

# Tvorba vysokomolekulových proteáz počas submerznej kultivácie vláknitých húb z rodu *Trichoderma*

Matej Maťaťa, Martin Šimkovič

Oddelenie biochémie a mikrobiológie, Ústav biochémie, výživy a ochrany zdravia, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava  
Xmatata@stuba.sk

V priebehu evolúcie získali mikroskopické vláknité huby schopnosť sa prispôbovať zmenám prebiehajúcim v ich životnom prostredí. Medzi mechanizmy, ktoré hubám umožňujú sa adaptovať a prežiť aj v nepriaznivých existenčných podmienkach, patrí aj sekrécia rozmanitých hydrolytických enzýmov. Táto skupina enzýmov napomáha hubám nielen získavať z komplexných exogénnych zlúčenín vhodné substráty na pokrytie ich nutričných požiadaviek, ale súčasne im umožňuje účinne potláčať rast iných druhov mikroorganizmov pri získavaní životného priestoru. Huby z rodu *Trichoderma* spp. patria medzi typické pôdne mikroorganizmy, ktoré kolonizujú povrch koreňového systému rastlín. Kolonizácia koreňov je základom symbiózy medzi oboma organizmami, stimuluje rast koreňov, zlepšuje ich zdravotný stav a ochraňuje rastliny pred patogénnou mikroflórou. Biologická ochrana rastlín pred patogénmi je založená na mykoparazitických a antibiotických mechanizmoch húb z rodu *Trichoderma*, hlavnou zložkou ktorých je syntéza a sekrécia lytických enzýmov schopných degradovať bunkové steny ako napr. celuláz, chitináz, xylanáz a proteáz. Experimentálne výsledky z nášho laboratória ukázali, že huba *Trichoderma viride* uvoľňuje proteolytické enzýmy do rastového média nielen v priebehu mykoparazitizmu, ale ich sekrécia sa dosiahne aj cieľenou indukciou tvorby enzýmov pomocou purifikovaného bielkovinového induktora [1, 2]. Proteolytický profil sekretovaných enzýmov závisí od kultivačných podmienok, predovšetkým od zloženia bielkovinového induktora, od prítomnosti N- a C- zdroja a tiež od veku kultúry. Zymo- grafická analýza proteolytickej aktivity v rastovom médiu huby počas submerznej kultivácie ukázala, že v skorších rastových fázach dochádza k syntéze vysokomolekulových proteáz (okolo 200 kDa), kým v neskorších fázach rastu sa tvoria nízkomolekulové enzýmy. Rozdiely v molekulových vlastnostiach indukovaných proteáz naznačuje, že spúšťanie sekrécie nie je iba v dôsledku nutričných požiadaviek huby, ale pravdepodobne zahŕňa aj neznámy molekulárny proces rozpoznávajúci bielkovinové zloženie v kultivačnom médiu.

Náplňou predloženej práce bolo objasniť, či fenomén indukovanej sekrécie vysokomolekulových proteáz je univerzálnou vlastnosťou aj ďalších druhov z rodu *Trichoderma* a či je možné túto sekréciu spustiť aj inými typmi purifikovaných biopolymérov, ako sú napríklad polysacharidy. S cieľom lepšie pochopiť spúšťanie sekrečného procesu prostredníctvom bielkovinového induktora, pokúsili sme sa identifikovať ektoproteázy v povrchových štruktúrach huby.

*Tento projekt bol podporený vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva Slovenskej republiky (projekt č. 1/0434/08 a 1/0854/11).*

[1] Šimkovič M, Kurucová A, Hunová M, Varečka L, *Acta Chimica Slovaca*, **2008**, 1, 250–264.

[2] Šimkovič M, Kurucová A, Olejníková P, Lakatoš B, Varečka L, *FEBS Journal*, **2008**, 275, 44.