati četiri vrste mutanata:

- 1) Povećana aktivnost enzima, jače MOF-enzim interakcije
- 2) Povećana aktivnost enzima, slabije MOF-enzim interakcije
- 3) Smanjena aktivnost enzima, jače MOF-enzim interakcije
- 4) Smanjena aktivnost enzima, slabije MOF-enzim interakcije



O nama

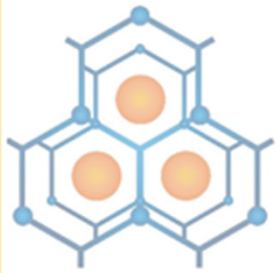
Laboratorija za bioinformatiku i računarsku hemiju, Institut za nuklearne nauke „Vinča“

Istraživanja:

- Bioinformatika, mašinsko učenje, veštačka inteligencija
- Genetika, protein-protein interakcije
- Računarska hemija: prenamena lekova za hronične i infektivne bolesti
- Projekti Fonda za nauku: U okviru Specijalnog programa istraživanja COVID – 19 projekat COVIDTARGET - Repurposing of drugs for prevention and treatment of COVID-19 (www.covidtarget.rs) -Prenamena lekova za prevenciju i lečenje KOVID-19
- <https://www.vin.bg.ac.rs/180/index.php>

Kontakt: sencanski@vin.bg.ac.rs






Symbiosis


SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.




O nama



Laboratorija za bioinformatiku i računarsku hemiju Institut za nuklearne nauke VINČA



Srpski



English

Početak

Istraživanja

MPNTR Istraživačka tema

Projekti Fonda za nauku

Publikacije

Bioinformatički alati

- MethSpec
- TRI_tool
- IDPpi_tool
- HP-GAS
- DiNGO
- EpiMut

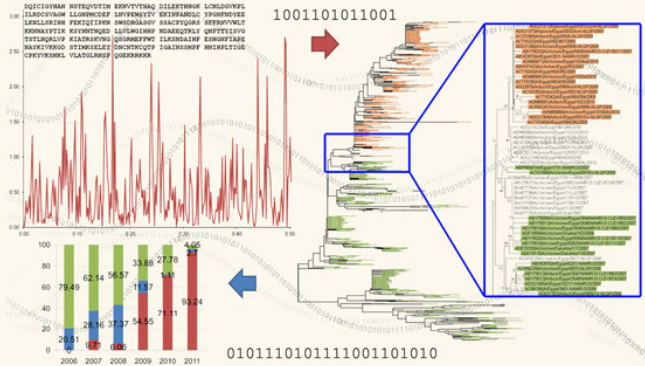
Zaposleni

Kontakt

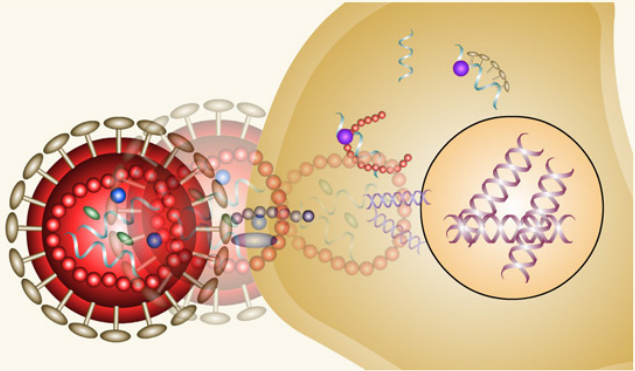
Vesti

- DEC 2021
Dr Nevena Veljkovic za Politiku i na TV Prva
- APR 2021
BelBI2021
- AVG 2019
Profesor Milivoj Dopsaj i dr Edelmiro Moman su posetili našu laboratoriju
- JUL 2019
Tamara na GCC2019 u Frajburgu
- JUN 2019
Tamara, Branka i Rajko na Ensembl radionicama

Računarska biologija i bioinformatika, spoj između moderne biologije i informatike, obuhvataju otkrivanje, razvoj i implementaciju računarskih algoritama i softverskih alata i cilj im je da omoguće razumevanje bioloških procesa. Ove discipline se primenjuju i u farmaceutskim istraživanjima za identifikaciju ciljnih meta za lekove i analizu ćelijskih signalnih puteva.



Mi u **Laboratoriji za bioinformatiku i računarsku hemiju** Instituta za nuklearne nauke VINČA, razvijamo algoritme i analiziramo različite biološke sisteme. Naše metode za predviđanje funkcionalnog značaja mutacija proteinskih interakcija se primenjuju na specifičnim biološkim problemima, kroz saradnju sa eksperimentalnim laboratorijama.



© 2014-2020 VINCA-180 -LOGIN-



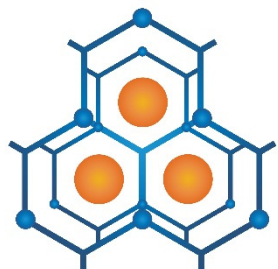
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



O nama





Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

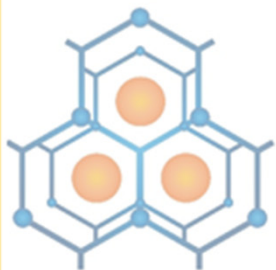
SINTEZA I KARAKTERIZACIJA ENZIM@MOF KOMPOZITA

Tamara Todorović & Radivoje Prodanović
Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet



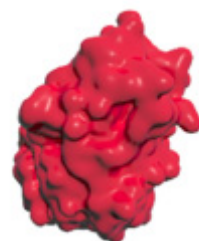
Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997



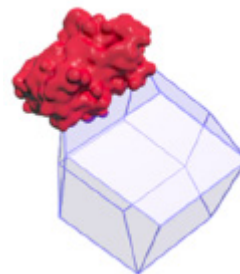
Metode imobilizacije enzima korišćenjem MOF-ova

Poređenje metoda



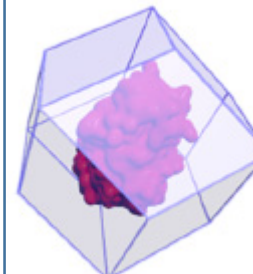
slobodan
enzim

enzim-na-MOF-u

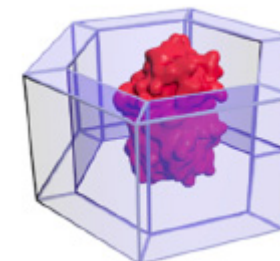


površinska
biokonjugacija

enzim@MOF kompoziti

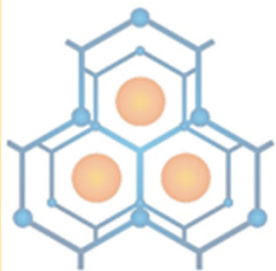


enkapsuliran
enzim

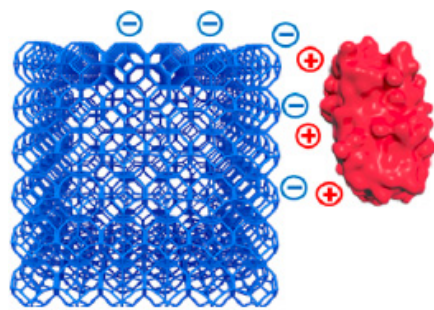


infiltriran
enzim

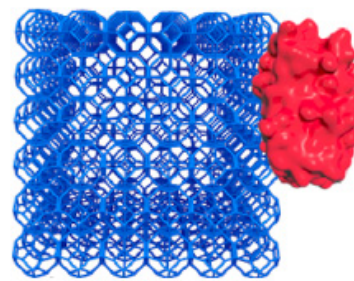
prednosti	spreman za upotrebu	veliki broj MOF-ova	brza sinteza za veliki broj proteina	hemijski stabilni MOF-ovi
mane	nestabilnost	curenje, denaturacija	mali broj MOF-ova	komplikovana sinteza MOF-ova, ograničen broj
stabilnost				
proteolitički agensi	niska	niska	visoka	zavisi od veličine pora MOF-a
T	niska	niska/srednja	visoka	visoka
organski rastvarači	niska	niska/srednja	visoka	visoka



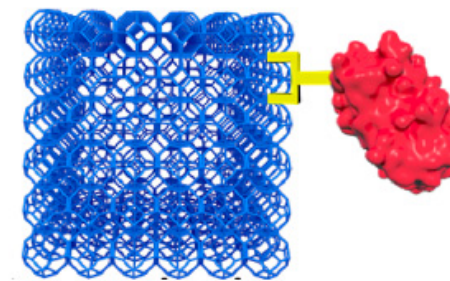
Enzimi na površini MOF-a



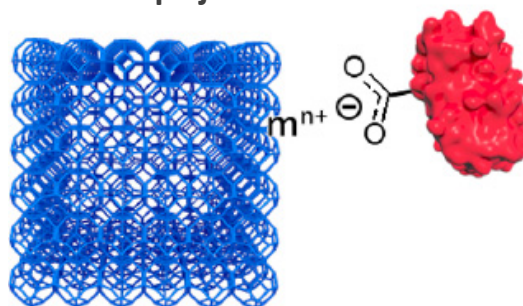
Elektrostatička adsorpcija



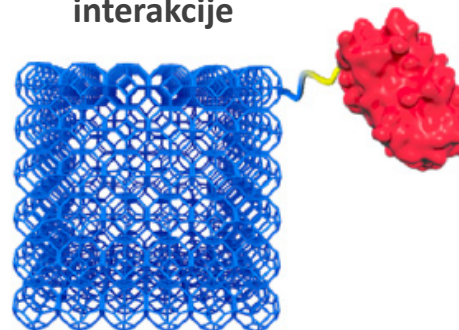
Hidrofobne interakcije



Supramolekulski doking

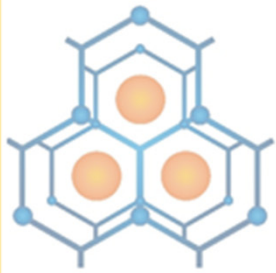


Koordinativno vezivanje



Kovalentno vezivanje

Mala stabilnost u odnosu na dejstvo proteolitičkih agenasa, povišene temperature ili organskih rastvarača.



Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije – priprema MOF-ova



Uzorak MOF-a iz sinteze

- rastvarač sadrži polazne komponente, sporedne proizvode
- pore sadrže polazne komponente, sporedne proizvode, molekule rastvarača

prva izmena rastvarača



Uzorak MOF-a sa izmenjenim rastvaračem

- iz rastvarača su uklonjene polazne komponente, sporedni proizvodi i sl.
- pore sadrže polazne komponente, sporedne proizvode, molekule rastvarača

nekoliko ciklusa izmene rastvarača



Uzorak MOF-a sa potpuno izmenjenim rastvaračem

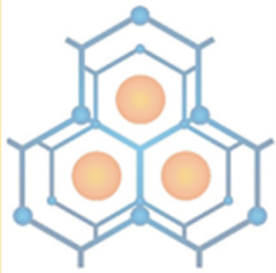
- rastvarač se izmenjuje čistim rastvaračem korišćenim u sintezi MOF-a
- iz pora su uklonjene polazne komponente, sporedni proizvodi

nekoliko ciklusa izmene rastvarača vodenim rastvorom pufera



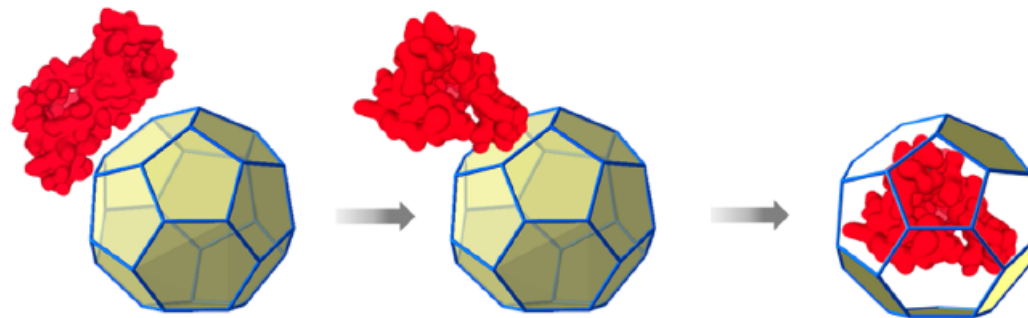
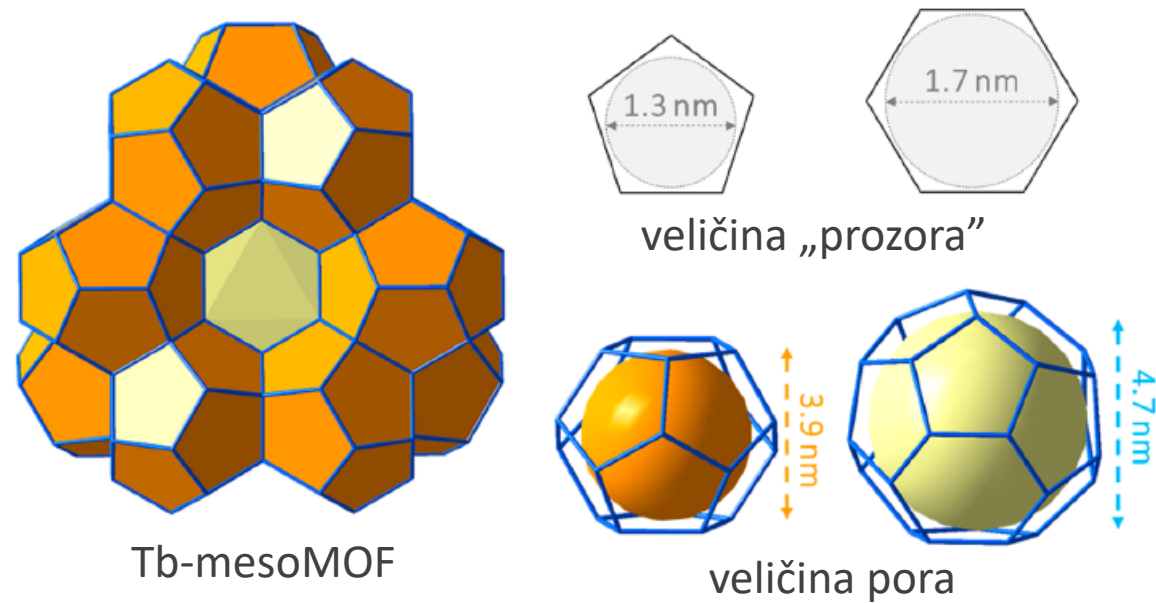
Uzorak MOF-a spreman za post-sintetičku difuziju

- uzorak MOF-a u rastvoru pufera

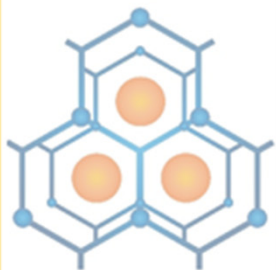


Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije

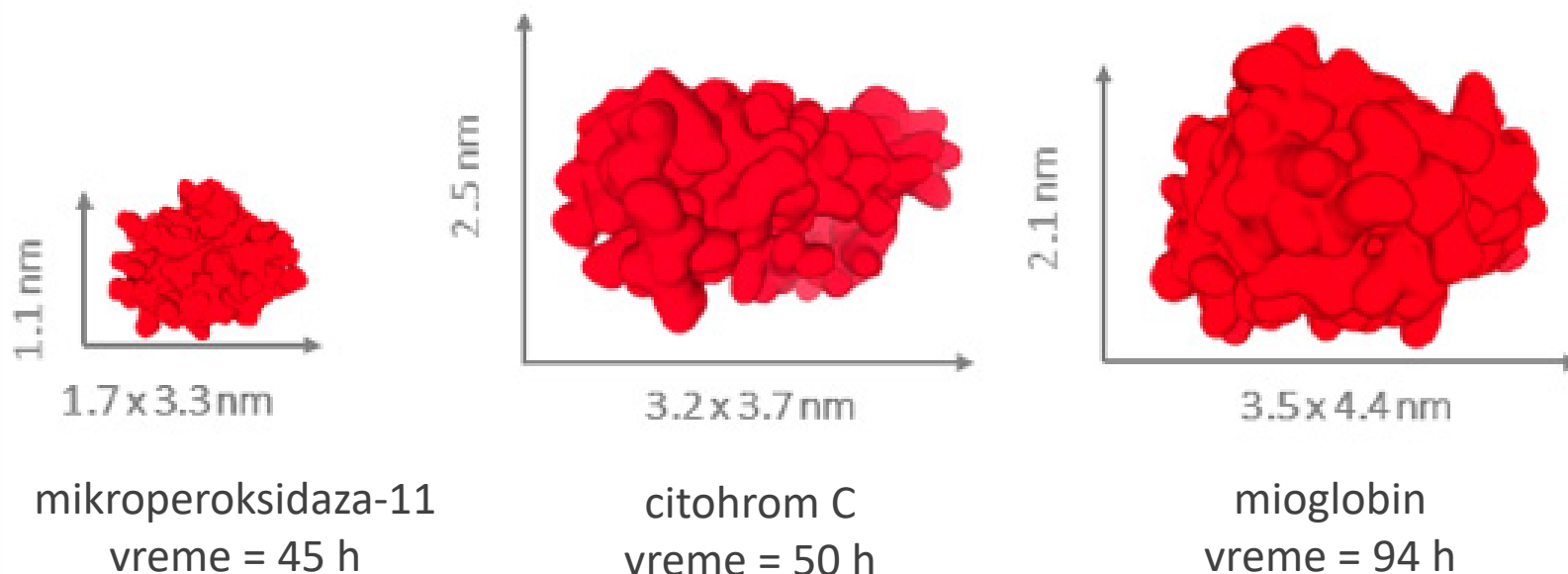


Enzimi čije su dimenzije znatno veće od veličine prozora pora moraju se podvrgnuti delimičnom razvijanju da bi prošli i ušli u veću šupljinu.

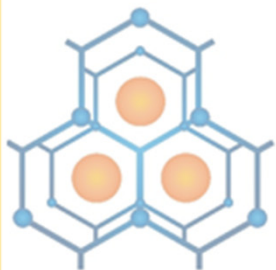


Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije – vreme difuzije



Vreme difuzije zavisi od dimenzija enzima i dimenzija prozora pora.



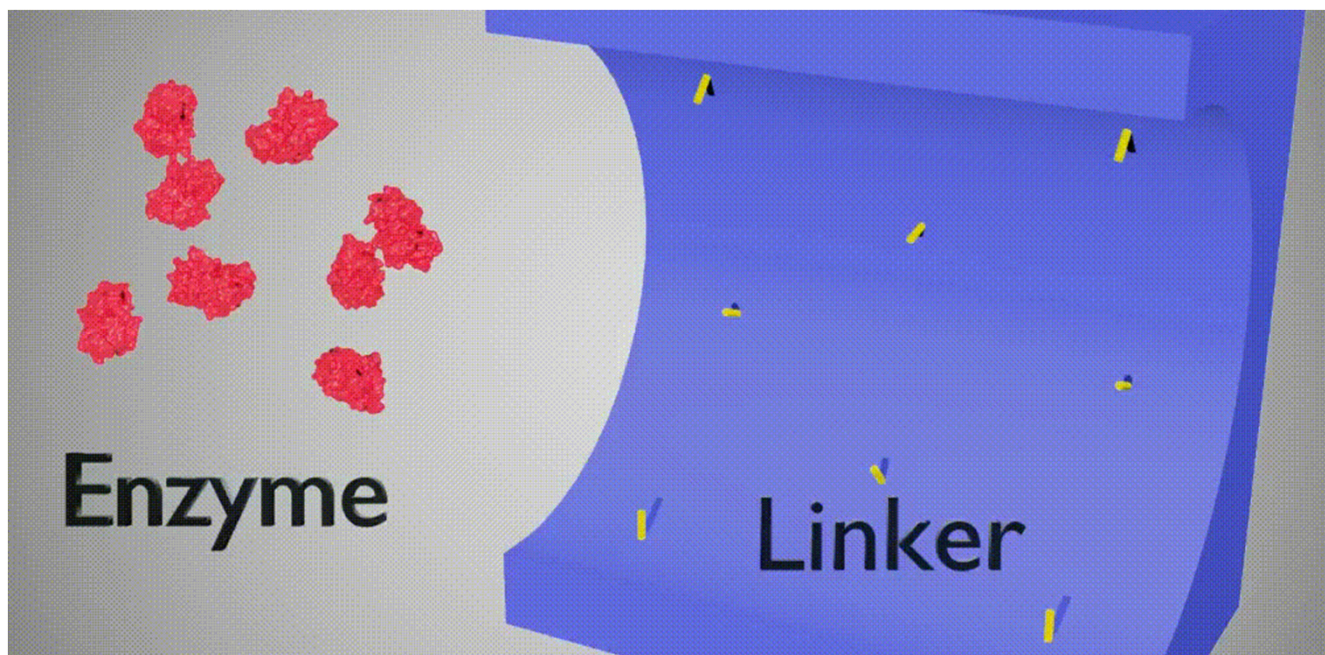
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije - uticaj veličine pora

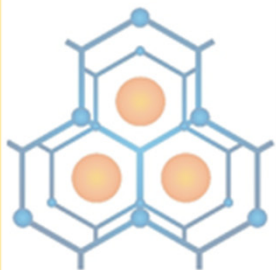


Velike pore – brza hemisorpcija

Izvor:

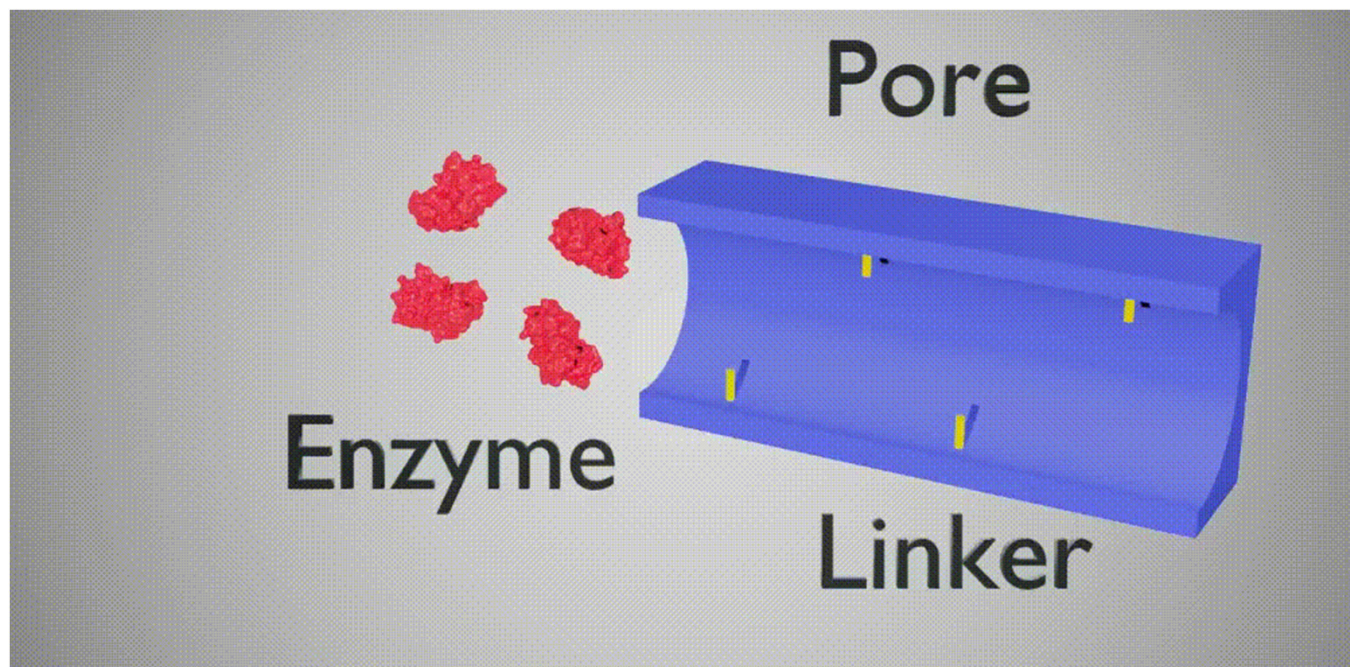
https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.chemrev.0c01029/suppl_file/cr0c01029_si_002.mp4

Chem. Rev. 2021, **121**, 1077–1129.



Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije - uticaj veličine pora

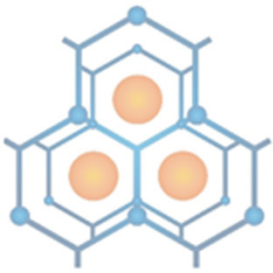


Male pore – fiziosorpcija, a potom spora hemisorpcija

Izvor:

https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.chemrev.0c01029/suppl_file/cr0c01029_si_001.mp4

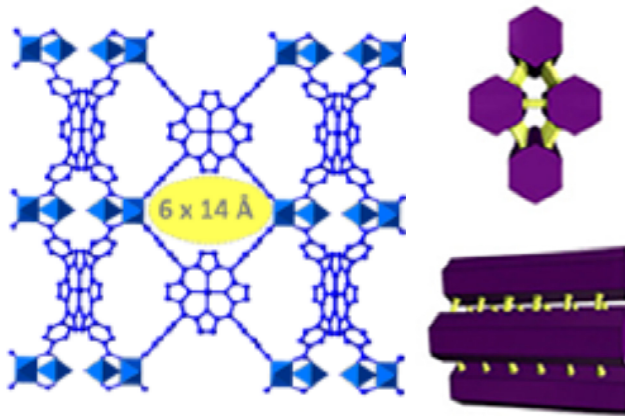
Chem. Rev. 2021, **121**, 1077–1129.



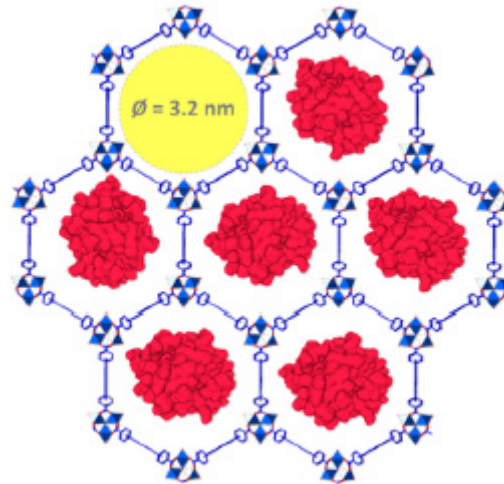
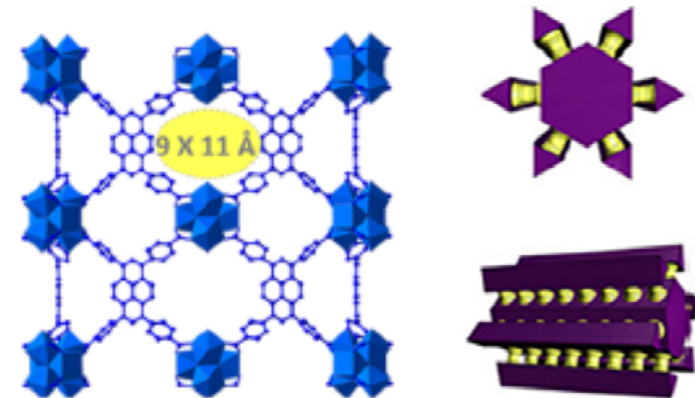
Enzim infiltriran u pore MOF-a

Metoda post-sintetičke difuzije – uticaj strukture MOF-a

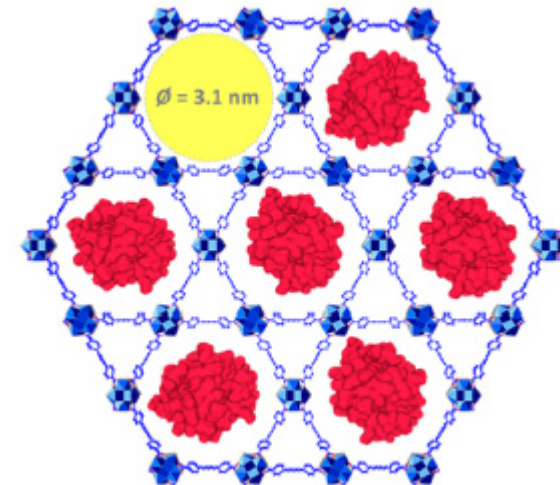
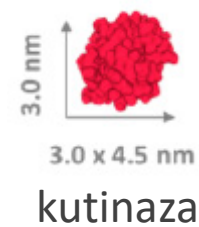
PCN-600



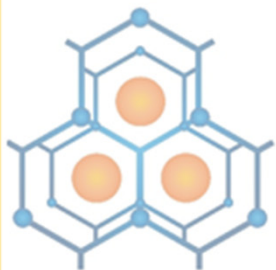
NU-1000



kutinaza@PCN-600

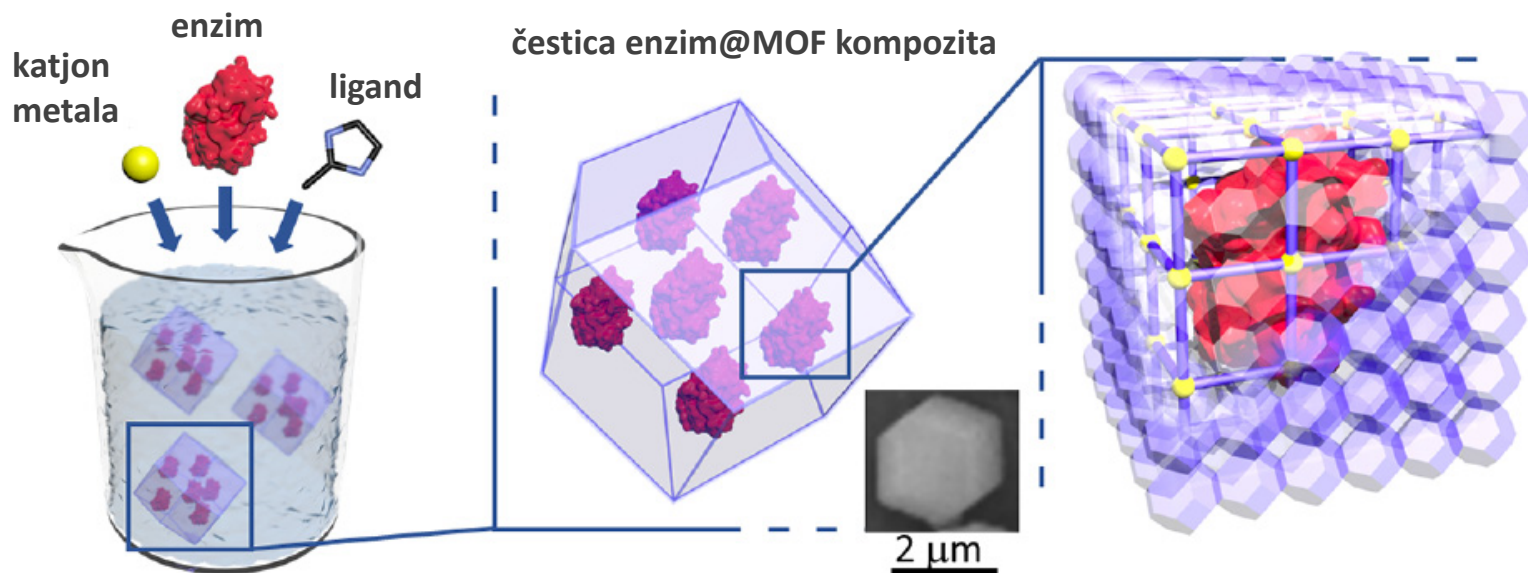


kutinaza@NU-1000

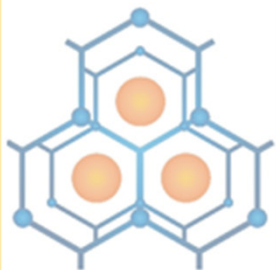


Enzim enkapsuliran u strukturi MOF-a

Metoda biomimetičke mineralizacije



- Jeftin i brz proces
- Enzim je klica kristalizacije MOF-a
- Enzim je defekt u strukturi MOF-a
- Uspešnost procesa zavisi od naelektrisanja na površini enzima ($pI \sim Z_{\text{potencijal}}$)



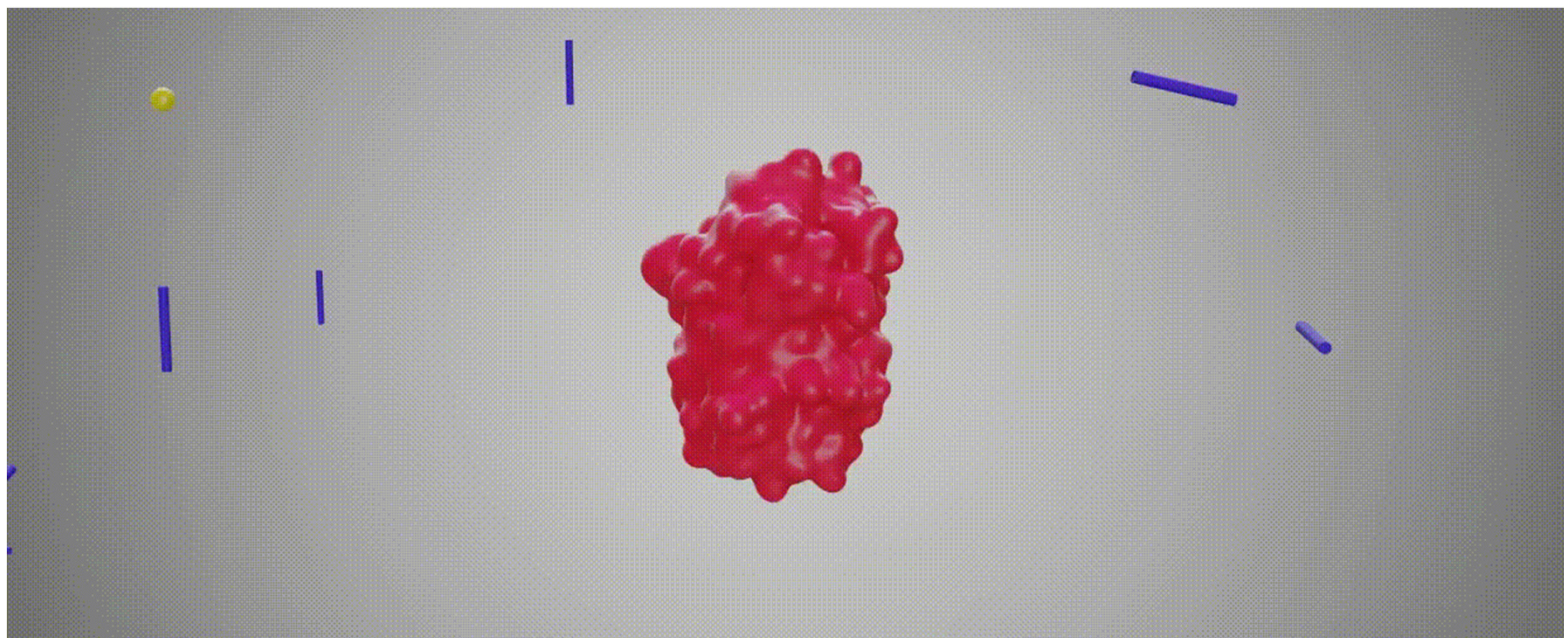
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Enzim enkapsuliran u strukturi MOF-a

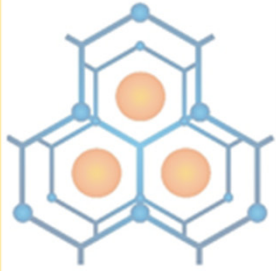
Proces biomimetičke mineralizacije



Izvor:

https://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.chemrev.0c01029/suppl_file/cr0c01029_si_008.mp4

Chem. Rev. 2021, **121**, 1077–1129.



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

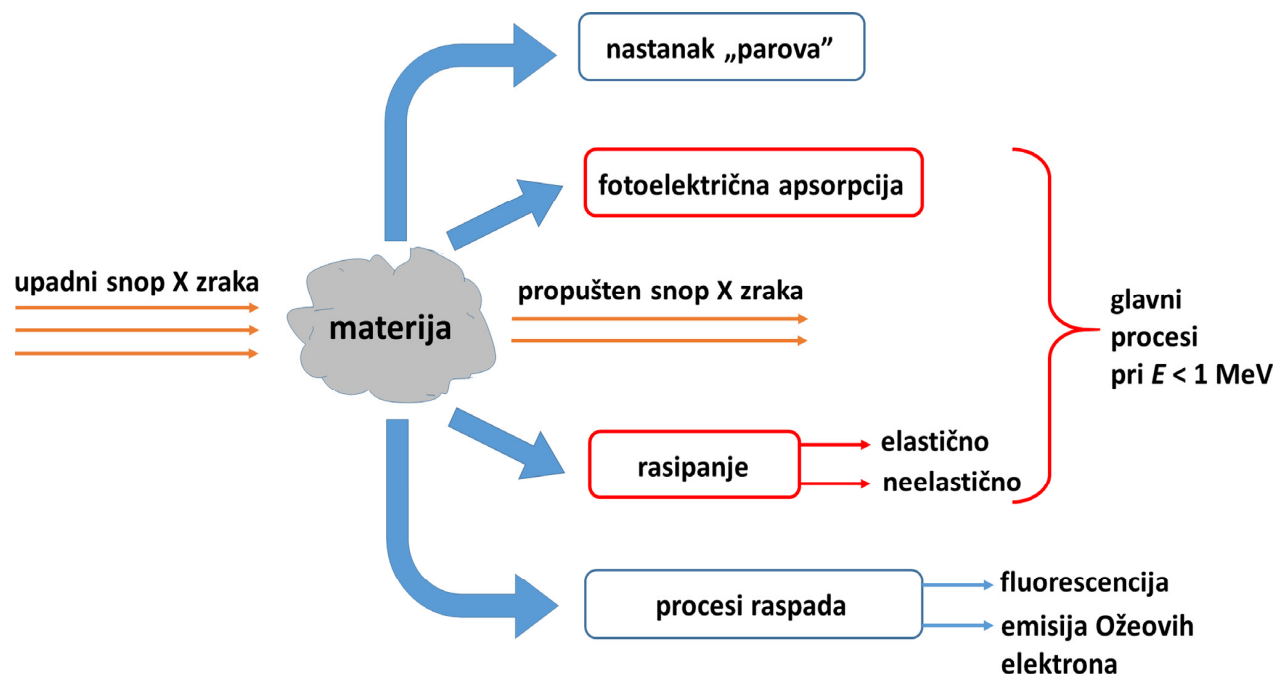
Hemijske metode karakterizacije

- Spektroskopske tehnike (NMR u čvrstom stanju, IR spektroskopija, Ramanova spektroskopija)
- Difrakcione tehnike (difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova)
- Mikroskopske tehnike (TEM, SEM)
- ICP-OES
- ...



Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

Difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova

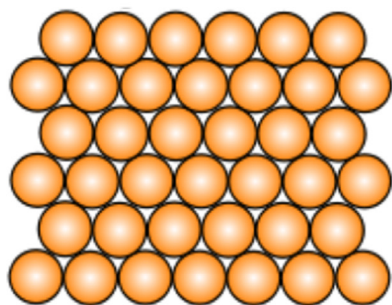


Važniji fenomeni koji se dešavaju prilikom interakcije X-zraka sa materijom

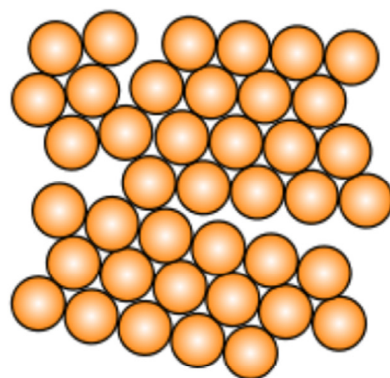


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

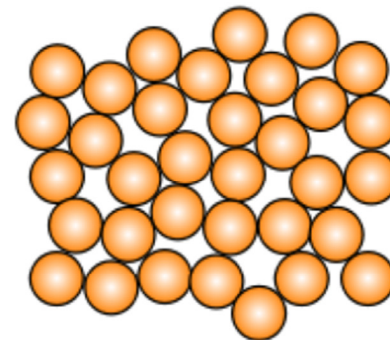
Difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova



Monokristali
uređenost dugog dometa



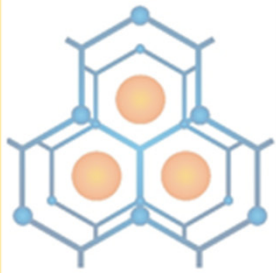
Polikristali
(mikrokristali, prahovi)
uređenost u segmentima



Amorfne supstance
nema
uređenosti dugog dometa,
niti uređenosti u
segmentima

Čvrste kristalne supstance čine oko 95% čvrstih supstanci

Uređenost čvrstih supstanci



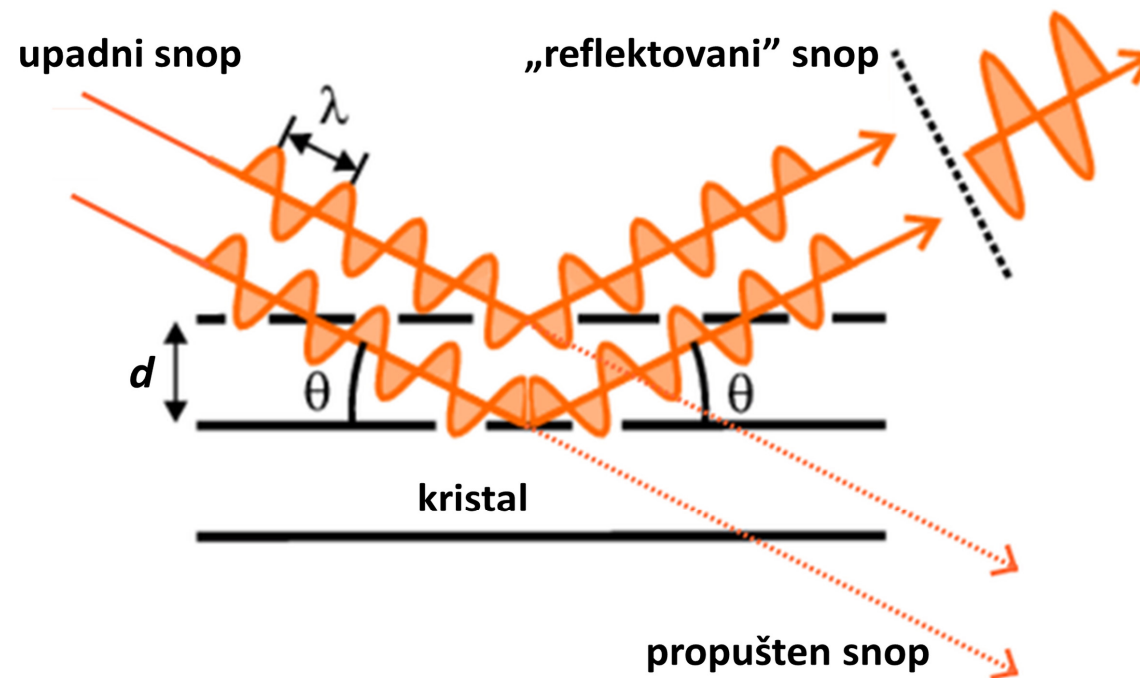
Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

Difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova

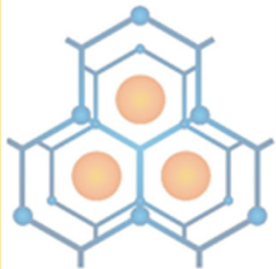
Bragov zakon

$$n\lambda_{\text{CuK}\alpha} = 2d_{\text{hkl}} \sin\theta_{\text{hkl}}$$

n – ceo broj koji predstavlja red refleksije
 $\lambda_{\text{CuK}\alpha}$ – talasna dužina upotrebljenih X zraka
 d_{hkl} – međuravansko rastojanje seta hkl ravni
 θ_{hkl} – ugao koji upadni snop X zraka zaklapa sa posmatranom hkl ravni

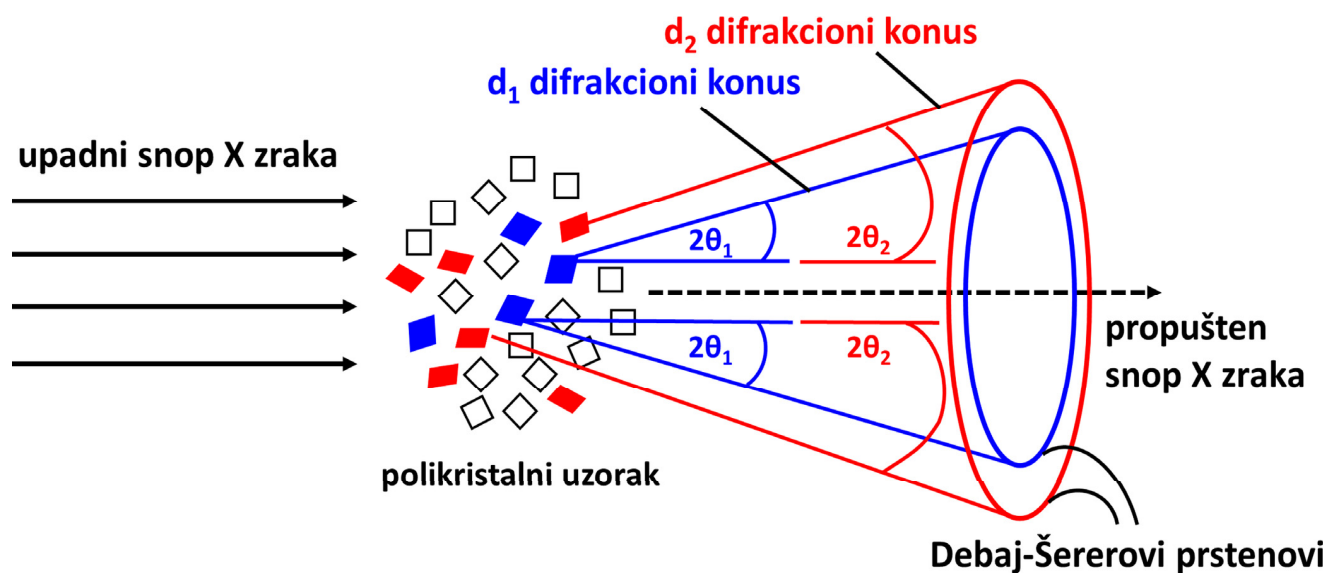


Shematski prikaz procesa difrakcije sa kristala prema Bragu

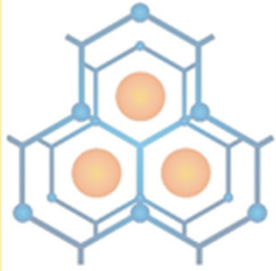


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

Difrakcija rendgenskih zraka sa uzorka prahova



Shematski prikaz procesa difrakcije sa polikristalnog uzorka (uzorka praha)



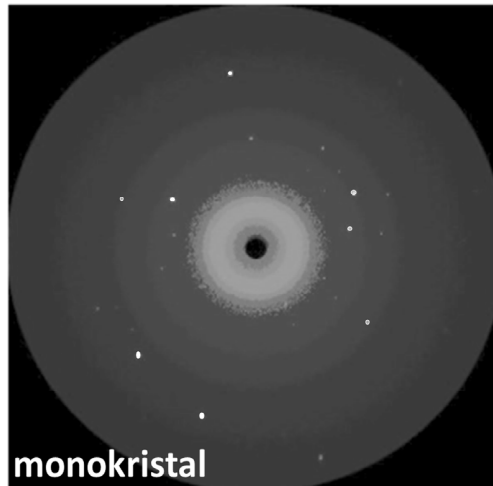
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

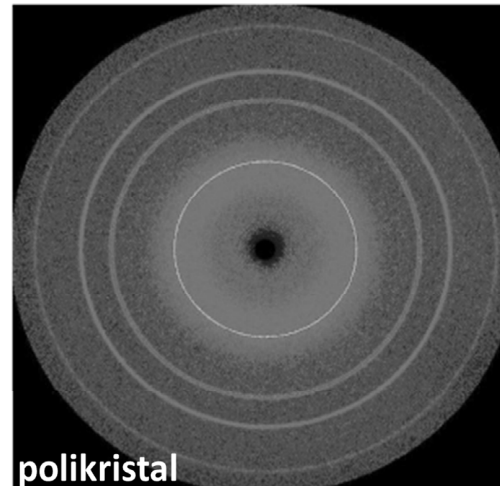


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

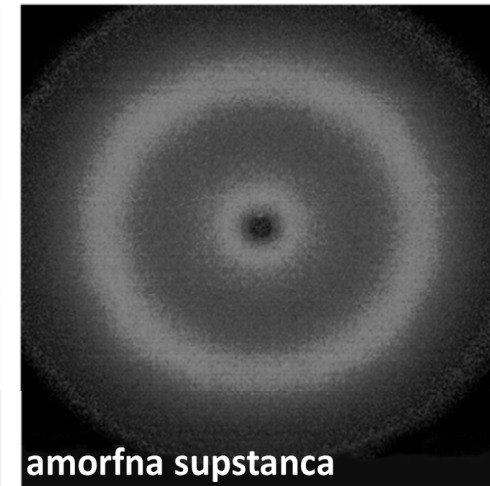
Difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova



monokristal

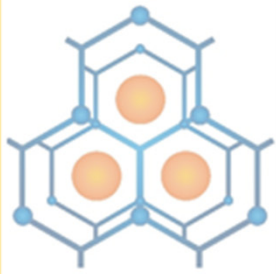


polikristal



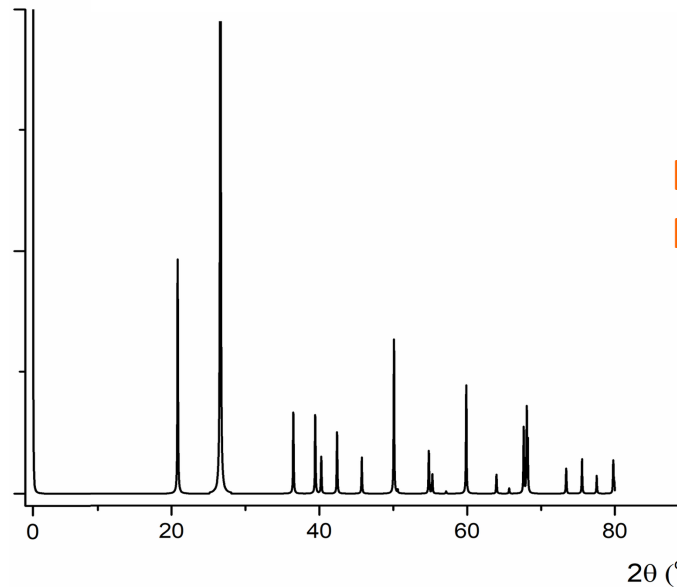
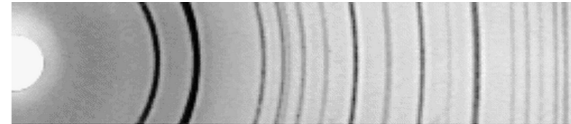
amorfna supstanca

Difrakcioni šabloni monokristala, polikristala (praha) i amorfne supstance



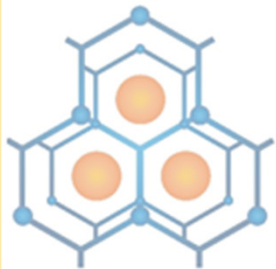
Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

Difrakcija rendgenskih zraka sa uzoraka prahova



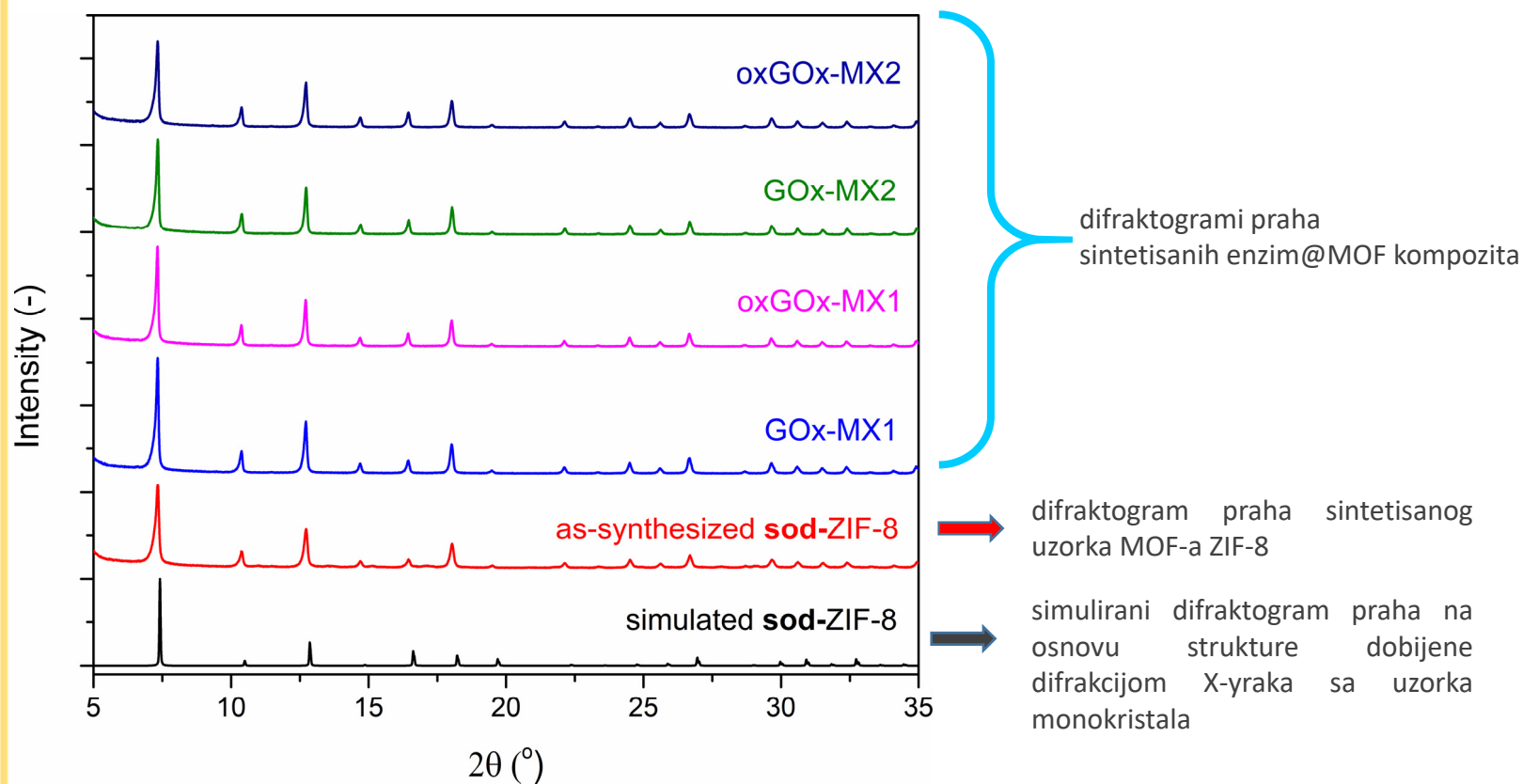
Difraktogram praha
NIJE SPEKTAR!

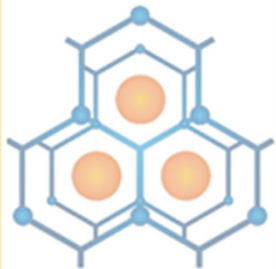
Deo difrakcionog šablona polikristalnog uzorka na fotografskom filmu kao detektoru, gde su vidljivi delovi Debaj-Šererovih prstenova (gore). Difraktogram praha istog uzorka se dobija integraljenjem intenziteta, tako da se na x-osi nalaze 2θ vrednosti uglova refleksija (u°), a na y-osi su intenziteti tih refleksija izraženi u proizvoljnim jedinicama (dole). Stoga se često naziv veličine na y-osi izostavlja.



Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

Poređenje difraktograma praha čistog MOF-a sa difraktogramima prahova enzim@MOF kompozita





Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

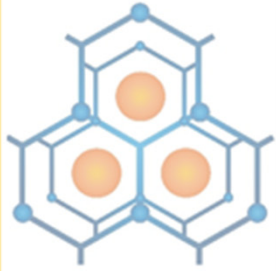
SEM i TEM mikroskopija



Skenirajući elektronski mikroskop (SEM)



Transmisioni elektronski mikroskop (TEM)

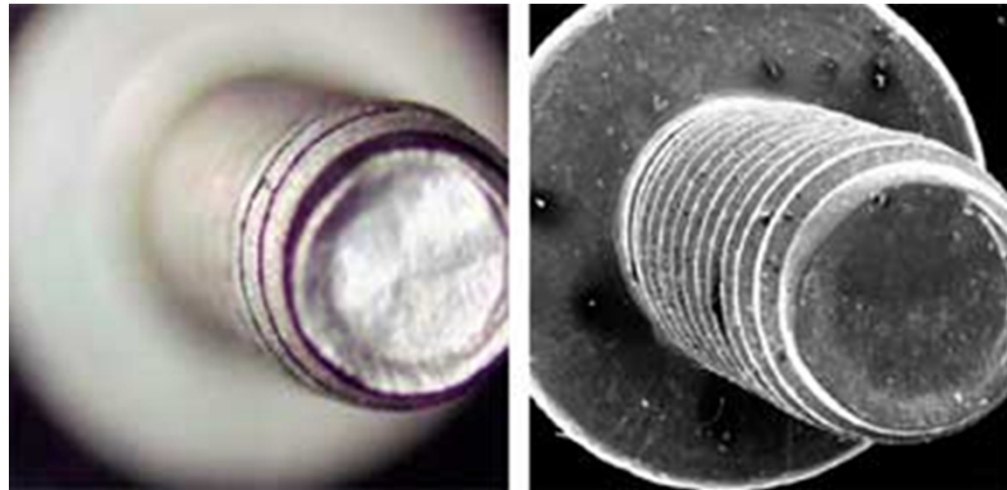


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

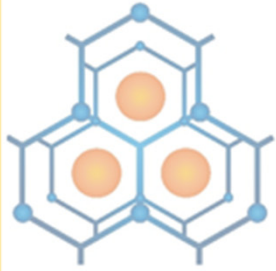
SEM

SEM obično ima nekoliko redova veličina bolju dubinu fokusa od optičkog mikroskopa što ga čini pogodnim za proučavanje hrapavih/neravnih površina.

Što je veće uvećanje, niža/manja je dubina fokusa.



Optička mikroskopija vs SEM



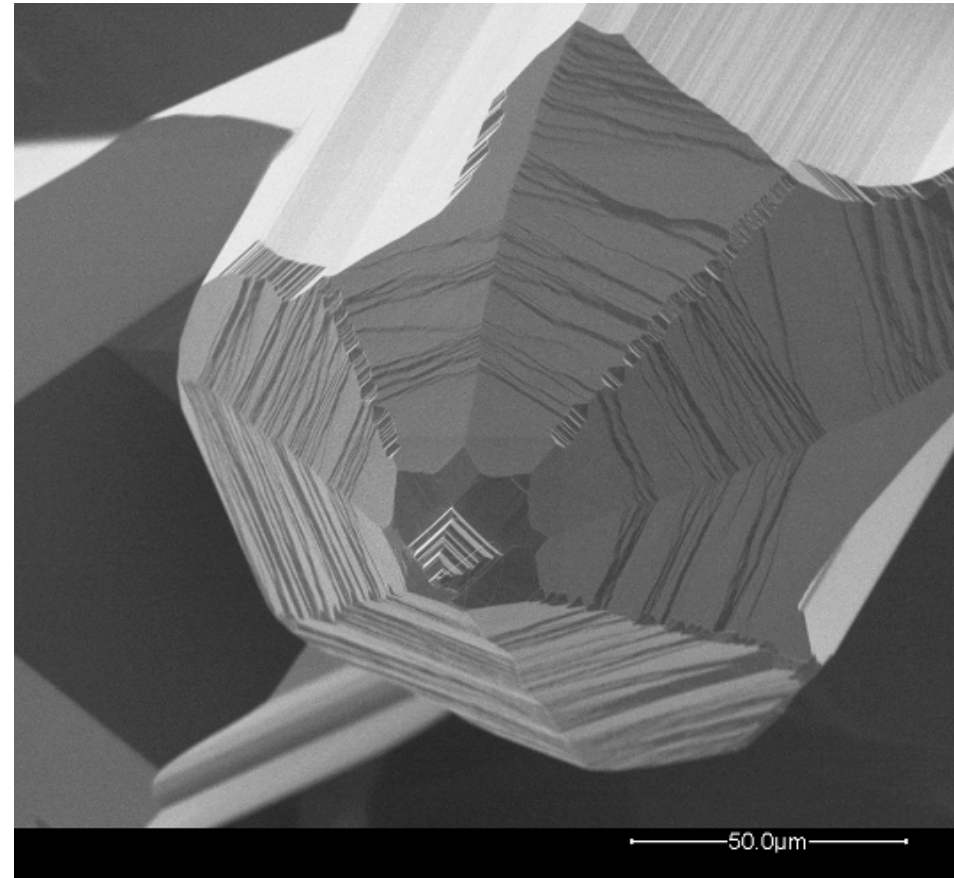
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

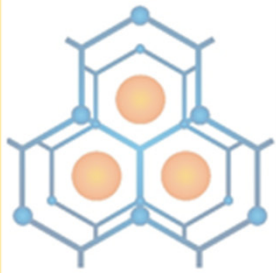


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

SEM – topografija i morfologija



SEM elektronski mikrograf

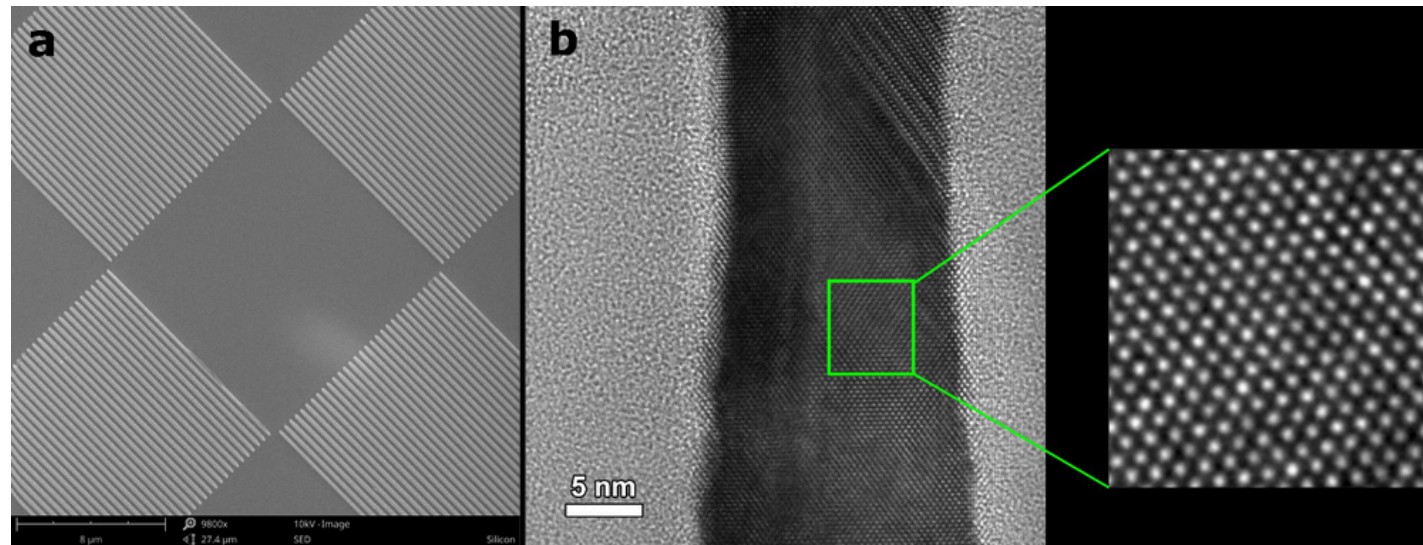


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

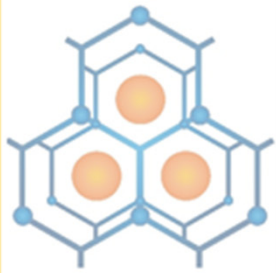
SEM vs TEM

Uvećanje koje omogućava TEM je mnogo veće u poređenju sa SEMom. Kod TEM-a uzorci se mogu uvećati za više od 50 miliona puta, dok je za SEM ovo ograničeno na 1-2 miliona puta.

Međutim, maksimalno vidno polje koje SEM može postići je daleko veće od TEM-a, što znači da se kod TEM-a mogu slikati samo vrlo mali delovi uzorka. Slično tome, dubinska oštrina SEM sistema je mnogo veća nego u TEM sistemima.



Elektronske mikroskopske slike silicijuma. SEM slika (a) pruža informacije o morfologiji površine, dok TEM slika (b) otkriva strukturne informacije o unutrašnjosti uzorka.



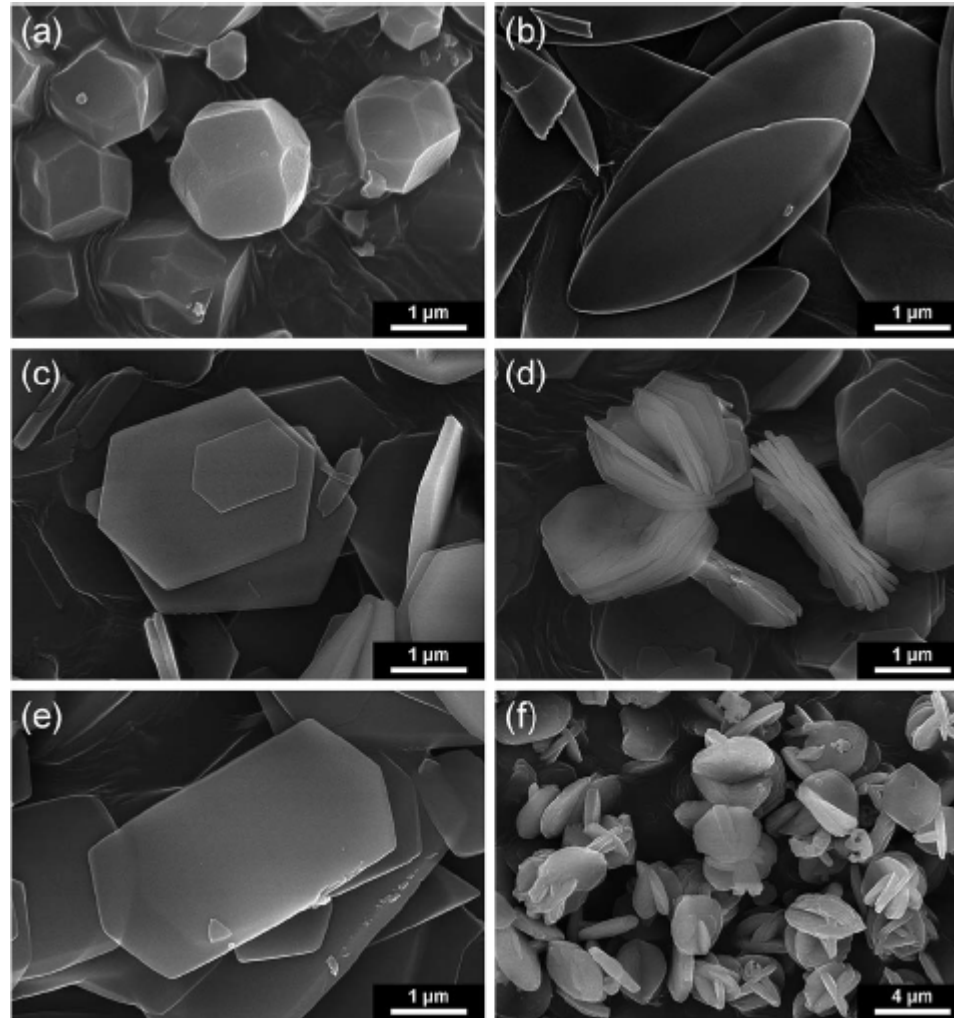
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

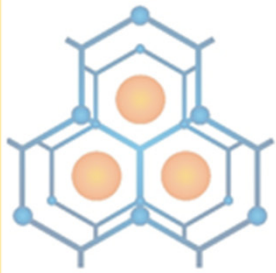


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

SEM



SEM mikrografi različitih polimorfa MOF-a ZIF-8. Svi polimorfi imaju isti hemijski sastav, ali različit način pakovanja strukturnih jedinica u kristalima i stoga imaju različitu morfologiju (oblik).



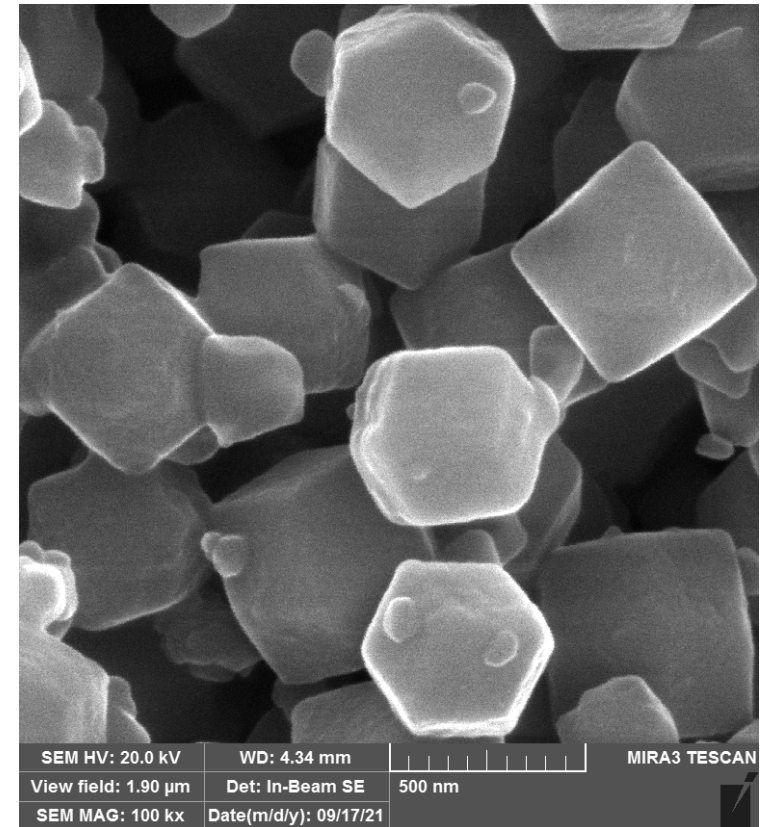
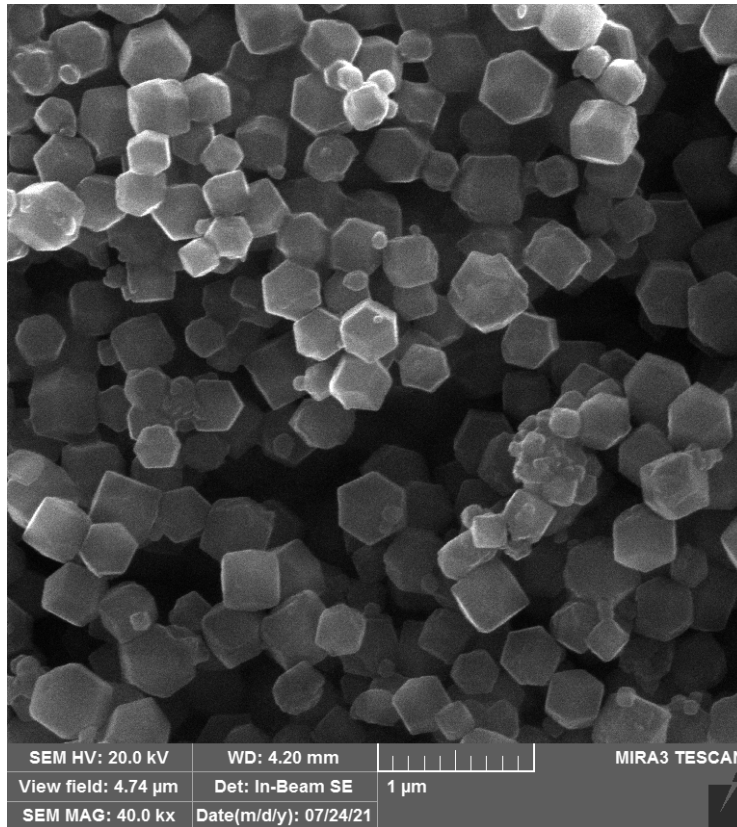
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

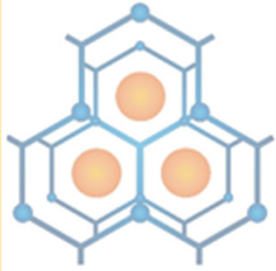


Metode karakterizacije enzim@MOF kompozita

SEM



SEM mikrografi istih uzoraka enzim@MOF kompozita pre ispiranja (levo) i nakon ispiranja SDS-om (desno).



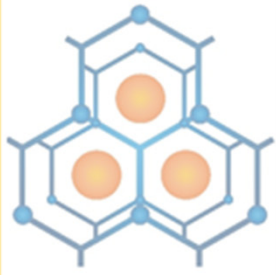
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Stabilizacioni faktori

- Hemijske veze (disulfidni mostovi);
- elektrostatičke interakcije
- Van-der-Waals-ove interakcije
- Vodonične veze;
- Hidrofobni efekat (Entropijski efekat)

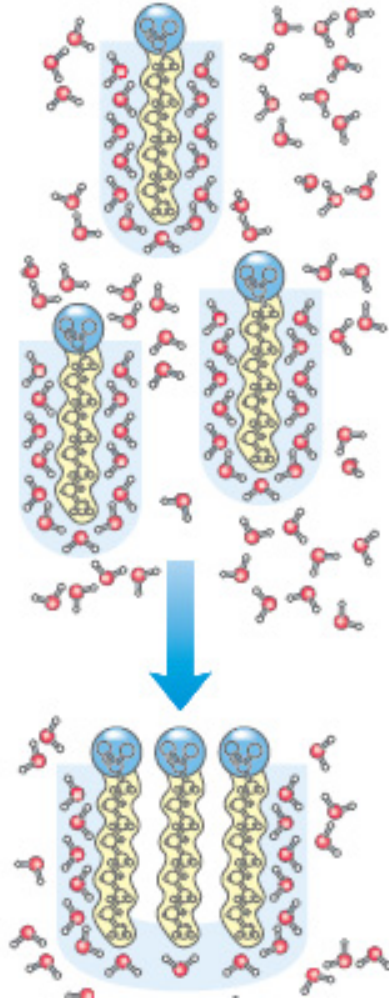


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Hidrofobni efekat



Slika 1. Težnja molekula vode da smanje dodirnu površinu sa nepolarnim supstancama zbog entropije

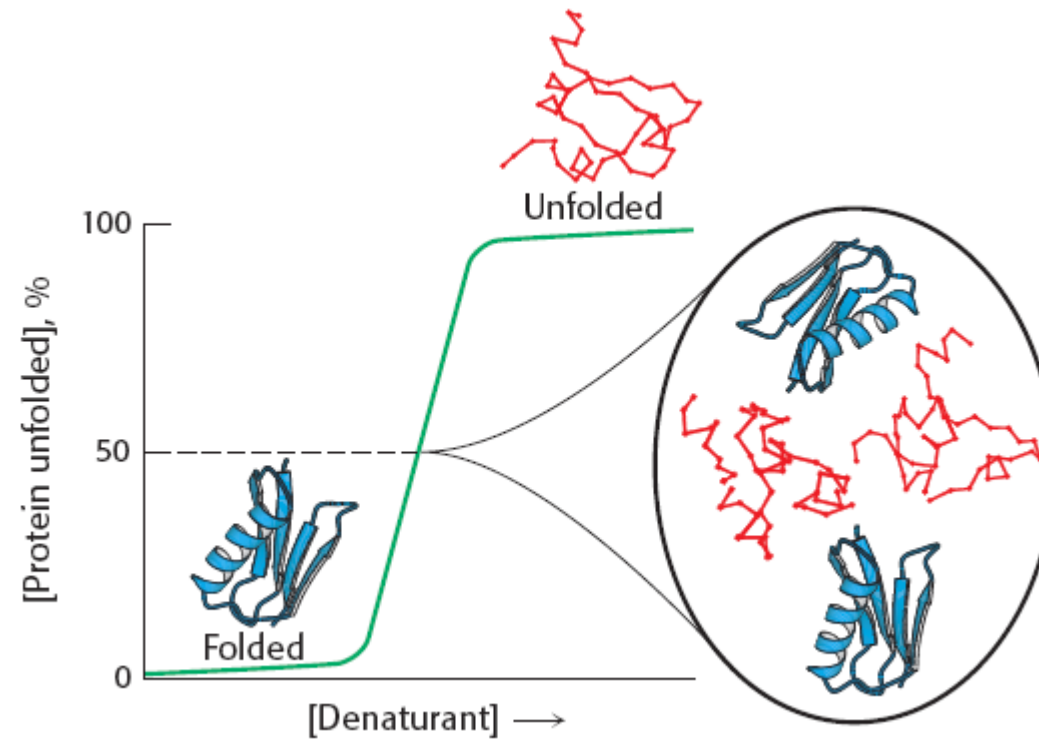


Symbiosis

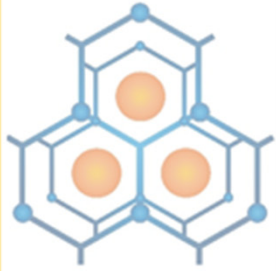
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Razvijanje proteina – kooperativan proces



Slika 2. Kooperativni efekat denaturacije proteina



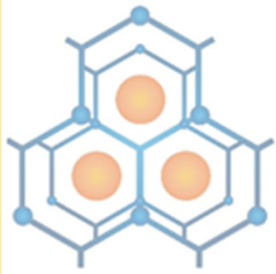
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Denaturišući agensi

- Toplota
- Voda-vazduh dodirna površina (pena)
- Deterdženti
- Organski rastvarači plus toplota
- Haotropni agensi (urea, guanidium hlorid)
- Ekstremni pH
- Veliko razblaženje



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



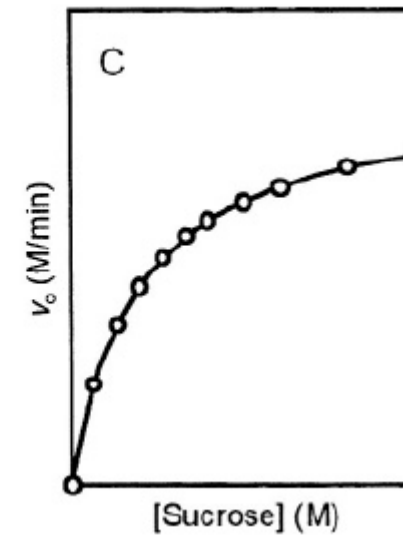
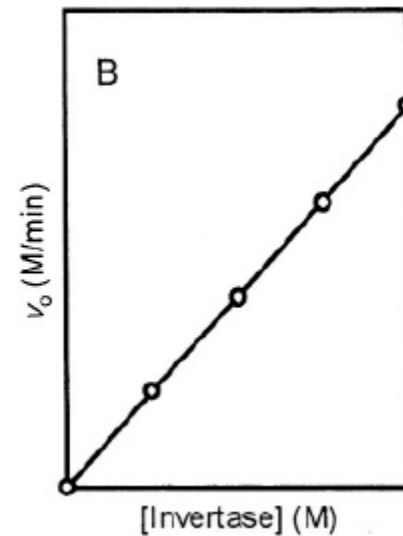
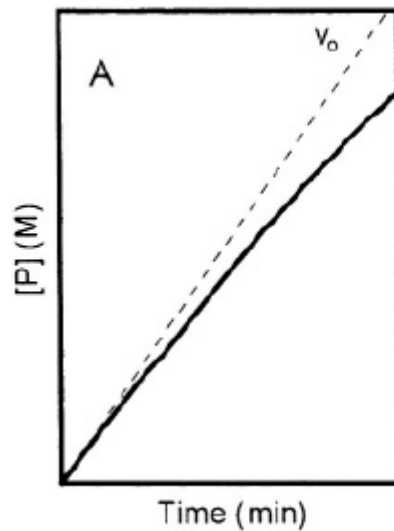
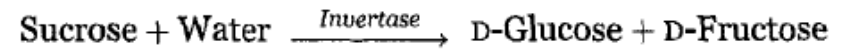
Michaelis-Mentenina Enzimaska Kinetika

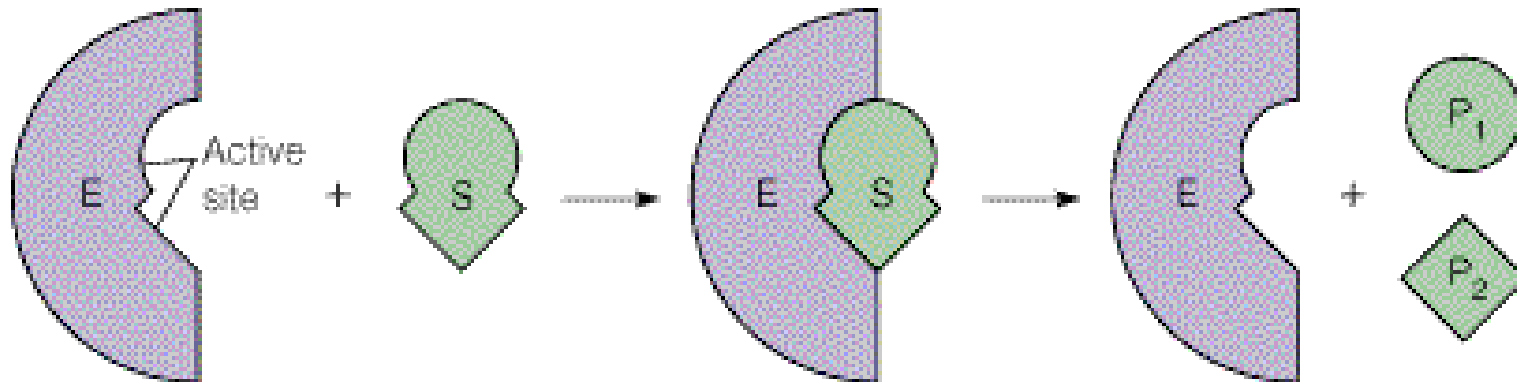
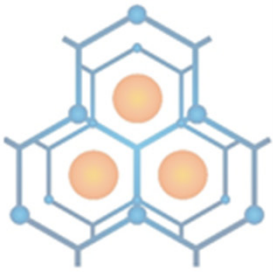


Leonor Michaelis
1875-1949

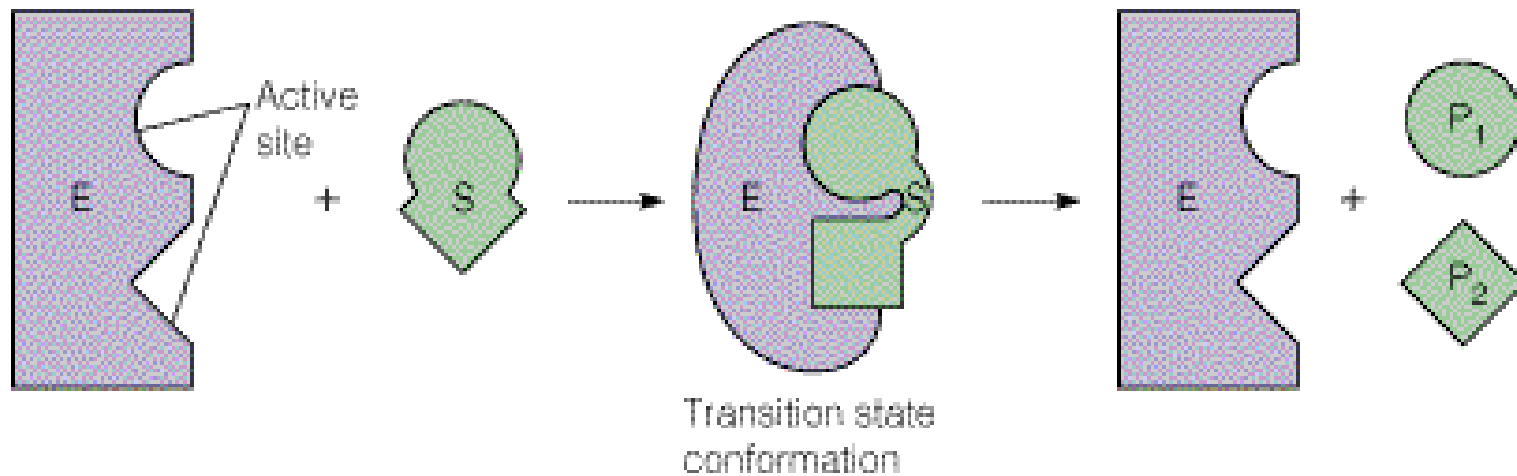


Maud Menten
1879-1960

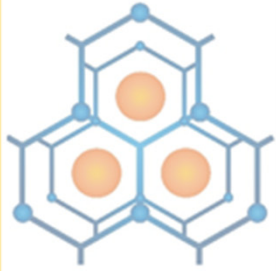




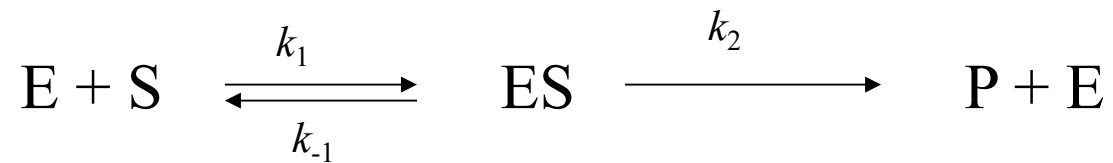
(a) Lock-and-key model



Slika 3. Shematski prikaz enzimske katalize



Michaelis-Mentenina Enzyme kinetics



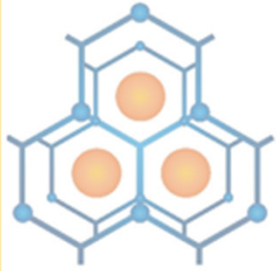
Glavna karakteristika prisustvo nekovalentnog enzim-supstrat kompleksa (ES).

k_1 je konstanta brzine reakcije formiranja ES (brzina = $k_1[E][S]$)

k_{-1} je konstanta brzine reakcije disocijacije ES (brzina = $k_{-1}[ES]$)

Ukupna brzina reakcije je:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_{cat} [ES]$$



Michaelis-Mentenina Enzimaska Kinetika

Jednačina je hiperbola. Kako se $[S] \rightarrow \infty$, $v \rightarrow k_{cat}[E]_{tot}$ što se definiše sa V_{max} .

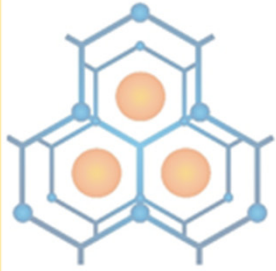
$$v_{max} = k_{cat}[E]_{tot}$$

$$v = k_{cat}[ES] = \frac{k_{cat}[E]_{tot}}{1 + K_S/[S]}$$

$$v = \frac{v_{max}}{1 + K_S/[S]}$$

$$1 \ll \frac{K_S}{[S]} \text{ and } v \rightarrow \frac{v_{max}}{K_S} [S]$$

$$1 \gg \frac{K_S}{[S]} \text{ and } v \rightarrow v_{max}$$



Symbiosis

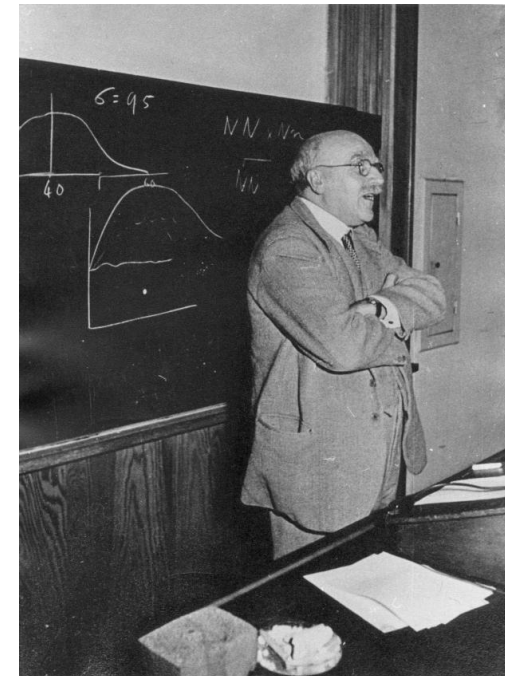
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



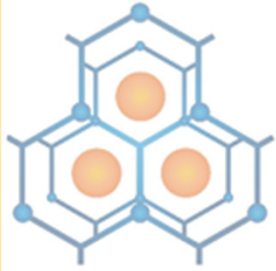
Briggs-Haldane Enzimaska Kinetika



Ne možemo uvek pretpostaviti da su k_1 i k_{-1} obe mnogo brže od k_{cat} .



JBS Haldane

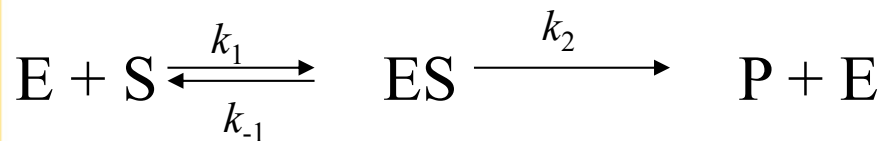


Briggs-Haldane Enzimaska Kinetika

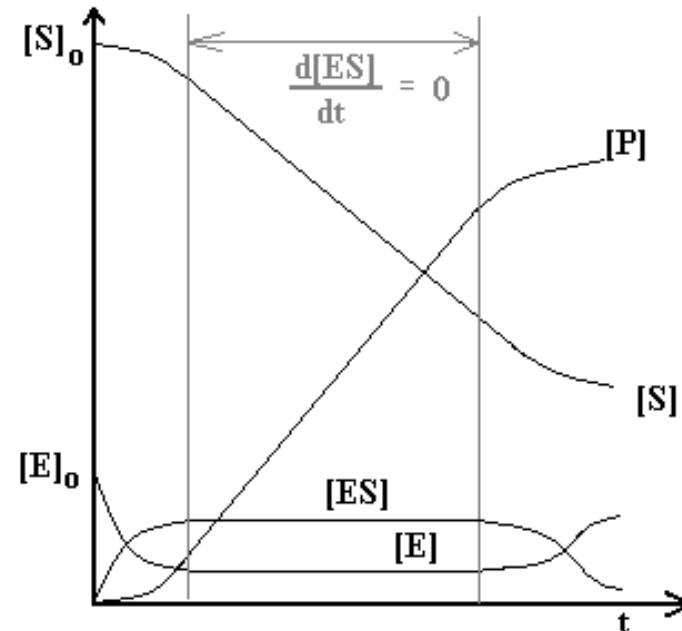
Umesto pretpostavke ravnoteže E, S and ES, postavlja se hipoteza *steady state* stanja. Pretpostavljamo (da za $[S]_0 \gg [E]_{tot}$) reakcija brzo dostiže stanje gde je koncentracija [ES] konstantna.

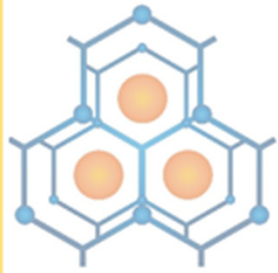
Pretpostavljamo da je : $\frac{d[ES]}{dt} = 0$

Shema reakcije je:



i brzina reakcije je, $v = k_{cat}[ES]$.





Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Briggs-Haldane Enzimaska Kinetika

Oba mehanizma daju identičnu finalnu jednačinu:

$$v = \frac{v_{\max}}{1 + K_S/[S]}$$

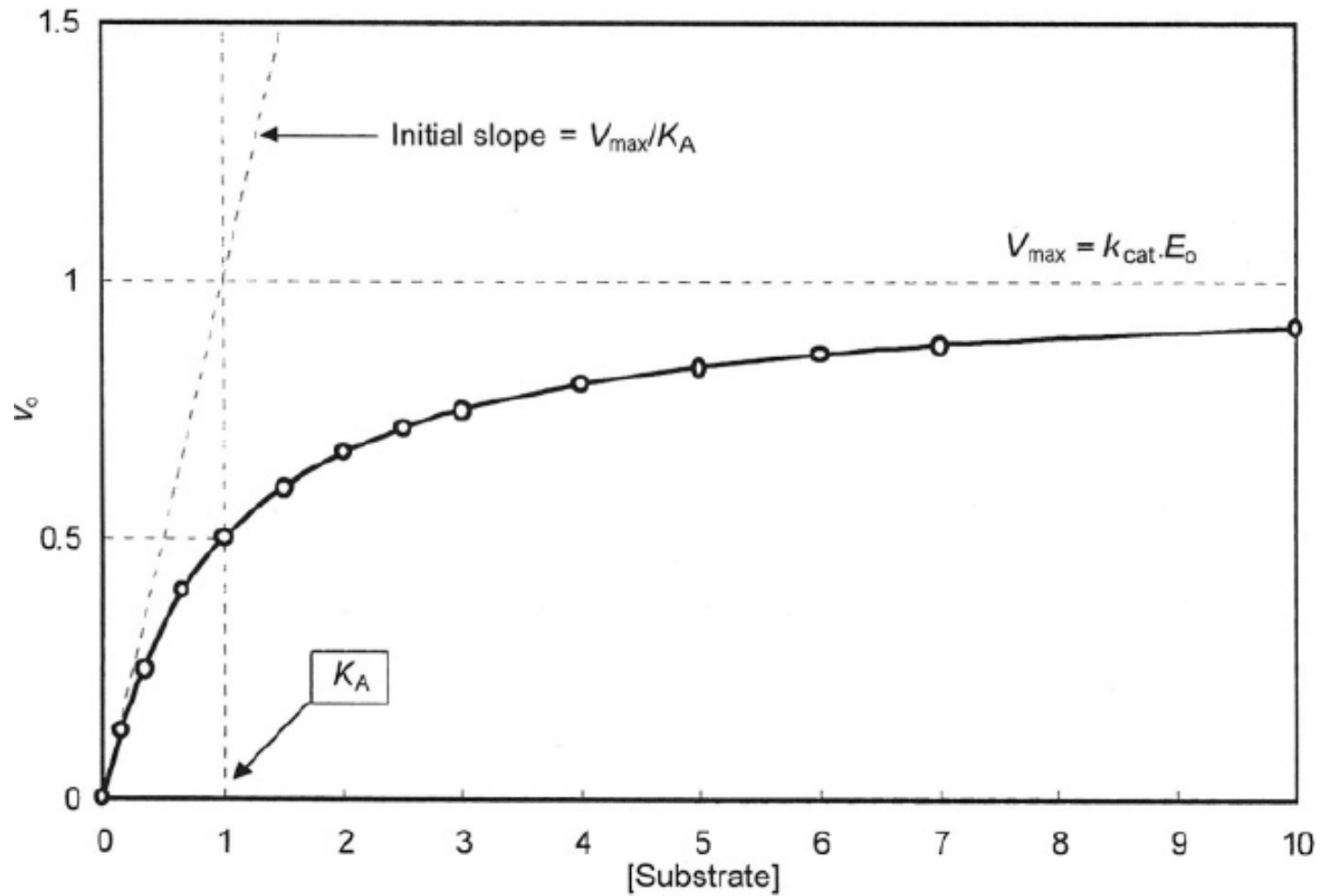
Michaelis-Menten

$$v = \frac{v_{\max}}{1 + K_M/[S]}$$

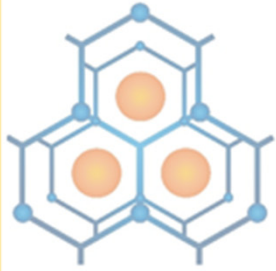
Briggs-Haldane



Michaelis-Mentenina hiperbola



$$v = \frac{v_{\max}}{1 + K_M/[S]}$$



Značaj kinetičkih parametara

V_{\max} je maksimalna brzina reakcije

k_{cat} je katalitička konstanta

K_M je Mihaelisova konstanta

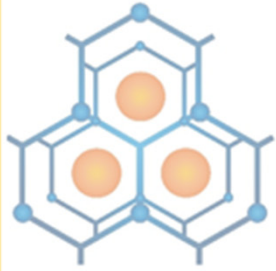
k_{cat}/K_M je konstanta specifičnosti

$$k_{\text{cat}} = \frac{V_{\max}}{E_0}$$

Prometni broj je V_{\max} podeljeno sa brojem aktivnih mesta u enzimu

$$v_0 = \left(\frac{k_{\text{cat}}}{K_A} \right) E_0 A$$

$$v = k_{\text{cat}} [ES] = \frac{k_{\text{cat}} [E]_{\text{tot}}}{1 + K_M/[S]} = \frac{v_{\max}}{1 + K_M/[S]}$$



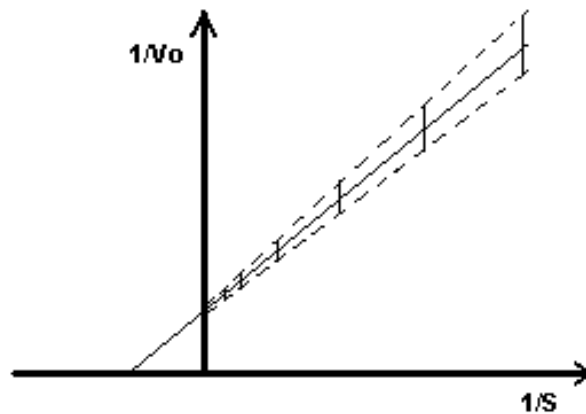
Izračunavanje K_m i V_{max}

$$\frac{1}{V_o} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]}$$

$$\frac{[S]}{V_o} = \frac{[S]}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}}$$

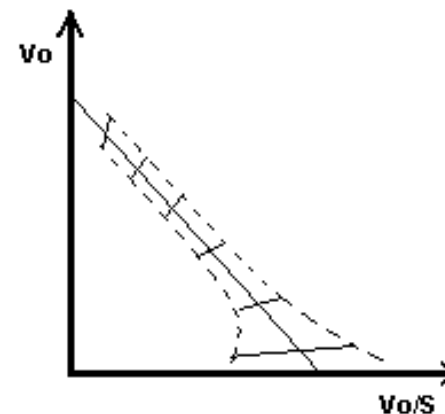
$$V_o = V_{max} - K_m \frac{V_o}{[S]}$$

Lineweaver-Burk



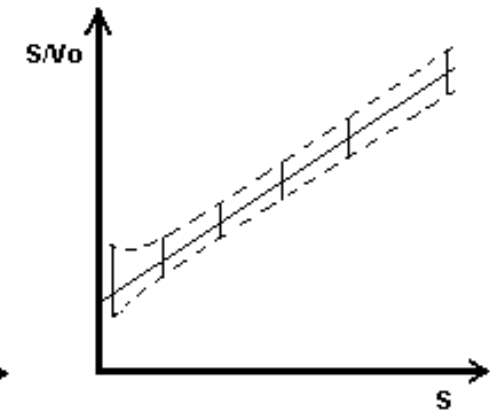
Lineweaver-Burk

Hanes

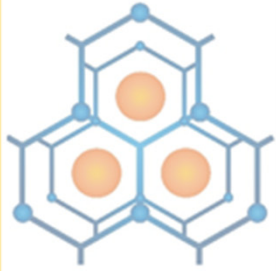


Eadie-Hofstee

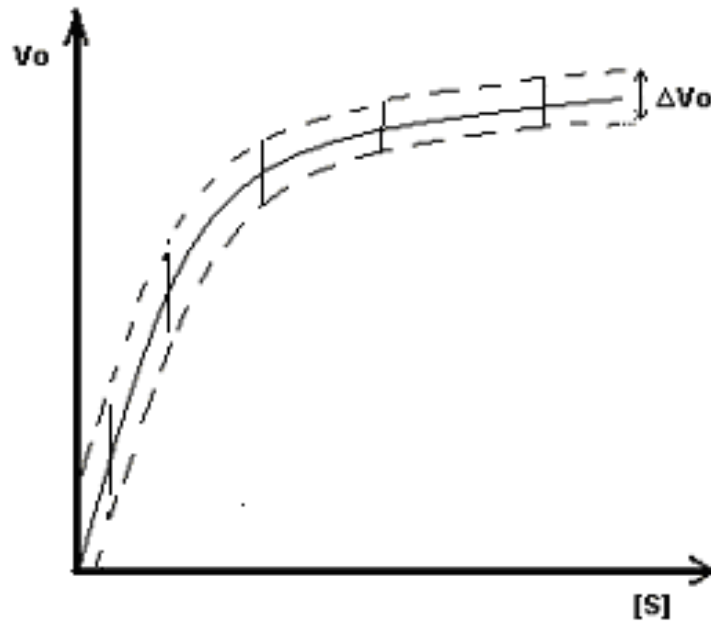
Eadie-Hofstee



Hanes

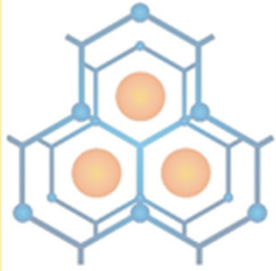


Izračunavanje K_m i V_{max}



- ENZFITTER (Sigma-Aldrich)
- MATLAB (The Math Works Inc.)
- ORIGIN (OriginLab, Massachusetts)
- SIGMAPLOT (SPSS Science, Chicago, Illinois)
- PRISM (GraphPad Software, San Diego, California)

Statistically most relevant data in range: $0,2K_m - 5K_m$

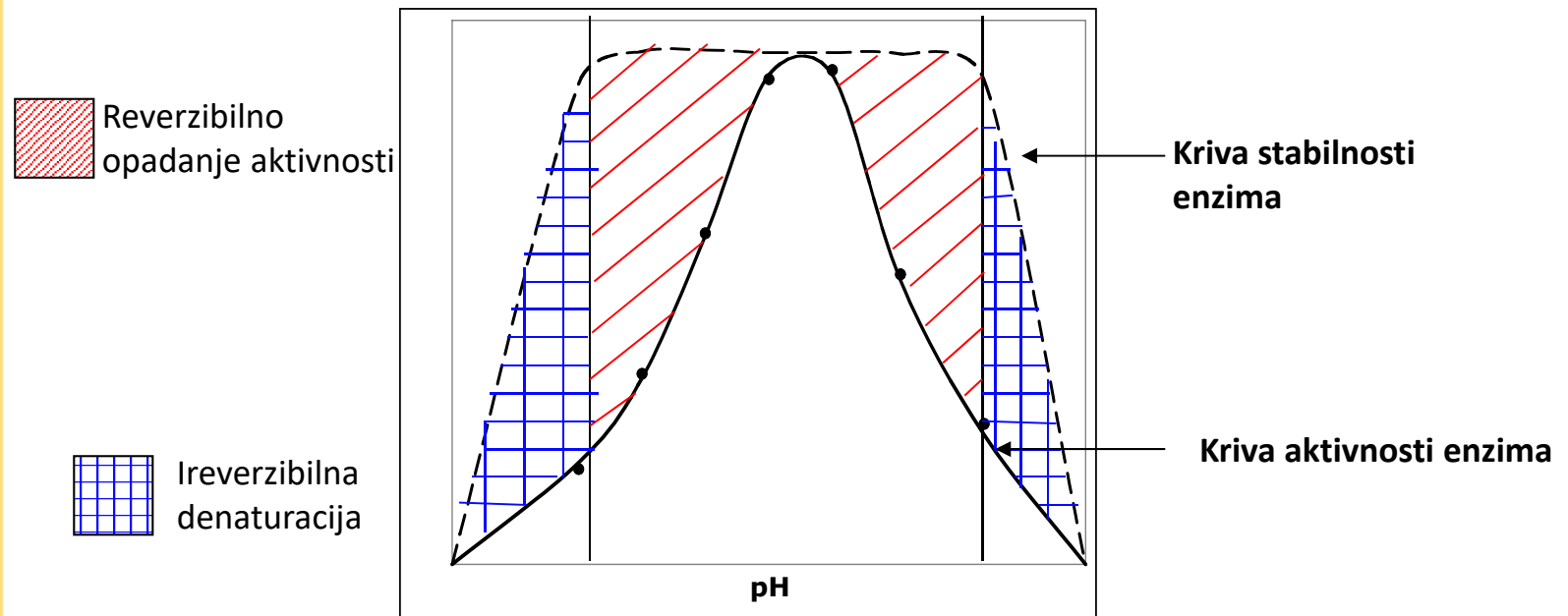


pH aktivnost i stabilnost

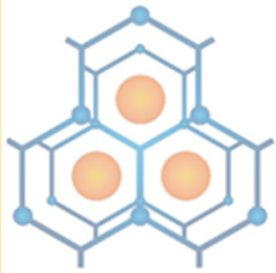
pH može imati dva efekta na enzim:

Pri ekstremnim pH, enzim se ireverzibilno denaturize i gubi aktivnost

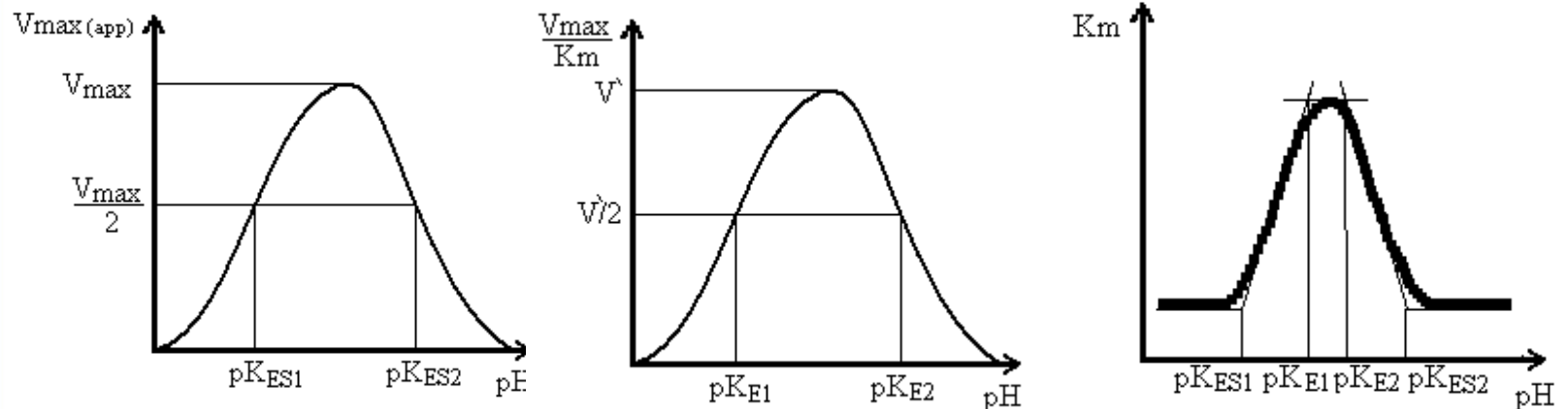
pH može reverzibilno promeniti kinetiku enzima menjanjem jonizacionog stanja amino kiselina u aktivnom mestu enzima



Slika 4. uticaj pH na aktivnost i stabilnost enzima



Uticaj pH na enzimsku aktivnost



$$V_{max}^* = V_{max} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{es1}} + \frac{K_{es2}}{[H^+]} \right)^{-1}$$

$$K_s^* = K_s \frac{1 + [H^+]/K_{e1} + K_{e2}/[H^+]}{1 + [H^+]/K_{es1} + K_{es2}/[H^+]}$$

$$\frac{V_{max}^*}{K_s^*} = \frac{V_{max}}{K_s} \left(1 + \frac{[H^+]}{K_{e1}} + \frac{K_{e2}}{[H^+]} \right)^{-1}$$

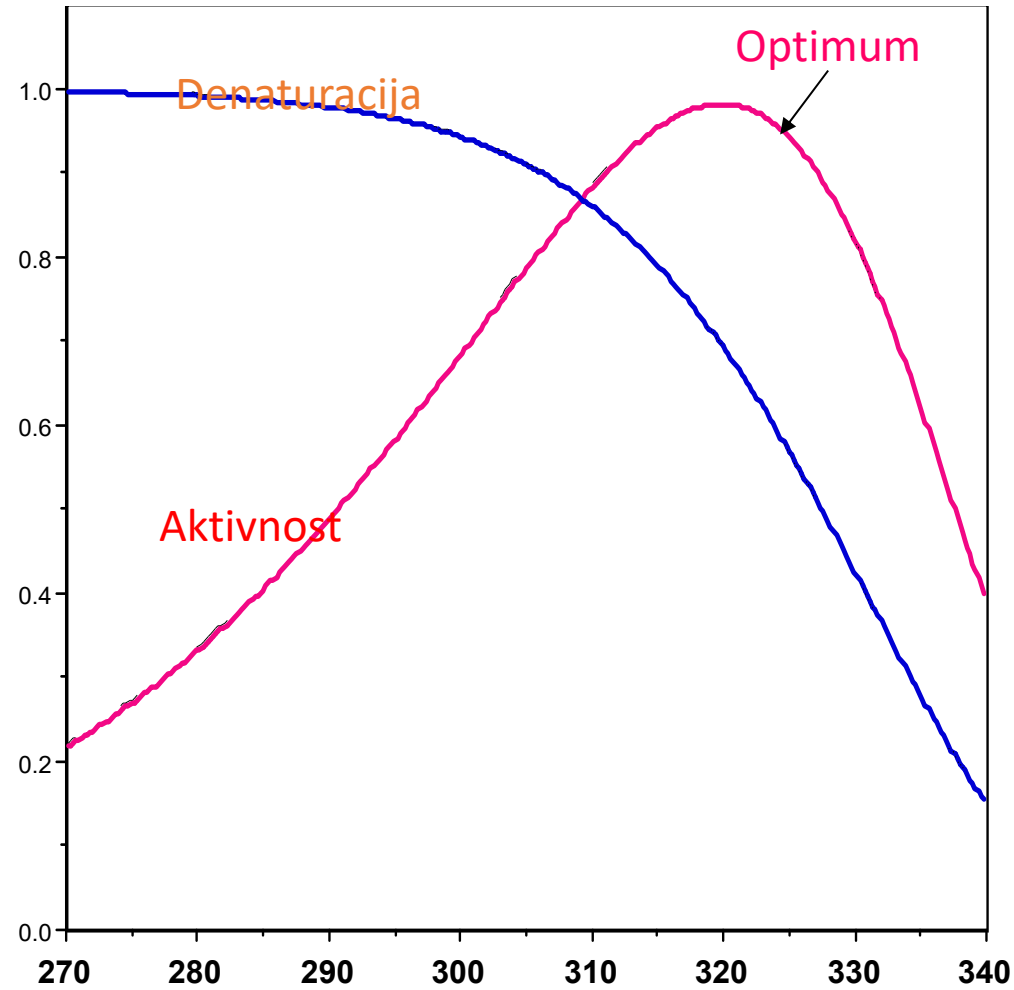


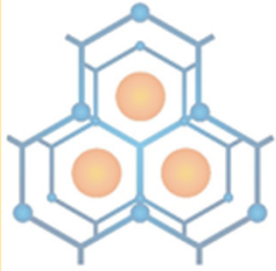
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Uticaj temperature na aktivnost enzima



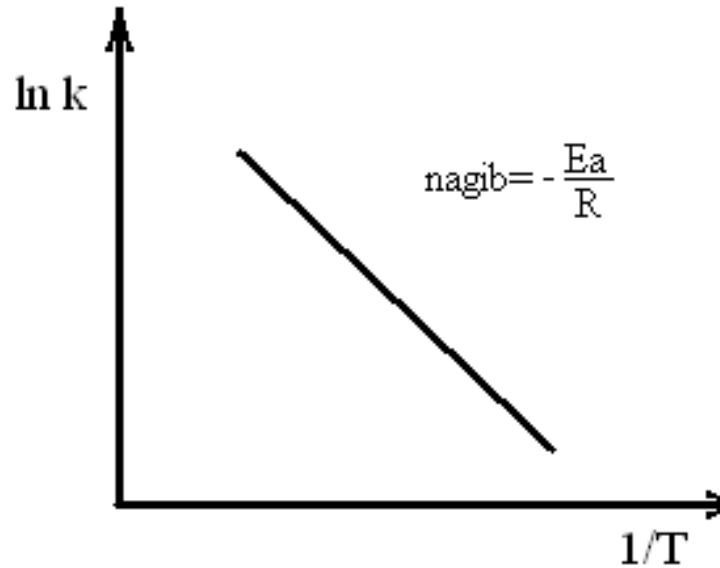


Symbiosis

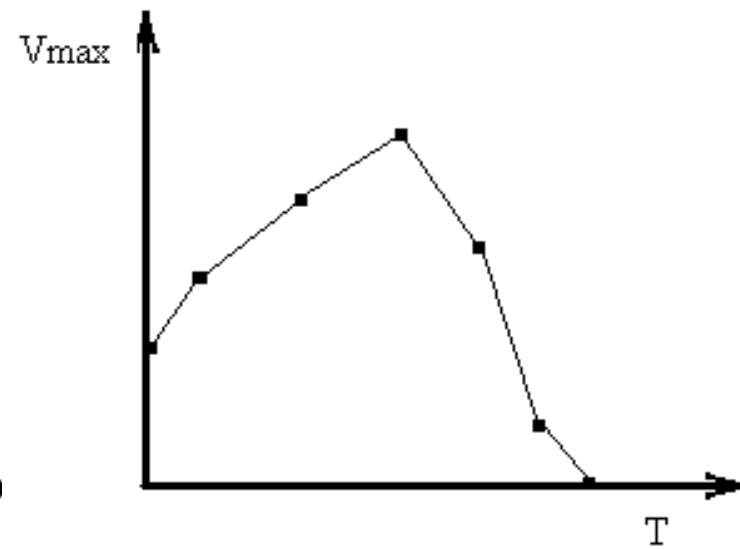
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Uticaj temperature na aktivnost enzima



$$k = A e^{-E_a/RT}$$



$$k_d = A_d * \exp(-E_a/R*T)$$

$$A_c(t) = A_{c0} e^{-kt}$$

Characterization of immobilized enzyme (IME)

Metod imobilizacije

1. Specifična aktivnost
2. Vezana aktivnost
3. Prinos imobilizacije
4. Polu-život
5. pH optimum

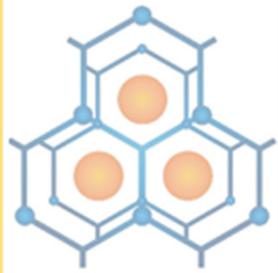
Imobilizat u reaktoru

1. Specifična produktivnost
2. Operativna stabilnost
3. Ukupna produktivnost



Difuziona ograničenja imobilizovanih enzima

- transfer supstrata i proizvoda do površine čestice (eksterna difuzija)
- transfer supstrata i proizvoda do površine čestice (eksterna difuzija)
- brzina enzima

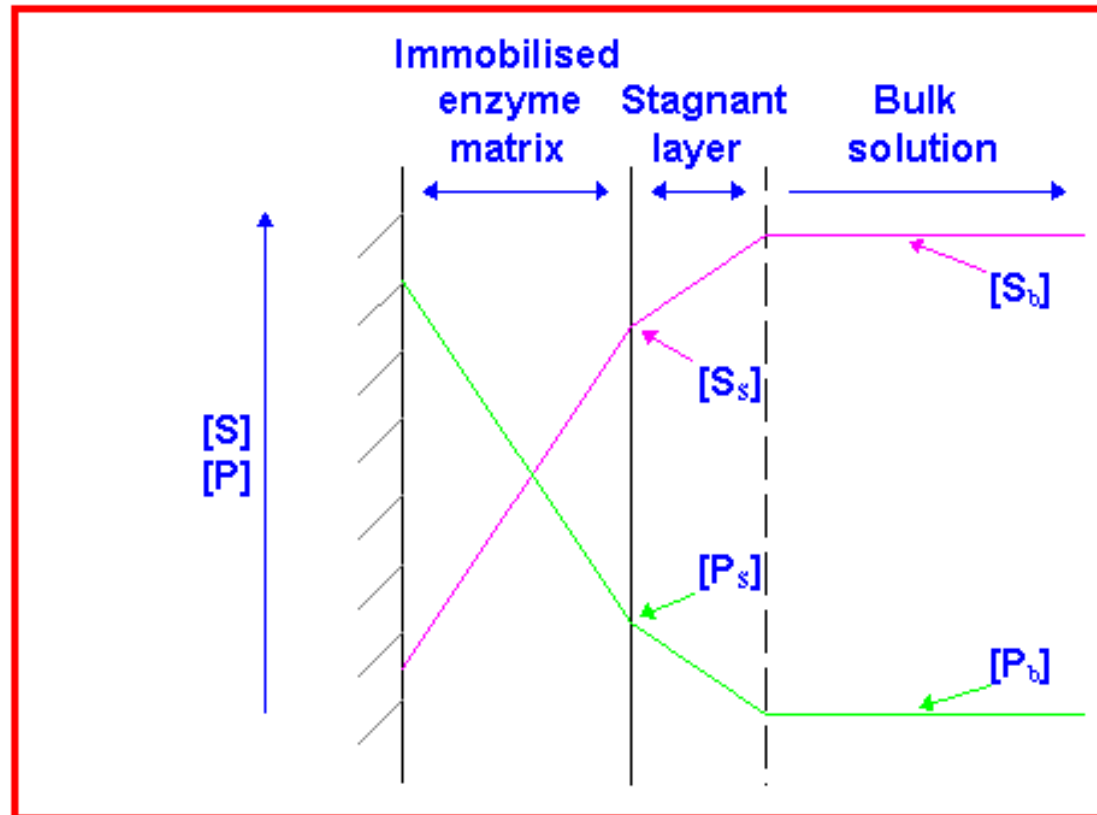


Symbiosis

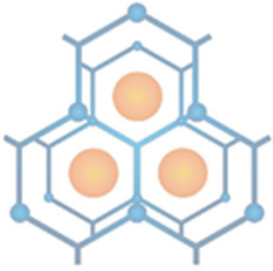
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Transfer mase



Slika 5. Grafički prikaz koncentracije supstrata i proizvoda kod imobilizovanih enzima

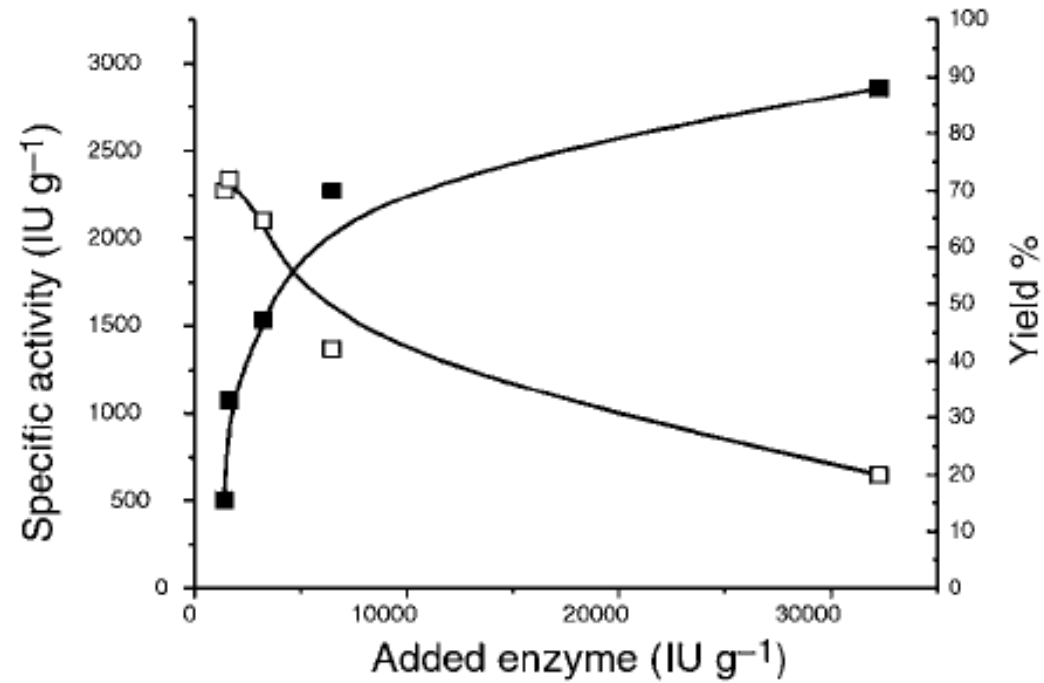


Symbiosis

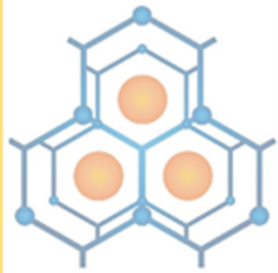
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Primer karakterizacije imobilizovanog enzima



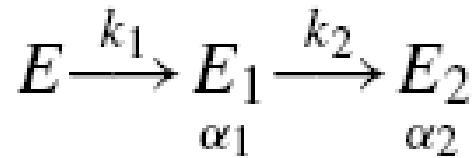
Slika 6. Zavisnost specifične aktivnosti i prinosa imobilizacije od količine dodatog enzima



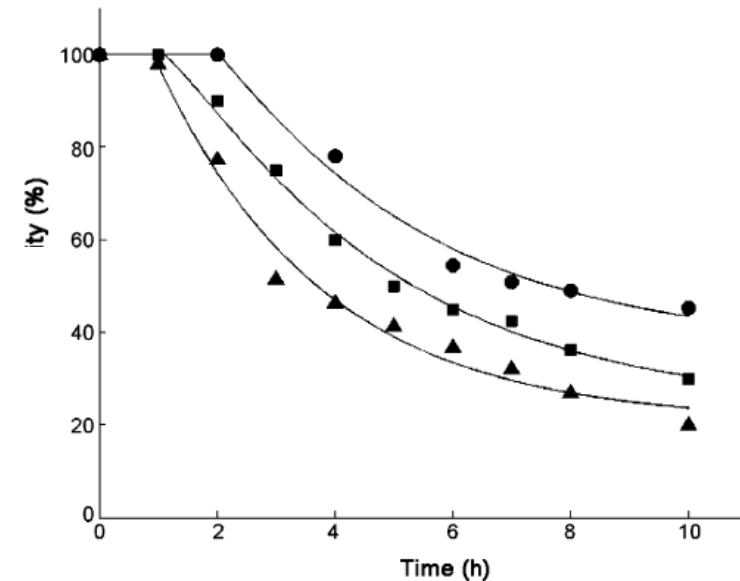
Stabilnost imobilizovanog enzima

$$A_t = A_0 e^{-kt}$$

$$A_t = A_{01} e^{-k_1 t} + A_{02} e^{-k_2 t}$$

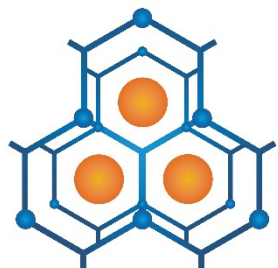


$$A = \left[100 + \frac{\alpha_1 k_1}{k_2 - k_1} - \frac{\alpha_2 k_2}{k_2 - k_1} \right] e^{-k_1 t} + \left[\frac{\alpha_2 k_1}{k_2 - k_1} - \frac{\alpha_1 k_1}{k_2 - k_1} \right] e^{-k_2 t} + \alpha_2$$



Biocatalyst	t (°C)	k_1 (h ⁻¹)	k_2 (h ⁻¹)	α_1	$\alpha_2(A_3)$	$t_{1/2}$ (h)	t_d (h)	F
Free lipase	37	0.46	0	29.4	30.0	2.68	–	1.0
	50	0.52	0	12.8	14.6	1.64	–	1.0
	75	3.19	0	3.8	3.8	0.23	–	1.0
Lipase immobilized on Eupergit® C via oxirane group	37	0.33	0	27.8	27.8	5.25	1.7	2.0
	50	0.48	0	11.6	11.6	3.41	1.7	2.1
	75	0.52	0.17	18.6	8.5	2.37	0.6	10.3
Lipase immobilized on amino-Eupergit® C via carbohydrate moiety	37	0.28	0.19	39.9	36.0	6.95	2.0	2.6
	50	0.37	0.09	40.8	14.9	5.20	1.2	3.2
	75	0.68	0.13	55.5	4.9	4.07	0.9	17.7

F is stabilization factor (considered as the ratio between half-lives of immobilized and free lipases).



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

SIMETRIČNI SVET MOF-ova

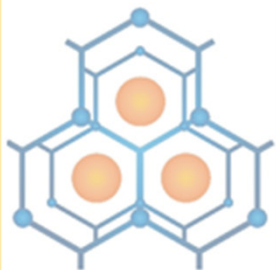
Predrag Ristić

Univerzitet u Beogradu – Hemijski fakultet



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997

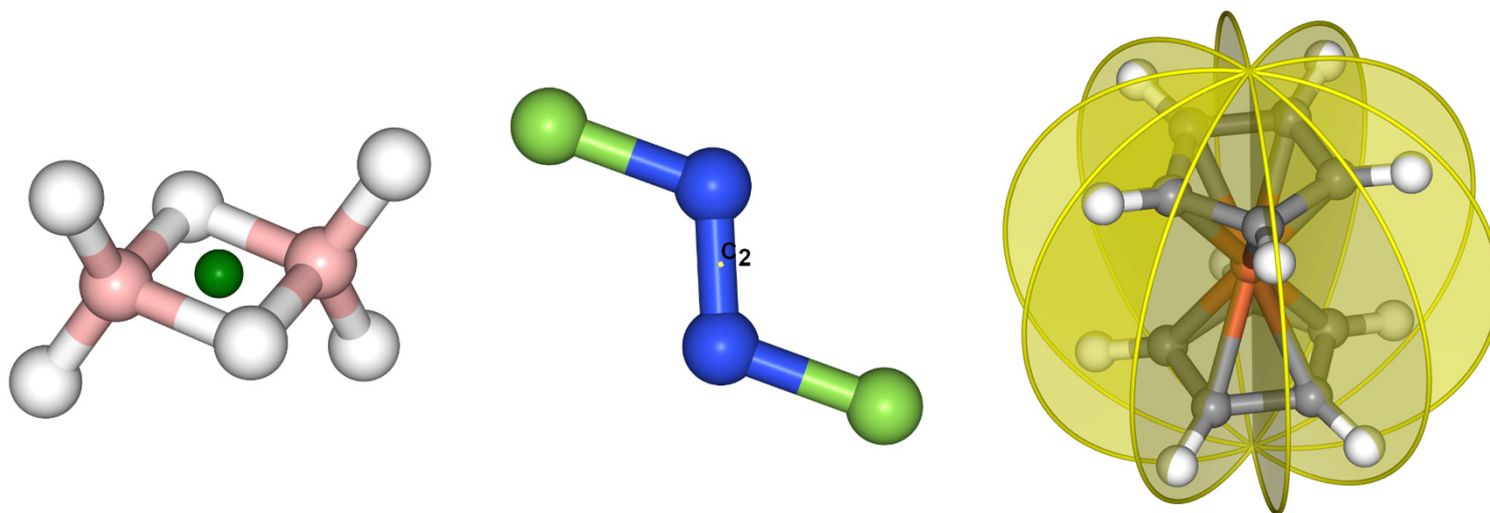


Simetrija

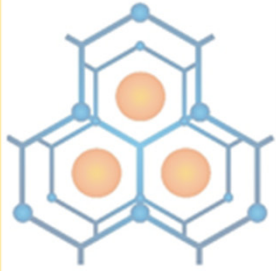
Elementi i operacije simetrije

Elementi simetrije – geometrijski pojmovi (tačka, prava, ravan) pomoću kojih mogu biti izvedene jedna ili više operacija simetrije.

Operacija simetrije – pokretanje objekta koje dovodi objekat u istovetnu ili ekvivalentnu konfiguraciju koja se ne može razlikovati od polazne.



Slika 1. Prikaz elemenata simetrije



Simetrija

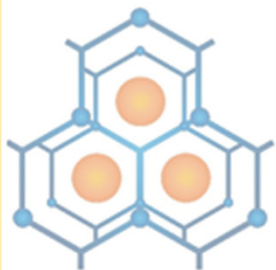
Elementi i operacije simetrije

Operacije/elementi simetrije se mogu kombinovati tako da nastanu nove operacije/elementi simetrije

Tabela 1. Kombinacija operacija/elementa simetrije

Operacije simetrije koje se kombinuju	Hibridna operacija simetrije	Hibridni element simetrije
Rotacija + Translacija	Rototranslacija	Zavrtanjska osa
Rotacija + Refleksija	Rotorefleksija	Rotorefleksiona osa
Rotacija + Inverzija	Rotoinverzija	Rotoinverziona osa
Refleksija + Translacija	Operacija klizne ravni	Klizna ravan

Activate Windows
Go to Settings to activate W



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Simetrija

Elementi i operacije simetrije

<https://symotter.org/gallery>

Molecule selection:

Sort molecules by:
Molecule Type

Klasifikacija molekula po odgovarajućoj klasi

coordination compounds

- $\Lambda(\lambda, \lambda)$ -cis-[Co(en)₂Cl₂]⁺
- (δ, δ)-trans-[Co(en)₂Cl₂]⁺
- (δ, λ)-trans-[Co(en)₂Cl₂]⁺
- bis(9-ane-S3)copper(II)
- bis(dth)copper(I)
- [Ca(THF)₆]²⁺
- [Co(hexacyclen)]³⁺
- [Cr(hexacyclen)]³⁺
- [Fe(C₃H₅N)₆]²⁺
- [Mo(acac)₂O₂]
- [OsCl₃F₃]²⁻ (fac)
- [OsCl₃F₃]²⁻ (mer)
- tetra-aza copper(II)
- tetraazidocopper(II)
- tetrachloroplatinate
- [Th(NO₃)₆]²⁻
- tris(en)cobalt(III)
- tris(oxalato)iron(III)
- [W(CN)₆]²⁻
- [YbI₂(THF)₃]

organic

dimers and clusters

Point group = D₃, Order = 6 Grupa simetrije tačke - Šenflisova notacija

Operations Symmetry Info

Group operations by:
Point Group Class

- identity
- C₃ rotations (2)
- C₂ rotations (3)

Copy View to Clipboard

Grupisanje operacija simetrije po raznim parametrima

Elementi simetrije i animacija operacije simetrije

Slika 2. Primer molekulske strukture u 3D galeriji



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



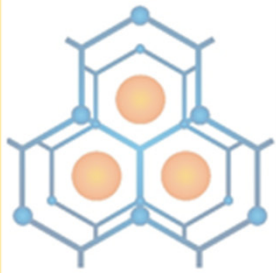
MOF-ovi

Definicija i značaj

MOF – Metal-organska umrežena struktura (eng. *Metal Organic Framework*)

3D umrežene strukture → geometrijski složeni prostori → fenomen interpenetracije

Fenomen interpenetracije – „Dve ili više mreža koje su bar delimično isprepletene na molekularnoj skali, nisu međusobno kovalentno vezane i ne mogu se razdvojiti dok se ne raskinu hemijske veze“ (*IUPAC definicija*)



MOF-ovi

Interpenetracija

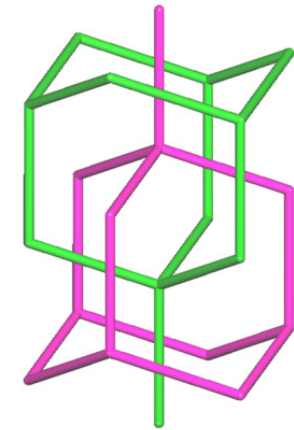
Velike ponavljajuće jedinice u 2D i 3D mrežama

- Formira se prazan prostor.
- Prostor je obično ispunjen kontra jonima, molekulima rastvarača, nekoordinovanim ligandima ili dolazi do **interpenetracije**.

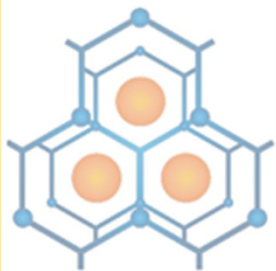
Povećanje M–L–M rastojanja dovodi do porasta stepena interpenetracije.

Stepen i priroda interpenetracije zavisi od:

- Glomaznosti i konformacije liganada
- Kontra jona
- Rastvarača
- Eksperimentalnih uslova (poput razblaženja)



n	Interpenetracija
1	2
2	5
4	6
8	8

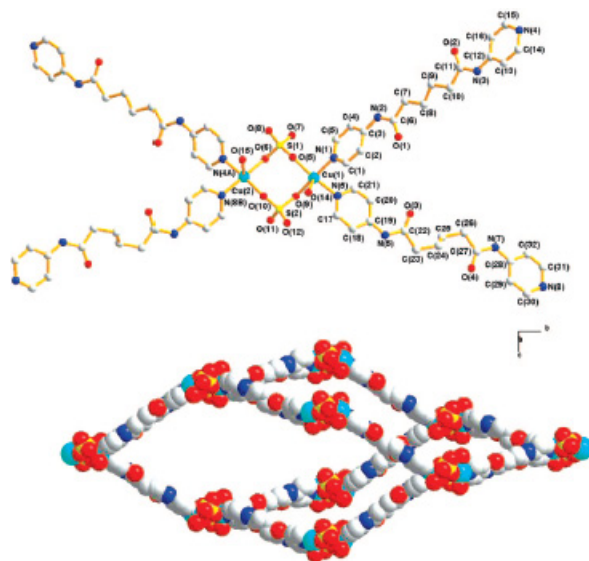


MOF-ovi

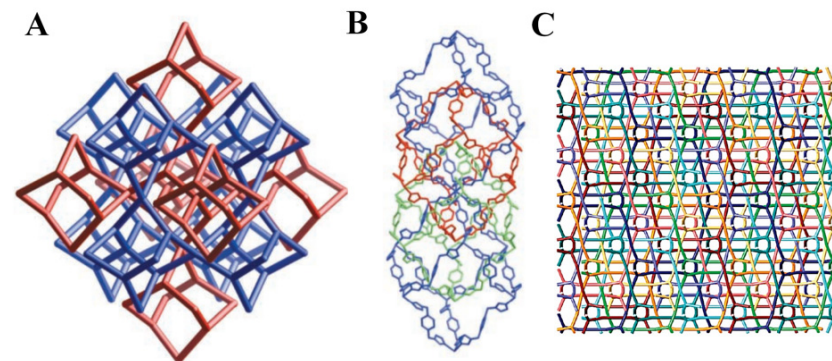
Interpenetracija

Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

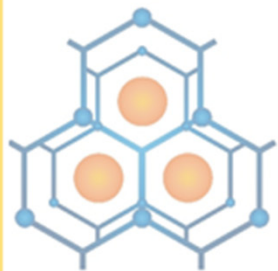


Slika 3. dia mrežna topologija



Slika 4. Interpenetracija drugog (A), četvrtog (B) i dvadesetsedmog reda (C)

Svetski rekord – 54 interpenetrirajućih mreža!

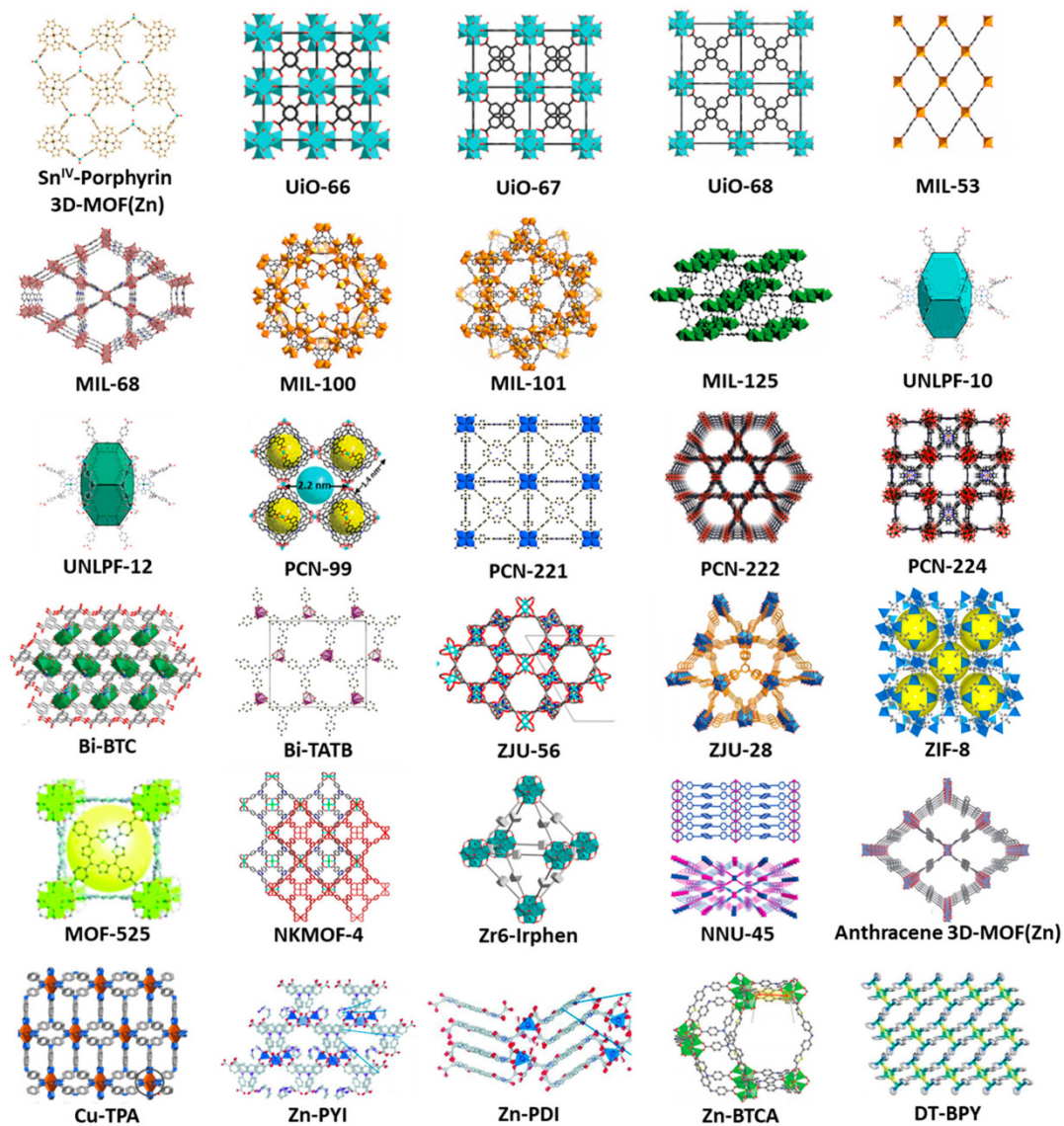


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

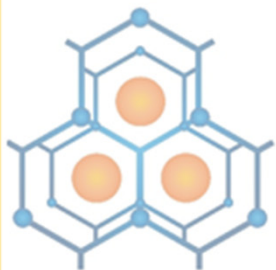


MOF-ovi



Slika 5. Simetrijski diverzitet kristalnih struktura MOF-ova

Catalysts **2020**, *10*(7), 720; doi.org/10.3390/catal10070720



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



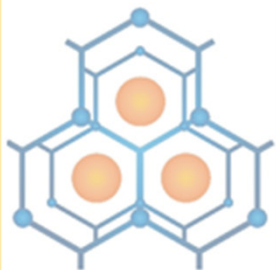
Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



Program ConQuest pruža širok spektar fleksibilnih opcija pretraživanja informacija sadržanih u preko milion kristalnih struktura, što podrazumeva:

- čitav niz opcija pretraživanja numeričkih podataka koji omogućavaju lociranje kristalne strukture na osnovu naziva jedinjenja, formule, elementalnog sastava, literature i eksperimentalnih podataka
- dublja analiza hemijske strukture uz mogućnost definisanja fizičkih i hemijskih parametara kao što su naelektrisanje, hibridizacija, tip hemijske veze i cikličnost
- 3D geometrijsko pretraživanje koje omogućava brzu analizu konformacionih preferencija željenog molekula
- analiza inter- i intramolekulskih interakcija npr. u cilju pronalaženja željenih farmakofora



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest




Program ConQuest dodatno pruža mogućnost:

- upotrebe intuitivnog dela za skiciranje strukturnih formula definisanjem geometrijskih parametara
- upotrebe sekundarnih filtera koji se mogu koristiti za ograničavanje grešaka i pozicione neuređenosti atoma prilikom rešavanja kristalne strukture
- jednostavne kombinacije pretraga u cilju kreiranja složenijih pretraga
- preuzimanje kristalnih struktura u .cif formatu (eng. *crystallographic information file*) i analiza upotrebom specijalizovanih programa CCDC paketa
- povezivanja strukture direktnom vezom sa literaturnim izvorom


MOF-ovi

Klasifikacija MOF-ova u Kembričkoj kristalografskoj bazi


**Chemical
Science**



EDGE ARTICLE
View Article Online
View Journal | View Issue

 Check for updates

Cite this: *Chem. Sci.*, 2020, 11, 8373







 All publication charges for this article have been paid for by the Royal Society of Chemistry

Received 3rd March 2020
Accepted 16th June 2020

DOI: 10.1039/d0sc01297a


rsc.li/chemical-science

Targeted classification of metal–organic frameworks in the Cambridge structural database (CSD)[†]

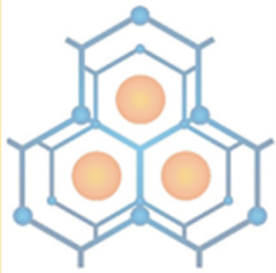
Peyman Z. Moghadam, ^{†§*} Aurelia Li, ^{†*} Xiao-Wei Liu,^{abd} Rocio Bueno-Perez, ^a Shu-Dong Wang,^b Seth B. Wigginn, ^c Peter A. Wood ^c and David Fairen-Jimenez ^{*a}

Large-scale targeted exploration of metal–organic frameworks (MOFs) with characteristics such as specific surface chemistry or metal-cluster family has not been investigated so far. These definitions are particularly important because they can define the way MOFs interact with specific molecules (e.g. their hydrophilic/phobic character) or their physicochemical stability. We report here the development of algorithms to break down the overarching family of MOFs into a number of subgroups according to some of their key chemical and physical features. Available within the Cambridge Crystallographic Data Centre's (CCDC) software, we introduce new approaches to allow researchers to browse and efficiently look for targeted MOF families based on some of the most well-known secondary building units. We then classify them in terms of their crystalline properties: metal-cluster, network and pore dimensionality, surface chemistry (i.e. functional groups) and chirality. This dynamic database and family of algorithms allow experimentalists and computational users to benefit from the developed criteria to look for specific classes of MOFs but also enable users – and encourage them – to develop additional MOF queries based on desired chemistries. These tools are backed-up by an interactive web-based data explorer containing all the data obtained. We also demonstrate the usefulness of these tools with a high-throughput screening for hydrogen storage at room temperature. This toolbox, integrated in the CCDC software, will guide future exploration of MOFs and similar materials, as well as their design and development for an ever-increasing range of potential applications.

Open Access Article. Published on 17 June 2020. Downloaded on 5/24/2022 8:40:46 PM.
This article is licensed under a Creative Commons Attribution 3.0 Unported Licence.



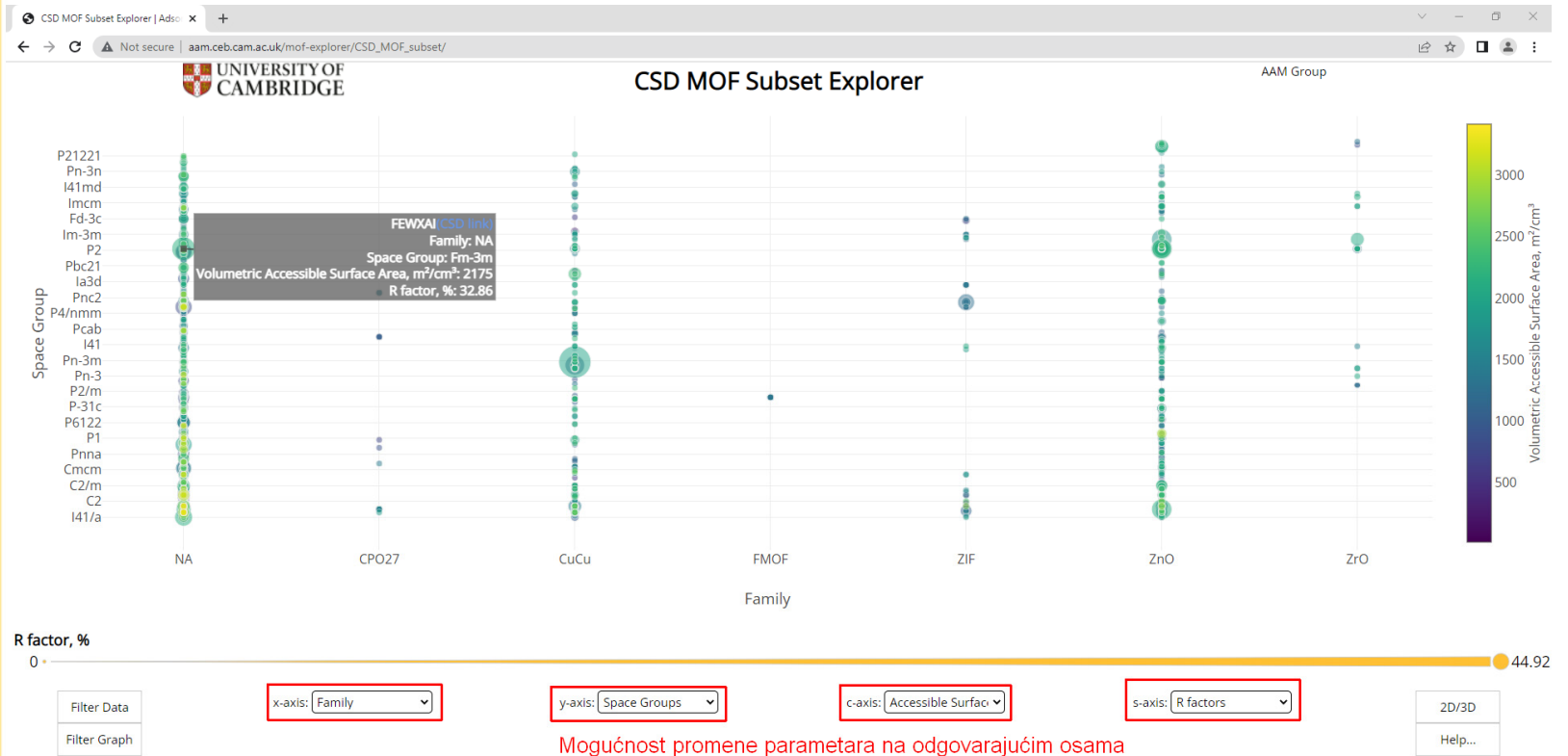
Slika 6. Primer značajne publikacije



MOF-ovi

Istraživanje MOF-podskupa

Symbiosis
 SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

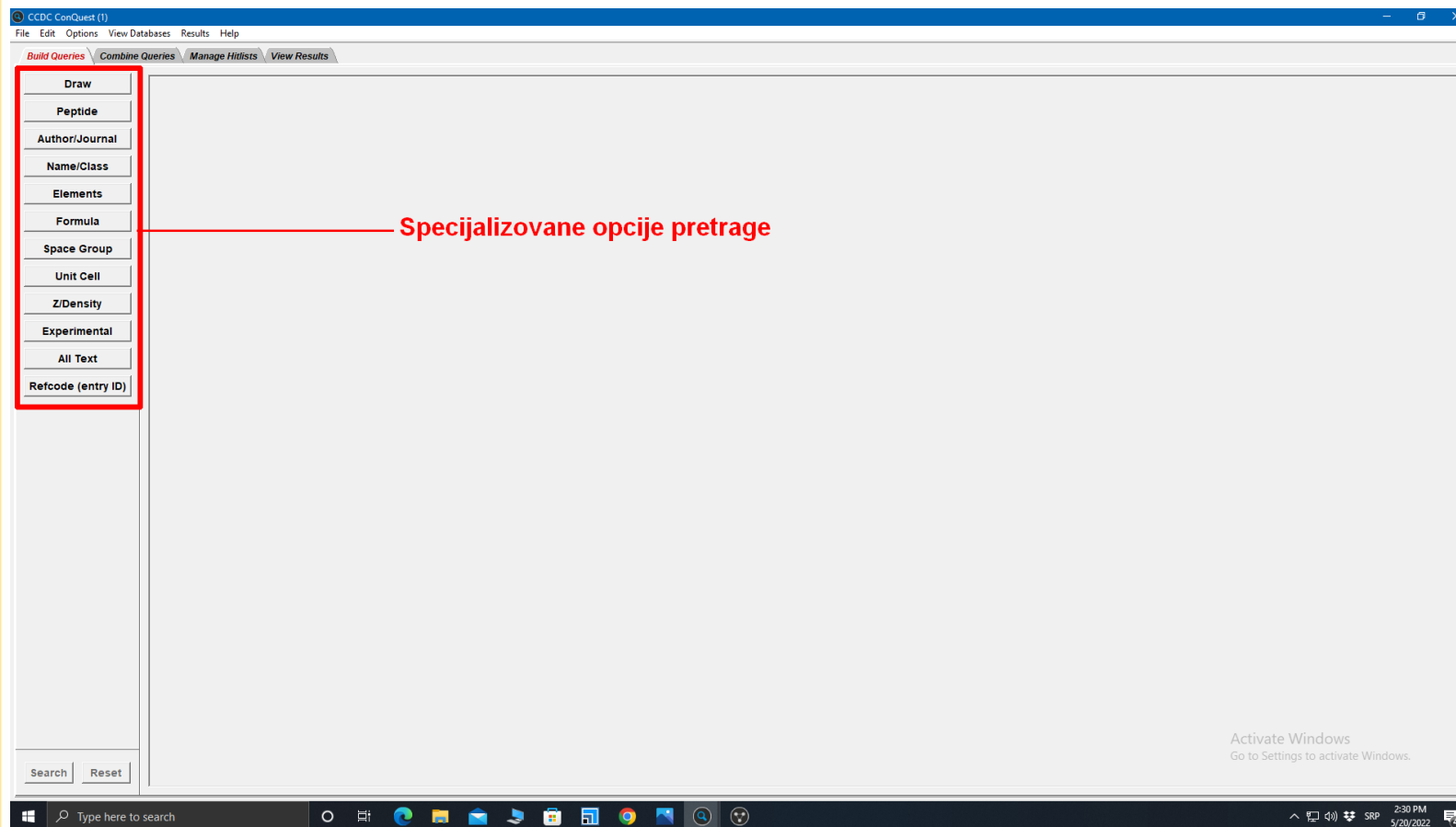


Slika 7. Istraživanje MOF-podskupa

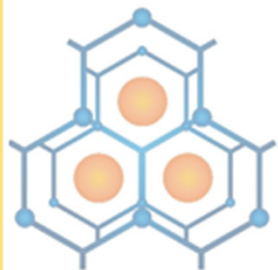
http://aam.ceb.cam.ac.uk/mof-explorer/CSD_MOF_subset/

Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



Slika 8. Program ConQuest



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



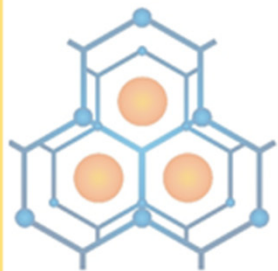
Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



Opcije za skiciranje strukturne formule jedinjenja

Slika 9. Opcije za skiciranje strukturne formule jedinjenja



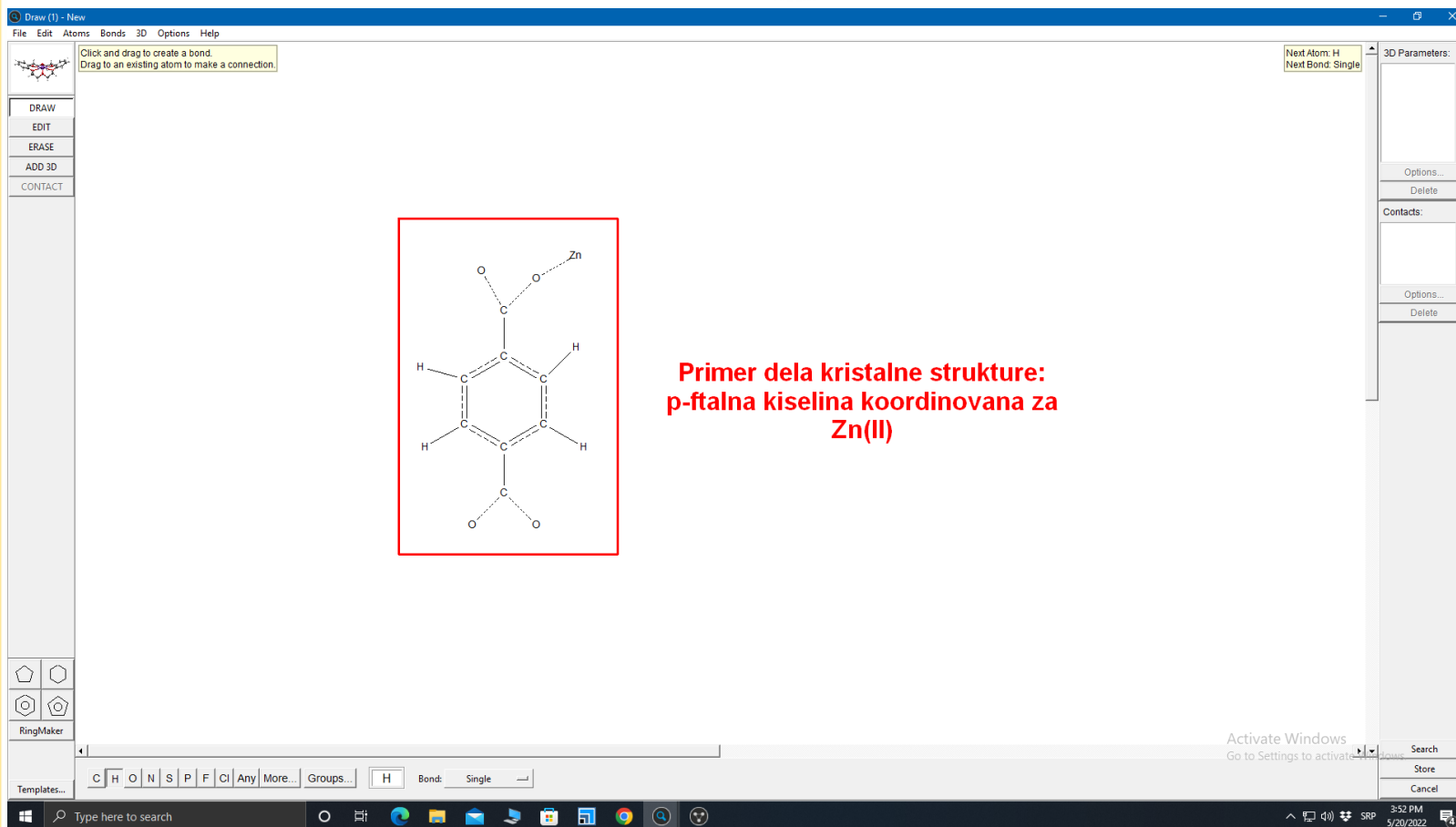
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



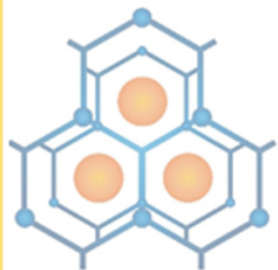
Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



**Primer dela kristalne strukture:
p-ftalna kiselina koordinovana za
Zn(II)**

Slika 10. Primer nacrtanog dela kristalne strukture



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



CCDC ConQuest (1)
File Edit Options View Databases Results Help

Build Queries Combine Queries Manage Hitlists View Results

Draw
Peptide
Author/Journal
Name/Class
Elements
Formula
Space Group
Unit Cell
Z/Density
Experimental
All Text
Refcode (entry ID)

Search Reset

Restrict Search by Refcode

Current Restrictions
No Restrictions Currently Set

1. Entries in a pre-defined hitlist

2. Restrict based on pre-defined hitlists

Choose a subset ...

- Best representative lists
- CSD MOF subsets
- ADPs available subset
- CSD Pesticide subset
- Electron diffraction subset
- High pressure subset
- Hydrate subset
- Polymorphic subset
- Teaching subset

3. MOF subset

Start Search Cancel Reset

Filters Advanced Options

3D coordinates determined

R factor ≤ 0.05
 ≤ 0.075
 ≤ 0.1

Only Non-disordered
 Disordered

No errors

Not polymeric

No ions

Only Single crystal structures
 Powder structures

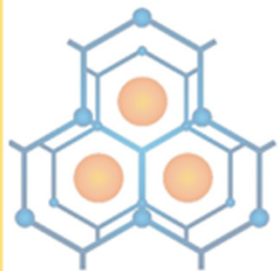
Only Organics
 Organometallic

Activate Windows
Go to Settings to activate Windows.

Type here to search

3:54 PM 5/20/2022

Slika 11. Odabir MOF podskupa



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



CCDC ConQuest (1) : search [Search]
File Edit Options View Databases Results Help
Build Queries Combine Queries Manage Hitlists View Results
Refcode: ABUBUY CSD version 5.43 (November 2021)
All Text
Author/Journal
Chemical
Crystal
Experimental
Diagram
3D Visualiser
CSD Internals
Search Overview

OHC-NMe₂
Me₂N

Listu akronima kristalnih struktura (REFCODE)

Rezultat: broj pronađenih kristalnih struktura koje sadrže početno nacrtni fragment

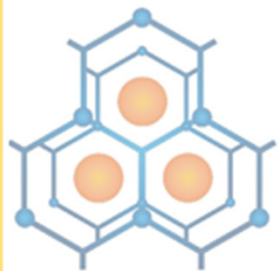
Rezultat: prikaz dela kristalne strukture u kome je naznačen početni kriterijum za upit

ABUBUY
Analyse Hitlist
ABUBUY
ABUWOJ
ADETEL
AFOROD
AFOSIY
AFOSGE
AFOSOE01
AFUDUC
AJODUZ
AJOSUN
AJOSUN01
AJOSUN01
AKEDIF
ALICEG
ALIZAY
AMAPUZ
ANEKUC
ANUPIK
AQOPUS
ATAJAI
ATEHEO
ATEMAP
ATEMET
ATOWIQ
ATOWOW
ATOXAJ
ATOXEN
AVEZEJ
AWLVIZ
BADYUD
BADZAK
BASMAG
BAYQOK
BECDEX
BEKQUG
BEQBOQ
BEQBUW
BEQHEN
BERGAI
BERGAI01
BIZNUW
BONFIW
CELGIL
CEPDAP
CERTEP

Activate Windows
Go to Settings to activate Windows
875 hits
100%
Use as Query... Detach
Stop Search

Type here to search SRP 3:59 PM 5/20/2022

Slika 12. Prikaz rezultata pretrage MOF podskupa



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



CCDC ConQuest (1) : search1 [Search]

File Edit Options View Databases Results Help

Export Entries as...

Čuvanje željenih rezultata pretrage ili cele pretrage

OHC-NMe₂

ABUBUY Analyse Hitlist

- ✓ ABUBUY
- ✓ ABUWOJ
- ✓ ADETEL
- ✓ AFOROD
- ✓ AFOSIY
- ✓ AFOSOE
- ✓ AFOSOE01
- ✓ AFUDUC
- ✓ AJODUZ
- ✓ AJOSUN
- ✓ AJOSUN01
- ✓ AKEDIF
- ✓ ALICEG
- ✓ ALIZAY
- ✓ AMAPUZ
- ✓ ANEKUC
- ✓ ANUPIK
- ✓ AQOPIUS
- ✓ ATAJAI
- ✓ ATEHEO
- ✓ ATEMAP
- ✓ TEMET
- ✓ ATOWIQ
- ✓ ATOWOW
- ✓ ATOXAJ
- ✓ ATOXEN
- ✓ AVEZEJ
- ✓ AWUVIZ
- ✓ BADIUD
- ✓ BADZAK
- ✓ BASMUG
- ✓ BAYQOK
- ✓ BECDIX
- ✓ BEKQUG
- ✓ BEOBOG
- ✓ BEQBUW
- ✓ BEQHEN
- ✓ BERGAI
- ✓ BERGAI01
- ✓ BIZNUW
- ✓ BONFIW
- ✓ CELGIL
- ✓ CEPDAF
- ✓ CEPZFF

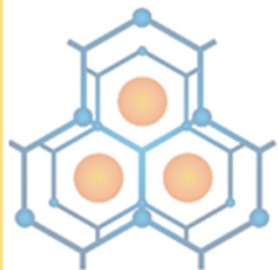
875 hits

100%

Use as Query... Detach Stop Search

4:03 PM 5/20/2022

Slika 13. Način čuvanja željenih rezultata pretrage



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Pretraga Kembričke kristalografske baze

Primarni program - ConQuest



CCDC ConQuest (1) : search1 [Search]
File Edit Options View Databases Results Help

Build Queries Combine Queries Manage Hitlists View Results

All Terms
Author: Journ
Chemical
Crystallographic
Experimental
Diagram
3D Visualis
CSD Intern
Search Overvie

Export Entries: search1

Select file type:
CIF: Crystallographic Information File

Select what to export:
 Current entry only All selected entries

Select options:
 Structure data only Additional CIF data items
 All entries in one file One file per entry (ABCDEF01-<name>.cif)
 Include bonds Include defined parameters

Either: Edit Filename and Save Or: Save via File Popup

0%

Keep window open when finished

OHC-NMe₂

Me₂N

Me₂N

ABUBUY

Analyze Hitlist

- ABUBUY
- ABUWOJ
- ADELTEL
- AFOROD
- AFOSIY
- AFO SOE
- AFO SOE01
- AFUDUC
- AJODUZ
- AJOSUN
- AJOSUN01
- AKEDIF
- ALICEG
- ALIZAY
- AMAPUZ
- ANEKUC
- ANUPIK
- AQOPUS
- ATAJAI
- ATEHEO
- ATEMAP
- ATEMET
- ATOWIQ
- ATOWOW
- ATOXAJ
- ATOXEN
- AVEZEJ
- AWUVIZ
- BADYUD
- BADZAK
- BASMUG
- BAYQOK
- BECODIX
- BEKQUG
- BEQBOQ
- BEQBOW
- BEQHEN
- BERGAI
- BERGAI01
- BIZNUW
- BONFIW
- CELGIL
- CEPDAF
- CFP7FF

875 hits

Go to Settings to activate Windows 100%

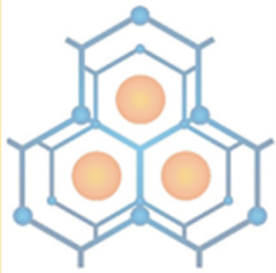
Use as Query... Detach Stop Search

4:03 PM 5/20/2022

Odaberi željeni direktorijum u kome će biti sačuvani rezultati pretrage

Odaberi .cif ekstenziju dokumenta

Slika 14. Odabir ekstenzije i mesto čuvanja rezultata pretrage



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



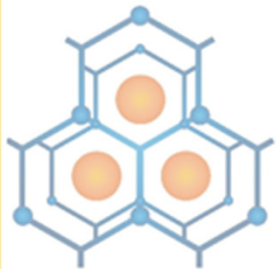
Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



Program nudi sveobuhvatan spektar alata za vizuelizaciju i analizu kristalnog pakovanja što podrazumeva:

- generisanje dijagrama pakovanja
- vizuelizaciju ravni Milerovih indeksa (h k l)
- geometrijska analiza intermolekulskih interakcija
- vizuelizaciju elemenata simetrije prostorne grupe
- izračunavanje veličine pora (kontaktna površina i površina dostupna rastvaraču)
- proračuni na molekulima u simuliranom gasovitom agregatnom stanju upotrebom interfejsa MOPAC
- Prikaz Braveovih, Fridelovih, Donajevih i Harkerovih (BFDH) teorijskih morfologija kristala



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



BEKQUG (Pnma) - Mercury

File Edit Selection Display Calculate CSD-Community CSD-System CSD-Materials CSD-Discovery CSD Python API Help

Picking Mode: Pick Atoms

Style: Capped Sticks Colour: by Element

Display Options

Display

- Packing
- Asymmetric Unit
- Auto centre
- Short Contact < (sum of vdW radii)
- H-Bond User defined

Options

- Show hydrogens
- Show cell axes
- Label atoms
- Depth cue
- Z-Clipping
- Stereo

Structure Navigator

Crystal Structures	Spacegroup
BEKQUG	Pnma
AFUDUC	P21/n
AJODUZ	Pca21
AJOSUN	C2/c
AJOSUN01	C2/c
AKEDIF	C2/c
ALICEG	Ibca
ALIZAY	Pna21
AMAPUZ	P21/n
ANEKUC	P21/n
ANUPIK	C2/c
AQOPUS	P21/c
ATAJAI	C2
ATEHEO	P21/c
ATEMAP	P-1
ATEMET	P-1
ATOWIQ	C2/m
ATOWOW	C2/m
ATOXAJ	P43212
ATOXEN	P-1
AVEZEJ	C2/m
AWUVIZ	P4/mmm
BADYUD	P21/n
BADZAK	C2/c
BASMUG	P21/c
BAYQOK	P-1
BECDIX	C2/c

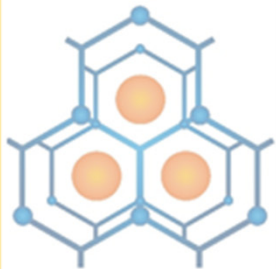
Analiza inter- i intramolekulskih interakcija

Dopunske stilske opcije

Stil prikaza kristalne strukture

Prikaz kristalnog pakovanja ili asimetrične jedinice

Slika 15. Prikaz važnih opcija programa Mercury



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



BEKQUG (Pnma) - Mercury

File Edit Selection **Display** Calculate CSD-Community CSD-System CSD-Materials CSD-Discovery CSD Python API Help

Picking Mode: Pick Atoms Styles Labels Colours Show/Hide More Information **Symmetry Elements...** Voids... Display Options... Manage Styles... View along Dial box... Splash screen Toolbars

Crystal Structures Spacegroup

Crystal Structures	Spacegroup
AFUDUC	P21/n
AJODUZ	Pca21
AJOSUN	C2/c
AJOSUN01	C2/c
AKEDIF	C2/c
ALICEG	Ibca
ALIZAY	Pna21
AMAPUZ	P21/n
ANEKUC	P21/n
ANUPIK	C2/c
AQOPUS	P21/c
ATAJAI	C2
ATEHEO	P21/c
ATEMAP	P-1
ATEMET	P-1
ATOWIQ	C2/m
ATOWOW	C2/m
ATOXAJ	P43212
ATOXEN	P-1
AVEZEJ	C2/m
AWUVIZ	P4/mmm
BADYUD	P21/n
BADZAK	C2/c
BASMUG	P21/c
BAYQOK	P-1
BECDIX	C2/c
BEKQUG	Pnma

Display Options

Display

Packing Short Contact < (sum of vdW radii) Asymmetric Unit H-Bond User defined Auto centre

Options

Show hydrogens Depth cue Show cell axes Z-Clipping Label atoms Stereo

Structure Navigator

Tree View

Multiple Structures Structures...

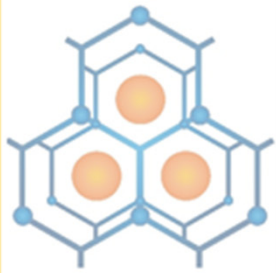
Structure Navigator Searches

Press the left mouse button and move the mouse to rotate the structure

Type here to search

10:58 PM 5/23/2022

Slika 16. Vizualizacija elemenata simetrije



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



BEKQUG (Pnma) - Mercury

File Edit Selection Display Calculate CSD-Community CSD-System CSD-Materials CSD-Discovery CSD Python API Help

Picking Mode: Pick Atoms Clear Measurements Show Labels for All atoms with Atom Label

Style: Capped Sticks Colour: by Element Manage Styles... Publication Atom selections: Select by SMARTS:[c]

Animate... Default view: b a b c a* b* c* x- x+ y- y+ z- z+ x-90 x+90 y-90 y+90 z-90 z+90 ← → ↓ ↑ zoom- zoom+

Prikaz centra inverzije

Refkod odabranog jedinjenja

Symmetry elements

- Show Symmetry Elements
- Show Inversions
- Show Colour
- Show Axes
- Show proper rotation axes
- Show screw axes
- Show rotoinversion axes
- 2-fold Colour
- 3-fold Colour
- 4-fold Colour
- 6-fold Colour
- Show Glide & Mirror Planes
- Show mirrors Colour
- Show glides Colour
- Shadows

Defaults OK

Structure Navigator

Crystal Structures	Spacegroup
BEKQUG	Pnma
AFUDUC	P21/n
AJODUZ	Pca21
AJOSUN	C2/c
AJOSUN01	C2/c
AKEDIF	C2/c
ALICEG	lbca
ALIZAY	Pna21
AMAPUZ	P21/n
ANEKUC	P21/n
ANUPIK	C2/c
AQOPUS	P21/c
ATAJAI	C2
ATEHEO	P21/c
ATEMAP	P-1
ATEMET	P-1
ATOWIQ	C2/m
ATOWOW	C2/m
ATOXAJ	P43212
ATOXEN	P-1
AVEZEJ	C2/m
AWUVIZ	P4/mmm
BADYUD	P21/n
BADZAK	C2/c
BASMUG	P21/c
BAYQOK	P-1
BECDIX	C2/c
BEKQUG	Pnma

Display Options

Display

- Packing
- Asymmetric Unit
- Auto centre
- Short Contact < (sum of vdW radii)
- H-Bond User defined

Contacts... More Info Powder... Reset

Options

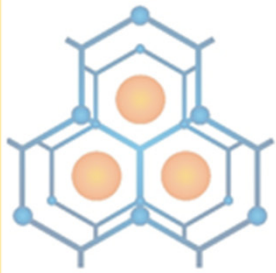
- Show hydrogens
- Show cell axes
- Label atoms
- Depth cue
- Z-Clipping
- Stereo

Press the left mouse button and move the mouse to rotate the structure

Type here to search

10:44 PM 5/23/2022

Slika 17. Vizualizacija centra inverzije



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



BEKQUG (Pnma) - Mercury

File Edit Selection Display Calculate CSD-Community CSD-System CSD-Materials CSD-Discovery CSD Python API Help

Picking Mode: Pick Atoms Clear Measurements Show Labels for All atoms with Atom Label

Style: Capped Sticks Colour: by Element Manage Styles... Publication Atom selections: Select by SMARTS:[c]

Animate... Default view: b a b c a* b* c* x- x+ y- y+ z- z+ x-90 x+90 y-90 y+90 z-90 z+90 zoom- zoom+

Prikaz rotoinverzije ose drugog reda

Symmetry elements

- Show Symmetry Elements
- Show Inversions
- Show Colour Size 0.31
- Show Axes
- Show proper rotation axes
- Show screw axes Show arrows
- Show rotoinversion axes
- 2-fold Colour 3-fold Colour
- 4-fold Colour 6-fold Colour
- Show Glide & Mirror Planes
- Show mirrors Colour 0.5
- Show glides Colour 0.5
- Shadows

Defaults OK

Structure Navigator

Crystal Structures	Spacegroup
AFUDUC	P21/n
AJODUZ	Pca21
AJOSUN	C2/c
AJOSUN01	C2/c
AKEDIF	C2/c
ALICEG	lbca
ALIZAY	Pna21
AMAPUZ	P21/n
ANEKUC	P21/n
ANUPIK	C2/c
AQOPUS	P21/c
ATAJAI	C2
ATEHEO	P21/c
ATEMAP	P-1
ATEMET	P-1
ATOWIQ	C2/m
ATOWOW	C2/m
ATOXAJ	P43212
ATOXEN	P-1
AVEZEJ	C2/m
AWUVIZ	P4/mmm
BADYUD	P21/n
BADZAK	C2/c
BASMUG	P21/c
BAYQOK	P-1
BECDIX	C2/c
BEKQUG	Pnma

Display Options

Display

- Packing
- Asymmetric Unit
- Auto centre
- Short Contact < (sum of vdW radii)
- H-Bond User defined

Contacts... More Info Powder...

Options

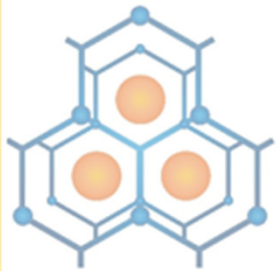
- Show hydrogens Depth cue
- Show cell axes Z-Clipping
- Label atoms Stereo

Press the left mouse button and move the mouse to rotate the structure

Type here to search

10:51 PM 5/23/2022

Slika 18. Vizualizacija osa rotacije



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Analiza kristalnih struktura

Program Mercury



Prikaz klizne ravnii (ružičasta boja)

Prikaz ogledalske ravnii (plava boja)

Symmetry elements

- Show Symmetry Elements
- Show Inversions
- Show Colour
- Show Axes
- Show proper rotation axes
- Show screw axes
- Show rotoinversion axes
- 2-fold Colour
- 3-fold Colour
- 4-fold Colour
- 6-fold Colour
- Show Glide & Mirror Planes
- Show mirrors Colour
- Show glides Colour
- Shadows

Structure Navigator

Crystal Structures	Spacegroup
AFUDUC	P21/n
AJODUZ	Pca21
AJOSUN	C2/c
AJOSUN01	C2/c
AKEDIF	C2/c
ALICEG	lbca
ALIZAY	Pna21
AMAPUZ	P21/n
ANEKUC	P21/n
ANUPIK	C2/c
AQOPUS	P21/c
ATAJAI	C2
ATEHEO	P21/c
ATEMAP	P-1
ATEMET	P-1
ATOWIQ	C2/m
ATOWOW	C2/m
ATOXAJ	P43212
ATOXEN	P-1
AVEZEJ	C2/m
AWUVIZ	P4/mmm
BADYUD	P21/n
BADZAK	C2/c
BASMUG	P21/c
BAYQOK	P-1
BECDIX	C2/c
BEKQUG	Pnma

Display Options

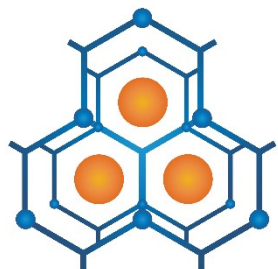
Display

- Packing
- Asymmetric Unit
- Auto centre
- Short Contact < (sum of vdW radii)
- H-Bond User defined

Options

- Show hydrogens
- Show cell axes
- Label atoms
- Depth cue
- Z-Clipping
- Stereo

Slika 19. Vizualizacija ravnii refleksije i kliznih ravnii



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

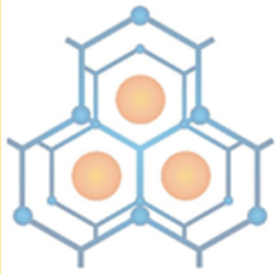
KLONIRANJE, MUTACIJE, EKSPRESIJA I JOŠ PONEŠTO

Ana Marija Balaž
Institut za hemiju, tehnologiju i
metalurgiju, Centar za hemiju



Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997

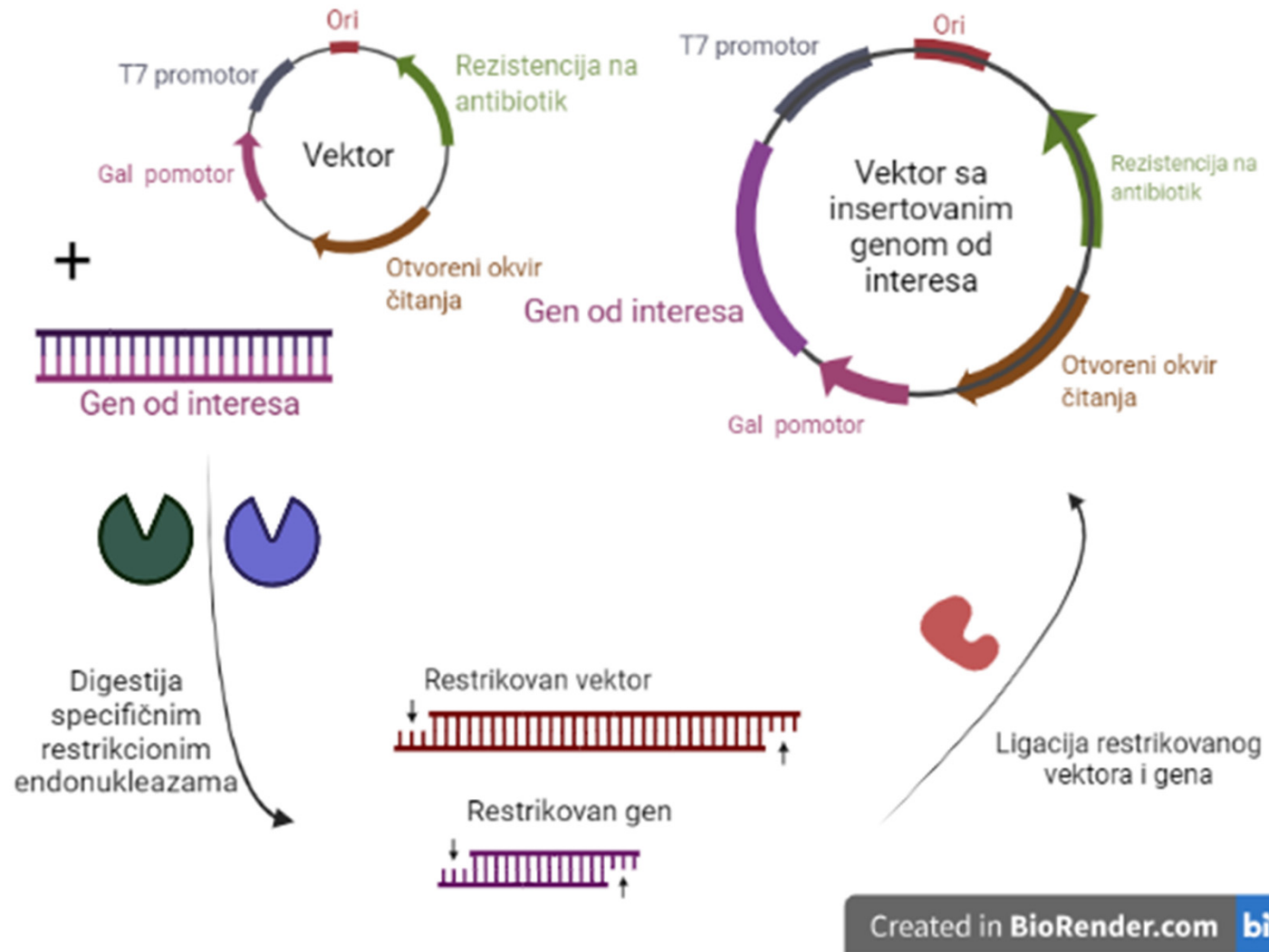


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Kloniranje gena od interesa u selektovani vektor



Slika 1. Šematski prikaz kloniranja gena od interesa u selektovani vektor.



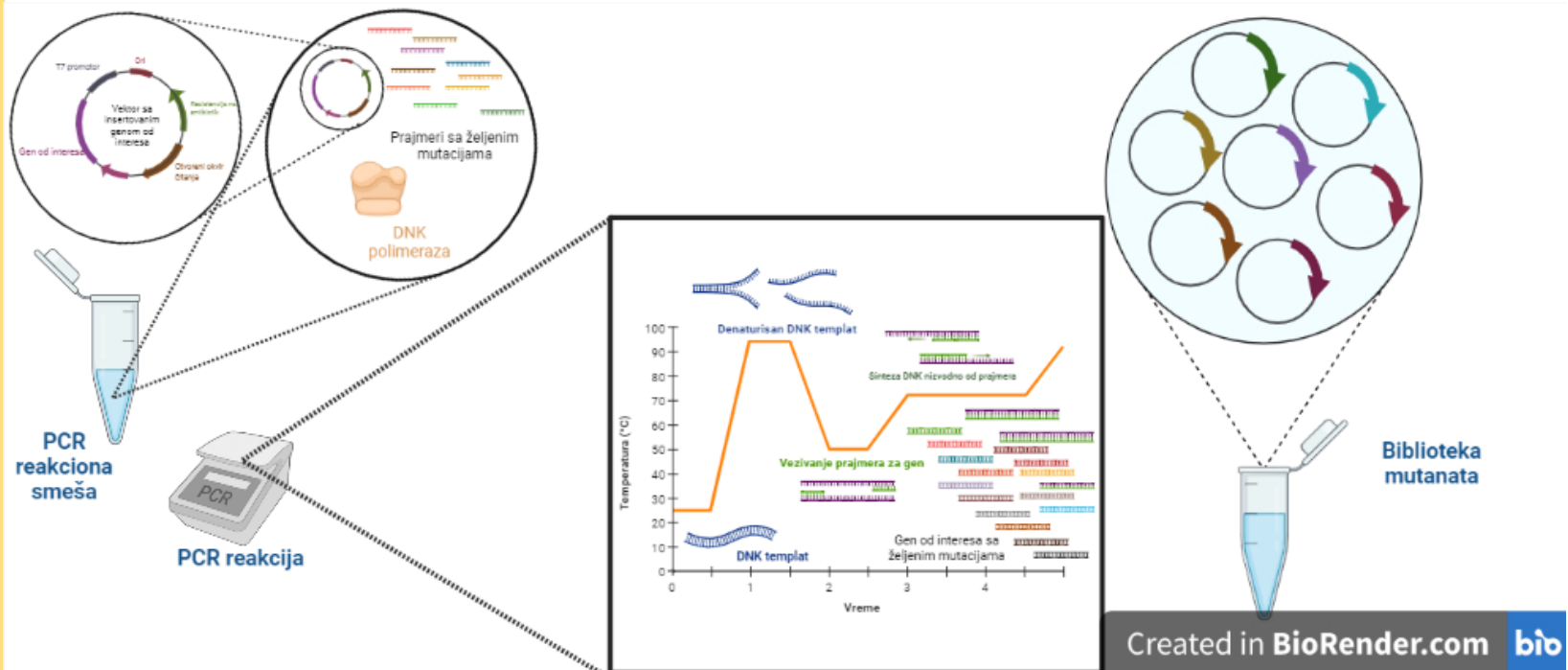
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

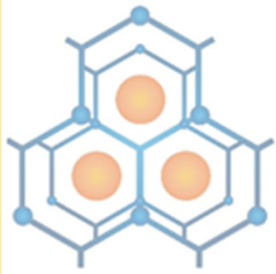


Kreiranje biblioteka mutanata

- ❖ Racionalni dizajn
- ❖ Semi – racionalni dizajn
- ❖ Dirigovana evolucija



Slika 2. Šematski prikaz kreiranja biblioteka mutanata.

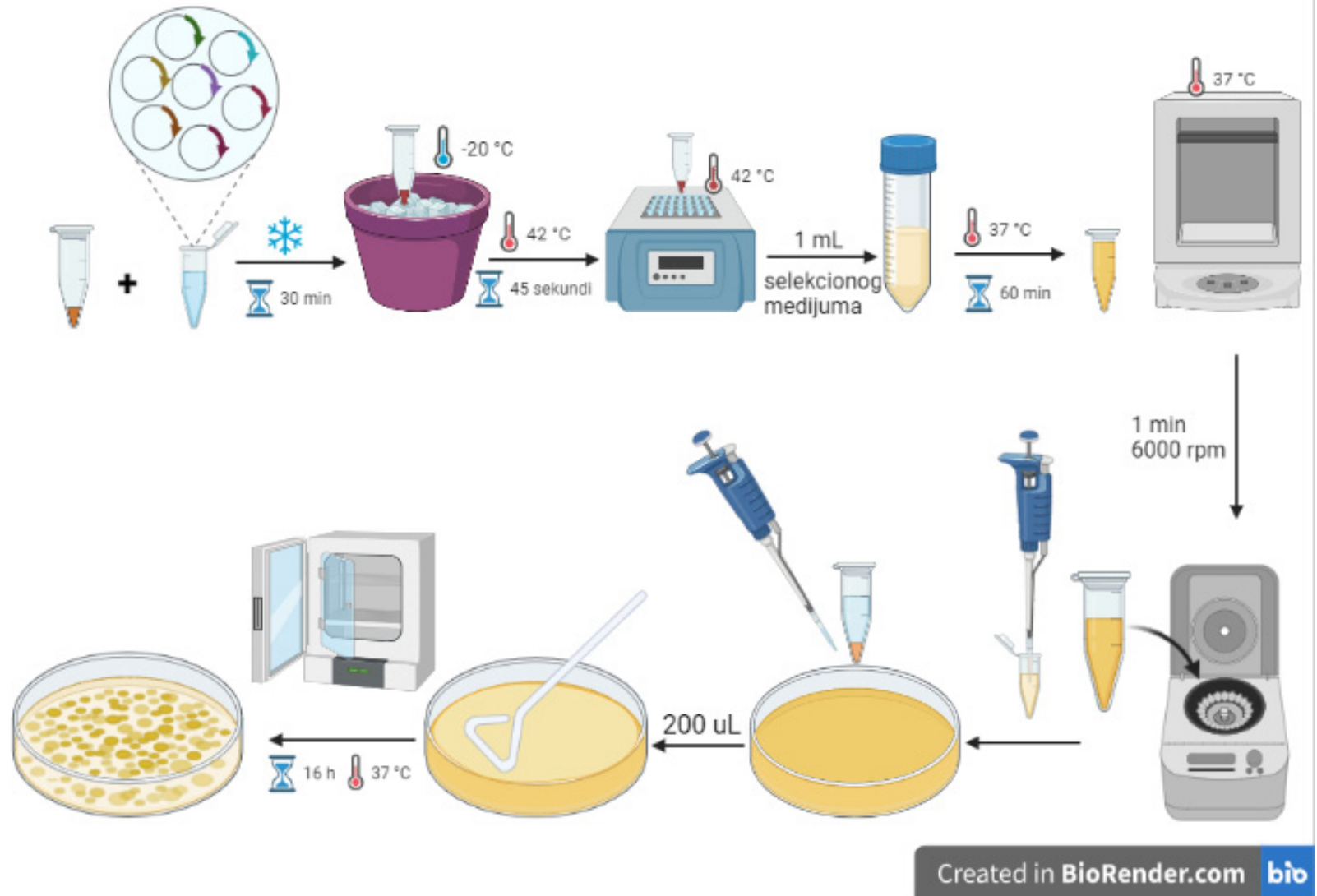


Symbiosis

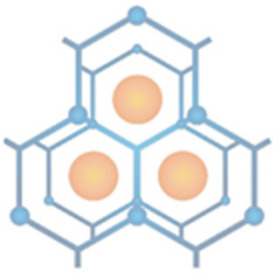
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Transformacija bakterije *E.coli*



Slika 3. Šematski prikaz transformacije bakterije *Escherichia coli*.

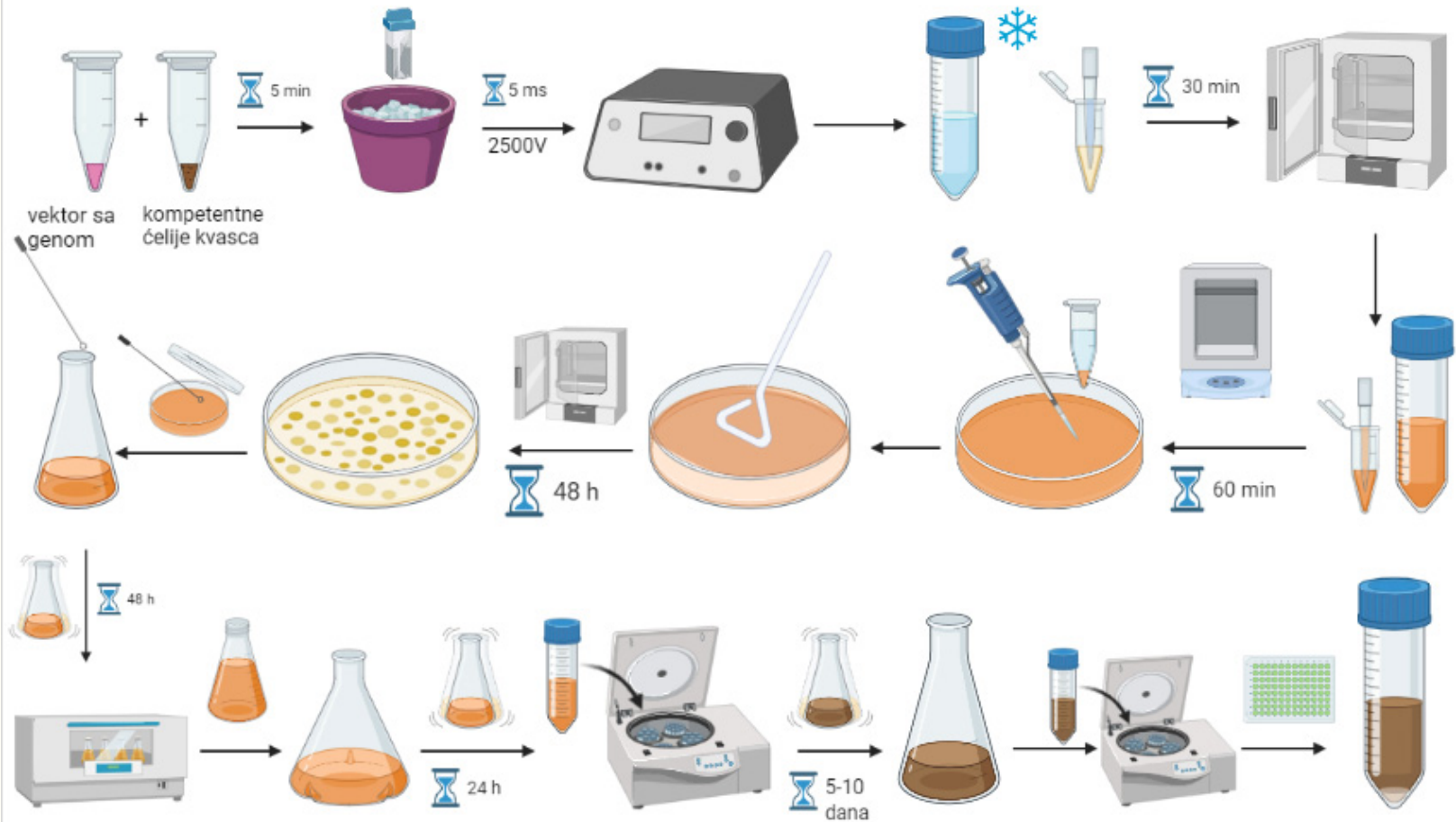


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

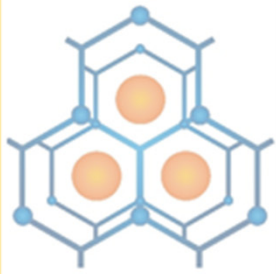


Transformacija kvasca *Pichia pastoris* i ekspresija proteina



Created in BioRender.com 

Slika 4. Šematski prikaz transformacije kvasca *Pichia pastoris* i ekspresija proteina.

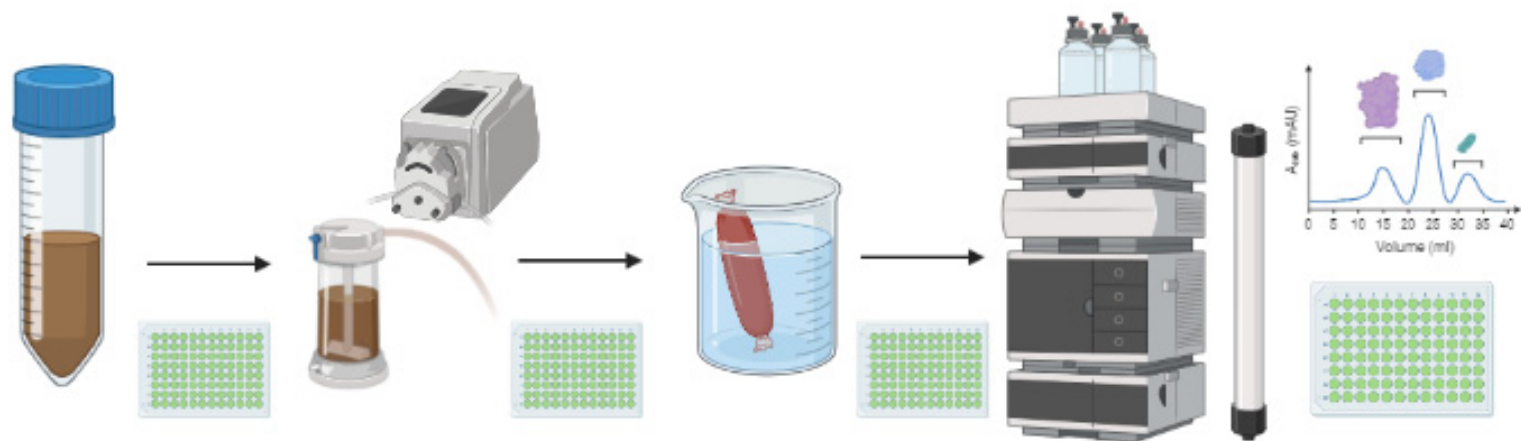


Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

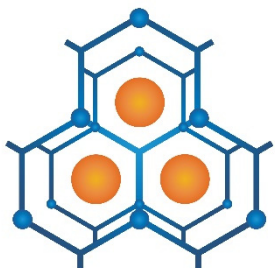


Prečišćavanje i karakterizacija proteina



Created in BioRender.com 

Slika 5. Šematski prikaz prečišćavanja proteina.



Symbiosis

KONTROLISAN DIZAJN EFIKASNIH
ENZIM@MOF KOMPOZITA ZA BIOKATALIZU

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET

TAJNE BIOMINERALIZACIJE

Marija Stanišić

Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet



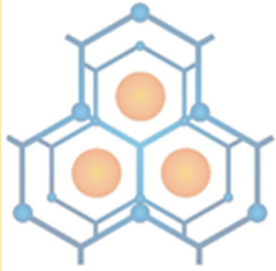
Фонд за науку
Републике Србије

Glavni sponzor Fond za nauku Republike Srbije PROMIS, #6066997



Sadržaj

- Šta je biomineralizacija?
- Naši radovi
- Cilj i primena



Symbiosis

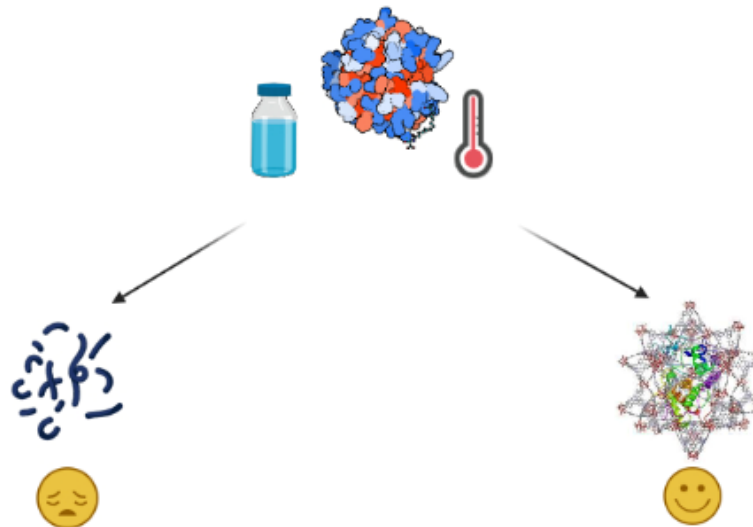
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



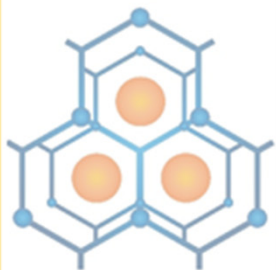
Šta je biomineralizacija?

Problem:

Primena enzima u industriji



Biokompoziti (biomaterijali) su jedinjenja koja se sastoje iz neorganskog dela (npr. MOFova) i enzima.



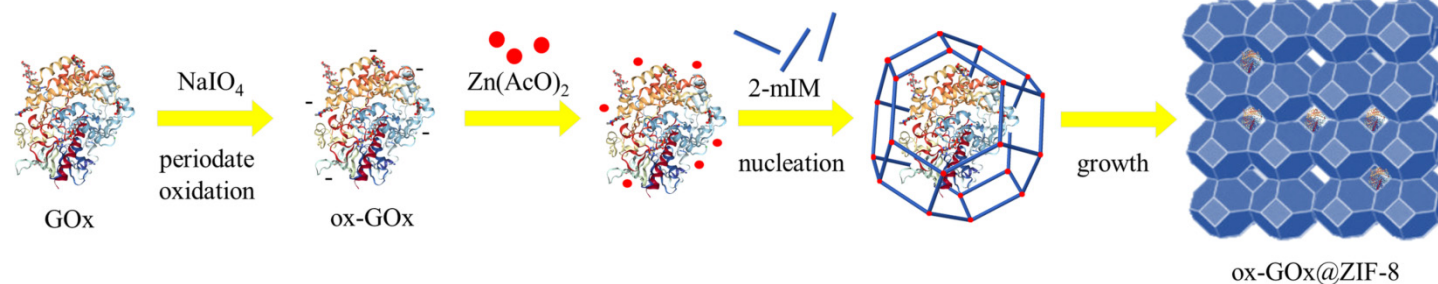
Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.

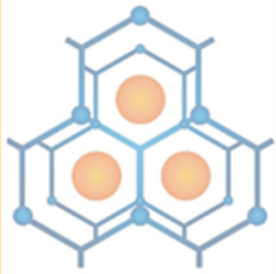


Naši radovi

Stanišić, M.D.; Popović Kokar, N.; Ristić, P.; Balaž, A.M.; Senćanski, M.; Ognjanović, M.; Đokić, V.R.; Prodanović, R.; Todorović, T.R. Chemical Modification of Glycoproteins' Carbohydrate Moiety as a General Strategy for the Synthesis of Efficient Biocatalysts by Biomimetic Mineralization: The Case of Glucose Oxidase. [Polymers 2021, 13, 3875](#).



Slika 1. Shematski prikaz modifikacije i biominealizacije glukoza oksidaze (GOx)



Symbiosis

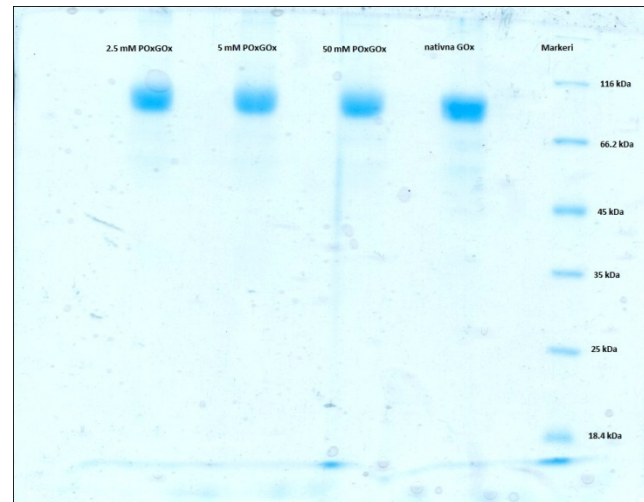
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



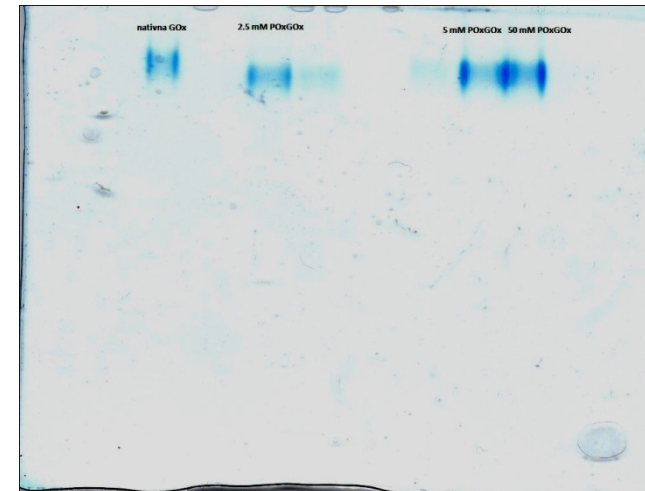
Perjodatna oksidacija glukoza oksidaze

1. Optimizacija finalne koncentracije NaIO_4 :

(a) SDS i nativna PAGE elektroforeza

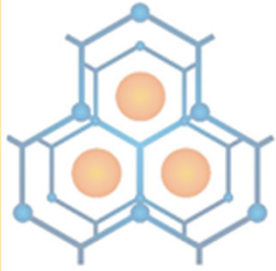


(a)



(b)

Slika 2. (a) SDS i (b) nativna PAGE elektroforeza komercijalne i perjodatno oksidovane (2.5, 5, 50 mM NaIO_4) GOx



Perjodatna oksidacija glukoza oksidaze

1. Optimizacija finalne koncentracije NaIO_4 :
(b) merenje zeta potencijala

Uzorak	Zeta potencijal (mV)
GOx	-10.2 ± 4.6
2.5 mM oxGOx	-36.9 ± 5.6
5 mM oxGOx	-32.7 ± 4.4
50 mM oxGOx	-29.5 ± 5.2

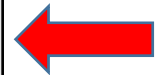
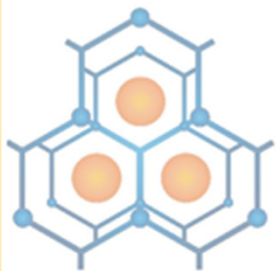


Tabela 1. Eksperimentalno izmerene vrednosti zeta potencijala uzoraka neoksidovane i oksidovane GOx

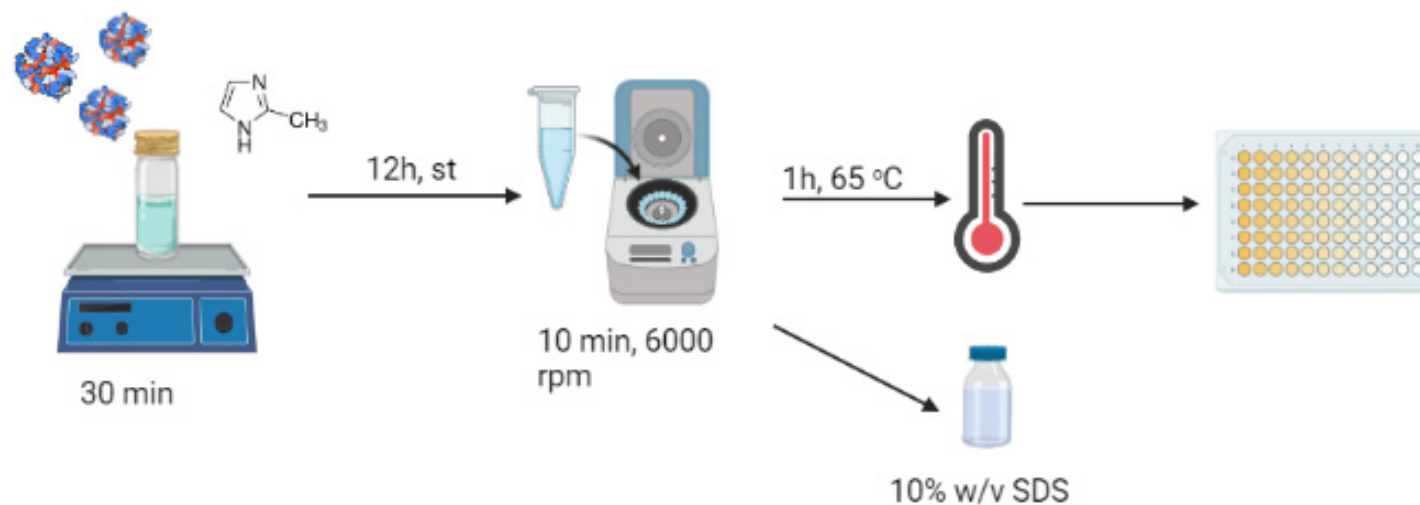


Symbiosis

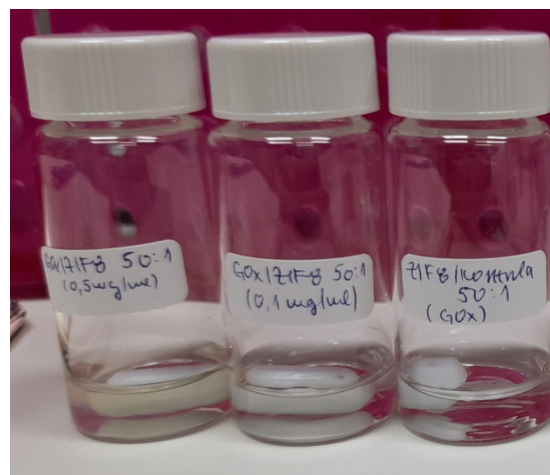
SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



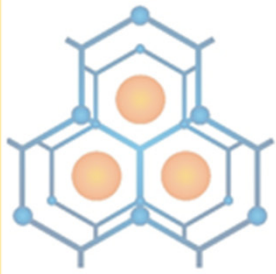
Optimizacija uslova biomineralizacije



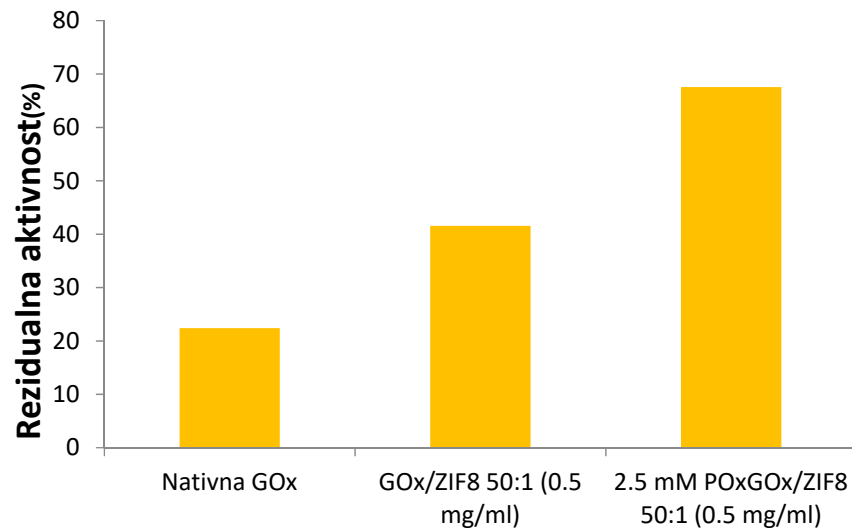
Slika 3. Shematski prikaz faza sinteze i ispitivanja aktivnosti biokompozita



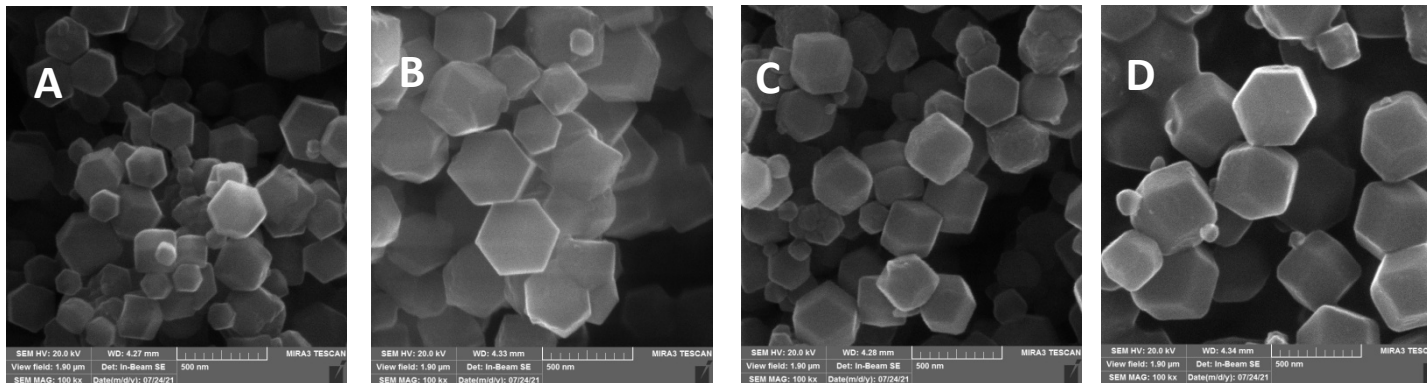
Slika 4. Suspenzije u 0h (a) i nakon stajanja 12h (b) na sobnoj temperaturi



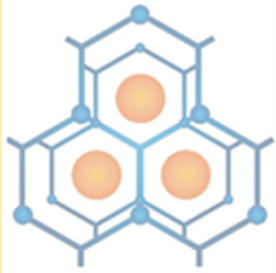
Naši rezultati



Grafik 1. Rezidualna aktivnost native, imobilizovane i imobilizovan eoksidovane GOx nakon inkubiranja (1h, 65 °C)



Slika 5. SEM (A)nativna GOx:ZIF8 50:1 (0.5 mg/ml) ispran dH₂O; (B) 2.5 mM POx GOx:ZIF8 50:1 (0.5 mg/ml) ispran dH₂O; (C) nativna GOx:ZIF8 50:1 (0.5 mg/ml) ispran SDS (10 (% w/w)); (D) 2.5 mM POx GOx:ZIF8 50:1 (0.5 mg/ml) ispran SDS (10% w/w)



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Biomineralizacija peroksidaze iz rena

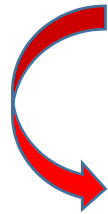
NOVI RADOVI – NOVI PROBLEMI !



Na tržištu dostupna komercijalna smeša izoformi peroksidaze iz rena sa pl vrednostima od 2 do 9!

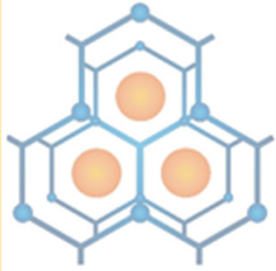


Za eksperimente biomineralizacije potrebna izoforma C1 sa pl vrednošću 5.4 !



IDEJE???



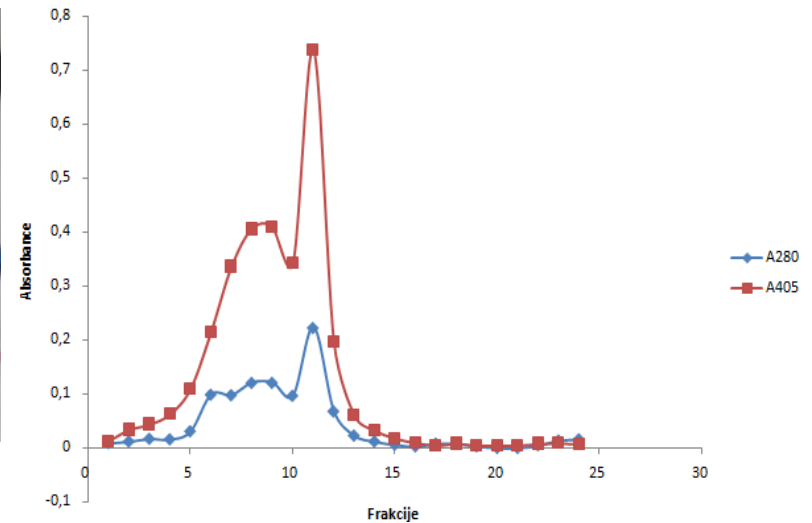


Hromatografsko prečišćavanje izoformi peroksidaze iz rena

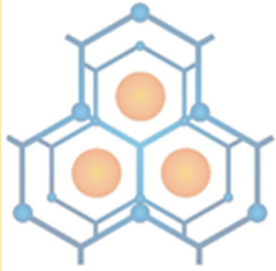
Optimizacija uslova sobne hromatografije za prečišćavanje i izolovanje različitih izoformi peroksidaze iz rena (HRP)



Slika 6. Hromatografsko prečišćavanje HRP



Grafik 2. Hromatogram nakon prečišćavanja HRPa na CMC koloni



Symbiosis

SEMINAR ZA STUDENTE, Beograd 28. maj 2022.



Cilj biomineralizacije i primena biokompozita

Cilj:

Pronaći što efikasnije spojeve neorganskog dela biokompozita (MOFa) i enzima, sintezom adekvatnih mofova i uvođenjem mutacija na površini enzima.

Primena:

Različite grane industrije, farmacija, medicina i dr.