

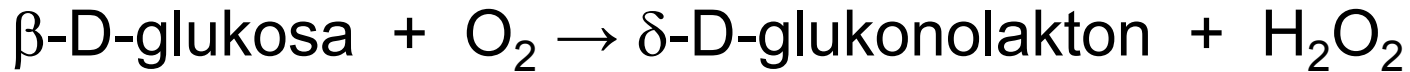
# Oxidoreduktasy



- Katabolismus, respirace, získávání energie
- Převážně intracelulární, vázané na struktury

Glukosaoxidas, peroxidasa, katalasa, lipoxygenasa,  
polyfenoloxidas, laktoperoxidas, xanthinoxidas

**Glukosaoxidasa**,  $\beta$ -D-glukosa: $O_2$  1-oxidoreduktasa,  
EC 1.1.3.4 (notatin)



Výskyt: plísně rodu *Aspergillus* a *Penicillium*

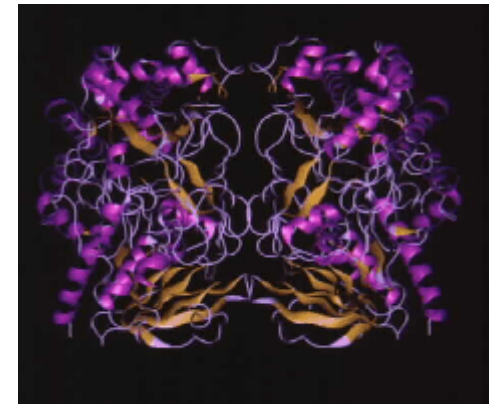
Vlastnosti: Mh 160 kDa, 2 podjednotky 80 kDa,

Kofaktor FAD, Fe

Glykoprotein: 16% neutrálních sacharidů, 2% aminocukrů

pH optimum: 5,5 – 5,8, pI = 4,2

Inhibitory:  $Ag^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ , D-glukal,  $H_2O_2$  (E-FADH<sub>2</sub> 100x rychleji)



# Specifita



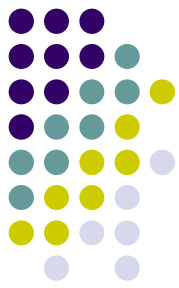
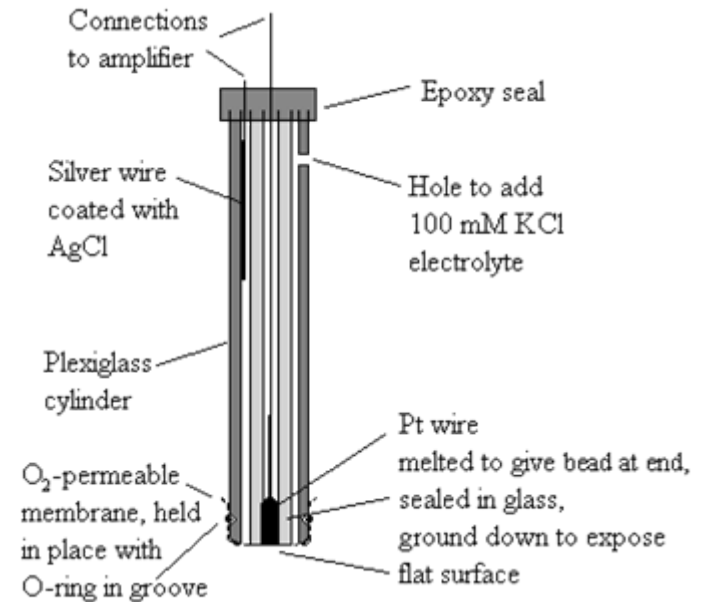
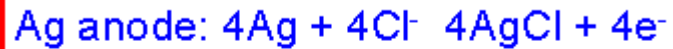
Substrát	Relat. rychl. oxidace (%)
$\beta$ -D-glukosa	100
$\alpha$ -D-glukosa	0,64
L-glukosa	0
D-mannosa	1,0
D-xylosa	1,0
D-galaktosa	0,5
maltosa	0,2
melibiosa	0,1
cellobiosa	0,09

Strukturní vlastnosti substrátu:

- pyranosový kruh v židličkové konformaci
- ekvatoriální C1 OH a C3 OH

# Stanovení aktivity

1. Úbytek kyslíku
2. Stanovení peroxidu vodíku
3. Titrace kyseliny glukonové





1. Úbytek kyslíku
2. Stanovení peroxidu vodíku
3. Titrace kyseliny glukonové



Klasické metody: oxidace I<sup>-</sup>, ferokyanidu

Enzymaticky – POD + chromogenní akceptor (o-dianisidin, ABTS atd.)



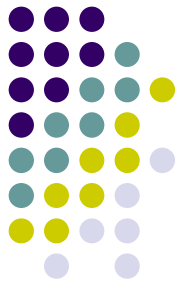
## Využití glukosa oxidasy

- Odstranění glukosy (Maillardovy reakce)
- Odstranění kyslíku
- Příprava kyseliny glukonové
- Produkce peroxidu vodíku
- Kvantitativní stanovení glukosy nebo látek, které lze na glukosu převést
- Stanovení aktivity enzymů

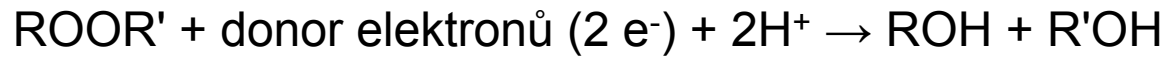
# Oxidoreduktasy působící na peroxid vodíku

katalasa

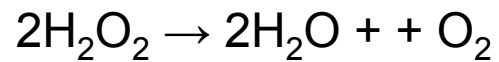
peroxidasa



peroxidasa



katalasa





## Peroxidasas EC 1.1.11.1 - 14

Živočišné - laktoperoxidasa, myeloperoxidasa

Rostlinné a mikrobiální

Skupina I: intracelulární (kvasinková cyt c POD, chloroplastová, cytosolická askorbát POD a bakteriální POD)

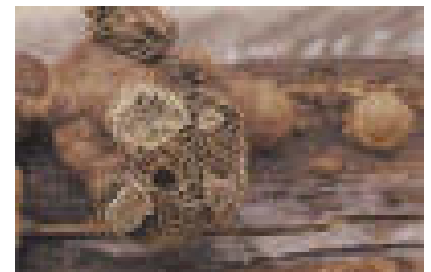
Skupina II: extracelulární plísňové (Fungi) LiP, MnP, LiP/MnP

Skupina III: extracelulární rostlinné (křenová HRP)

+ haloperoxidasas (CPO) – vznik halogenderivátů org. látek - antimikrobiální účinek



Dřevomorka domácí



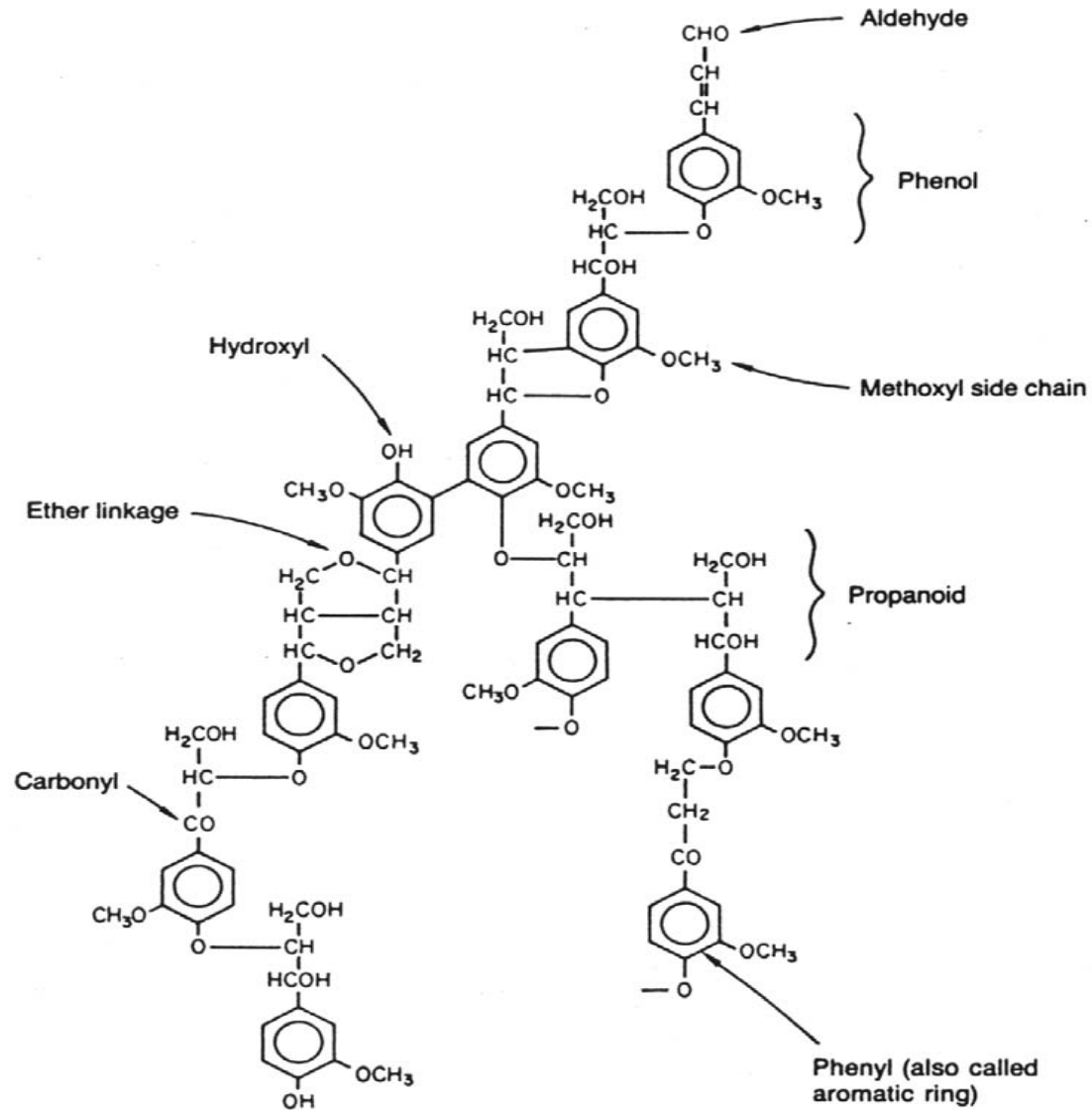
Trámovka trámová

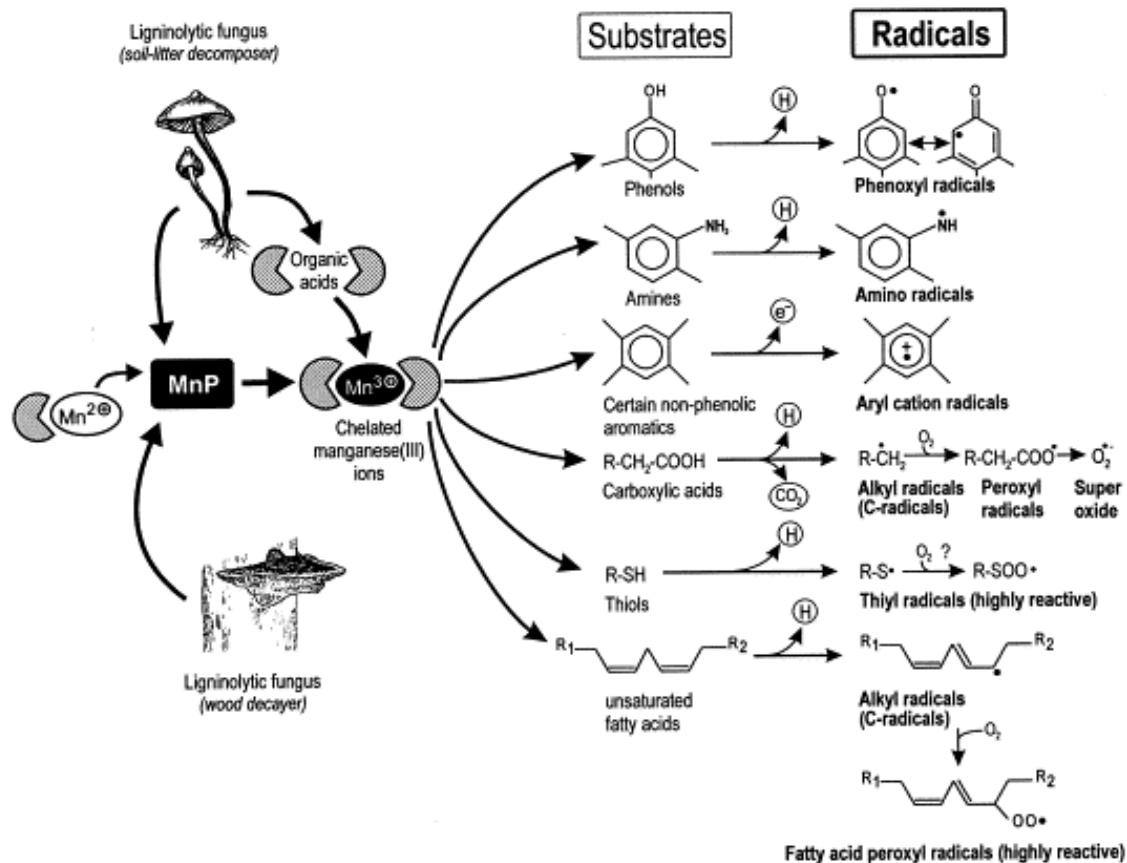
### Využití peroxidas:

1. Analytika
2. Značka (imunotechniky)
3. Příprava proteinů značených radioaktivním I
4. Biotransformace - hydroxylace
5. Biodegradace polyfenolů (barviva, PCB)
6. Biochemické změny v potravinářských surovinách



# Struktura ligninu





Katalasa, EC 1.11.1.6,  $H_2O_2:H_2O_2$  oxidoreduktasa

Vyskytuje se ve všech typech organismů

Vlastnosti: Mh 250 kDa, 4 podjednotky, hem

využití pro rozklad peroxidu vodíku

Potravinářství (k odstranění nadbytku  $H_2O_2$ )  
analytika



Lipoxygenasa, EC 1.13.11.12

Linoleát:O<sub>2</sub> oxidoreduktasa,

Lipoxidasa, karotenoxidasa

Výskyt ve všech eukaryotech

Isoenzymy

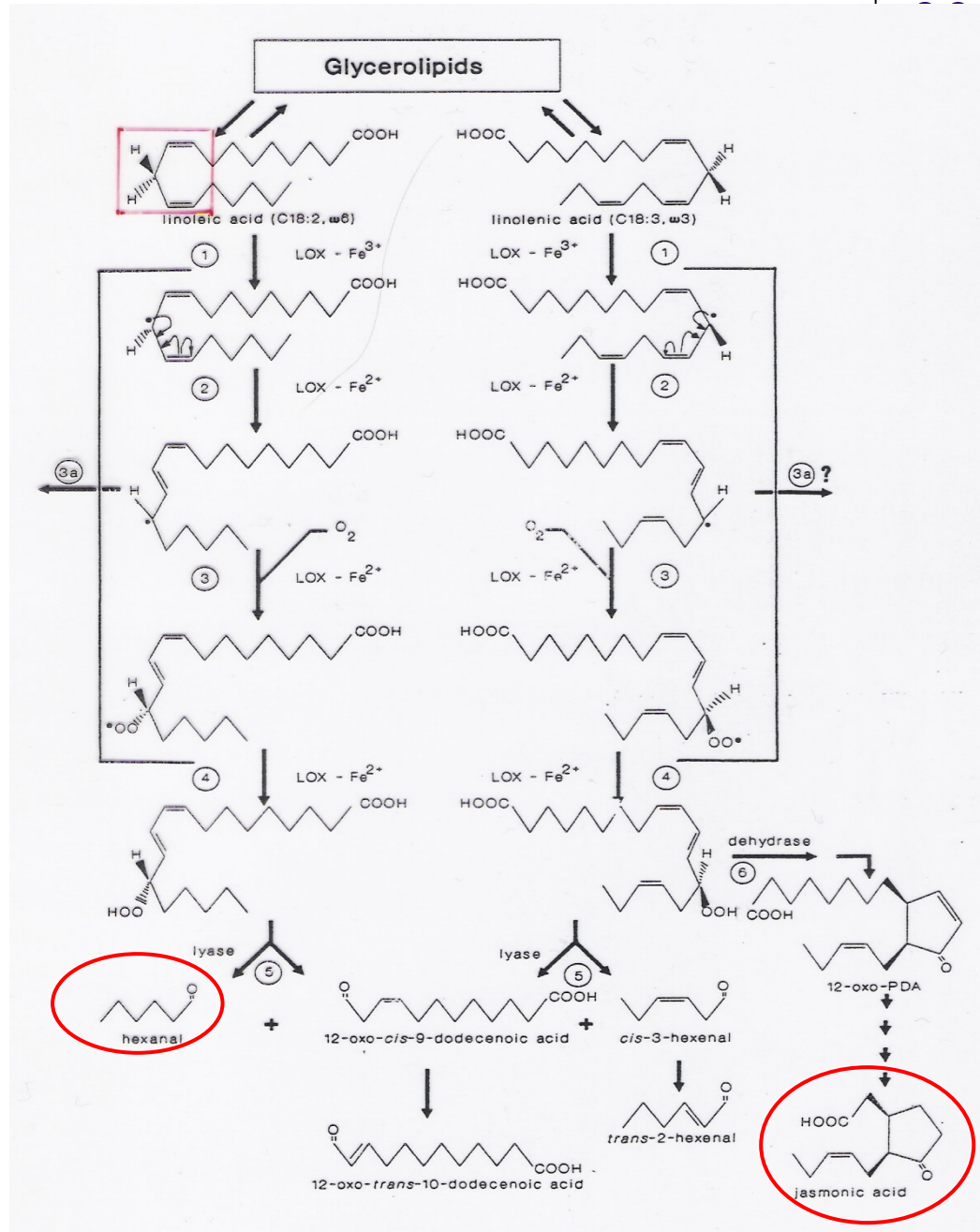
Klasifikace podle místa  
oxidace 9-LOX, 13-LOX

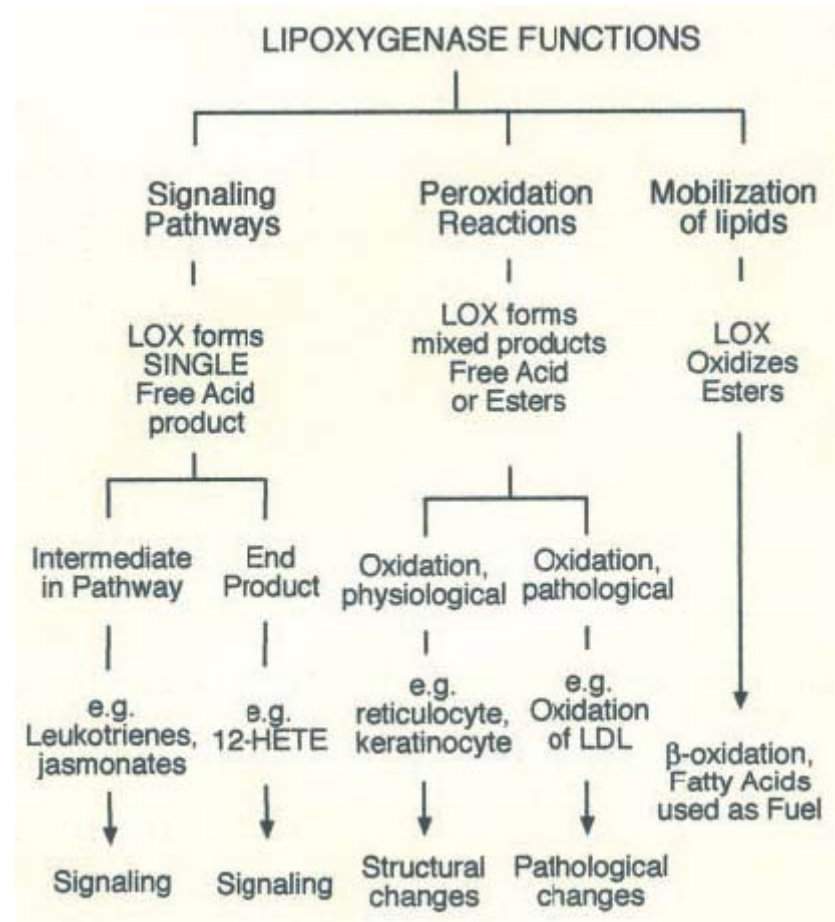
Substrát: k. linolová,  
linolenová, arachidonová

Ko-oxidační reakce

Stanovení aktivity:

1. Spotřeba O<sub>2</sub>
2. UV vnikajících dienů (234 nm)







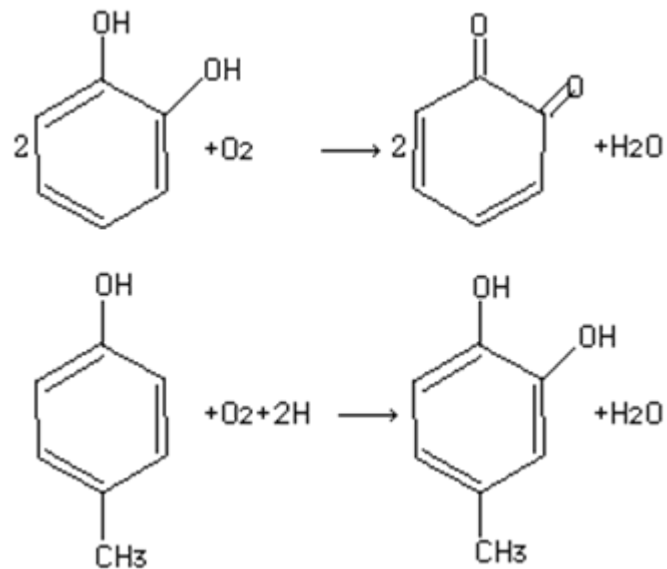
Ostání oxidoreduktasy:

Polyfenoloxidas, EC 1.10.3.1, o-difenol:  $O_2$  oxidoreduktasa

Tetramer obsahující 4 atomy  $Cu^{2+}$

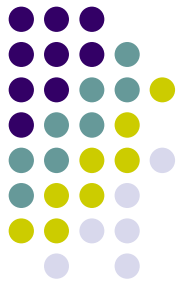
Katalysuje 2 typy reakcí:

1. vznik o-chinonů
2. Vznik polyfenolů

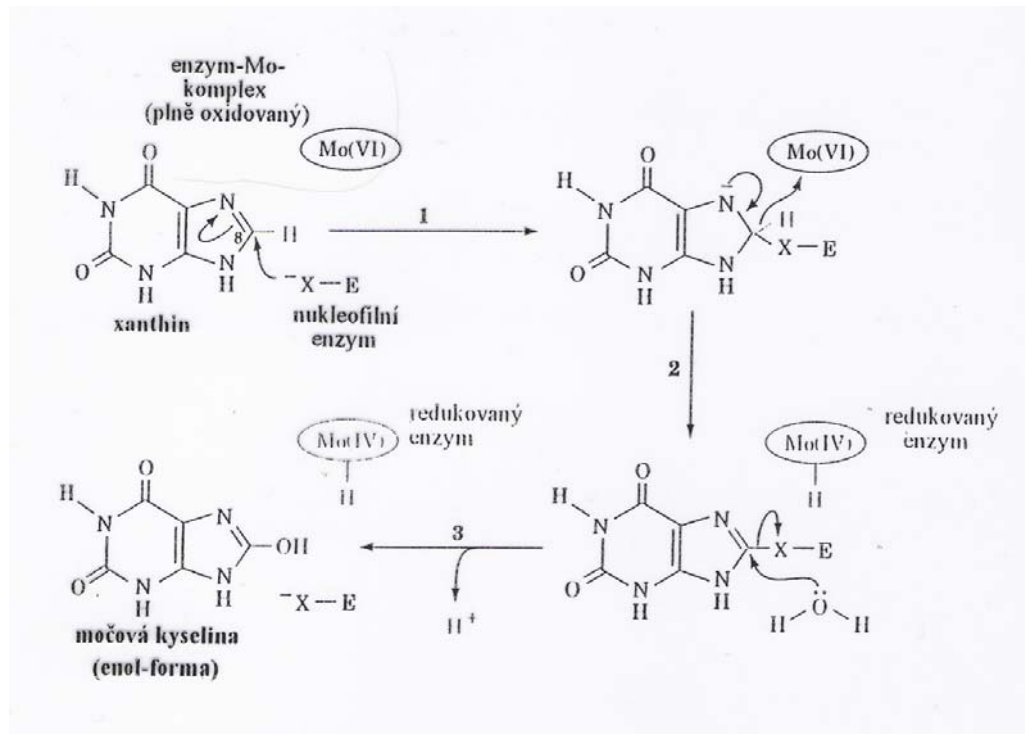


Tyrosinasa, fenoloxidas EC 1.14.18.1

Laccasa EC 1.10.3.2 – vznik semichinonů



Xanthinoxidasa, EC 1.2.3.2, xanthin:O<sub>2</sub> oxidoreduktasa, 2 mol FAD,  
2 Mo, 8 Fe



Askorbát oxidasa, EC 1.10.3.3, askorbát:O<sub>2</sub> oxidoreduktasa

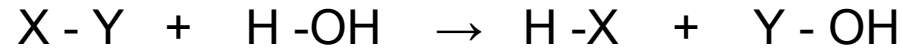
8 Cu<sup>2+</sup>



Kyselina askorbová + O<sub>2</sub> -----> kys. dehydroaskorbová + H<sub>2</sub>O



# Hydrolasy

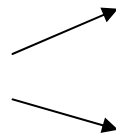


Nomenklatura: klasifikace podle typu štěpené vazby

Z technologického hlediska praktičtější rozdělení podle typu substrátu:

Proteasy

Glykosidasy



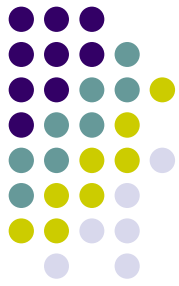
Glukopolysacharidy

Pektinové látky,  
hemicelulosy

Lipasy,  
Fosfolipasy

Ostatní - např. esterasy,  
aminoacylasy

# Proteasy



## **Rozdělení podle různých hledisek:**

1. Původ
2. Lokalisace v organismu, neaktivní formy
3. Optimální pH
4. Specifita
5. Mechanismus působení

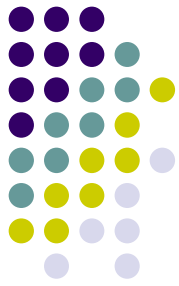
## **Stanovení aktivity:**

- Přirozené substráty (hemoglobin, kasein), UV
- přirozené substráty s adsorbovanými barvivy, VIS
- Syntetické substráty
- ostatní - prací testy, Ansonova metoda,

# Proteasy živočišného původu

Serinové - trypsin, chymotrypsin

Aspartátové - pepsin, chymosin



## Chymotrypsin

pH optimum: ~ 8,0

Specifita: preferenčně za aromatickými AK



## Trypsin

pH optimum: ~ 8,0

Specifita: Arg, Lys

Využití: farmaceutické preparáty (digestiva, léčení podlitin, Wobenzym)

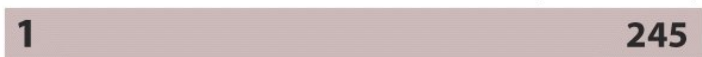
## Pepsin

pH optimum 1,0 - 2,0

# Vznik aktivních forem



**Chymotrypsinogen  
(inactive)**



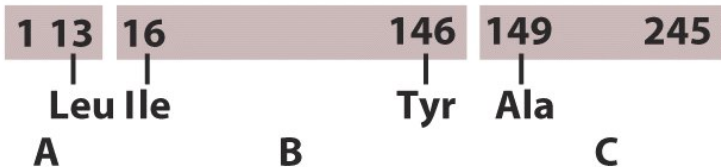
↓ **trypsin**

**$\pi$ -Chymotrypsin  
(active)**



↓  **$\pi$ -chymotrypsin  
(autolysis)**  
→ Ser<sup>14</sup>-Arg<sup>15</sup>  
+ Thr<sup>147</sup>-Asn<sup>148</sup>

**$\alpha$ -Chymotrypsin  
(active)**



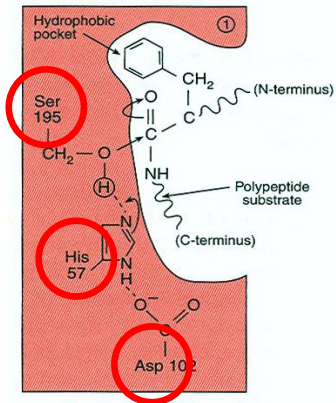
**Trypsinogen  
(inactive)**



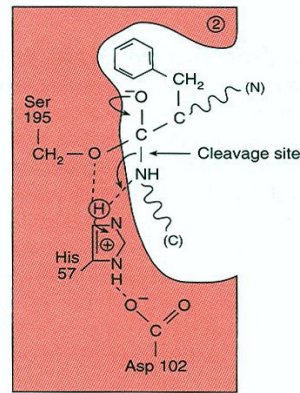
↓ **enteropeptidase**  
→ Val-(Asp)<sub>4</sub>-Lys

**Trypsin  
(active)**

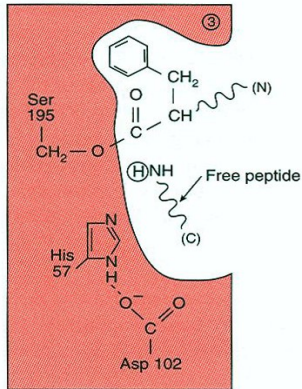




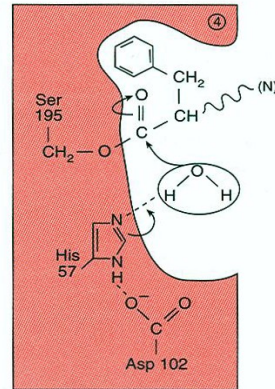
Enzyme-substrate complex



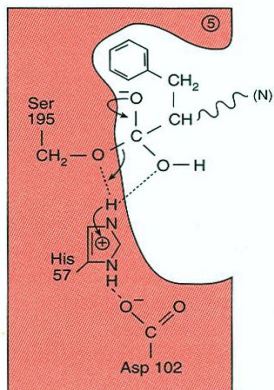
First tetrahedral intermediate



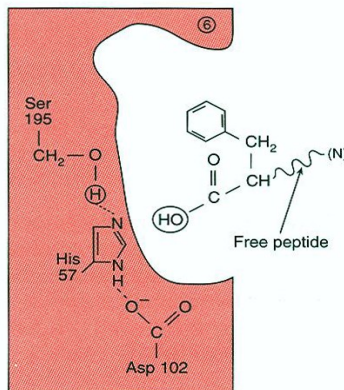
Acyl-enzyme



Acyl-enzyme-H<sub>2</sub>O complex



Second tetrahedral intermediate



Free enzyme

## Molekulární mechanismus účinku chymotrypsinu:

1. nukleofilní atak kyslíku Ser
2. Tvorba a stabilisace prvního intermediátu
3. Vznik prvního produktu reakce
4. Nukleofilní atak kyslíku molekuly vody
5. Tvorba druhého intermediátu
6. Uvolnění druhého produktu reakce

# Chymosin (rennin), EC 3.4.23.4



Autokatalýza - pH 5 → chymosin

pH 2 → pseudochymosin

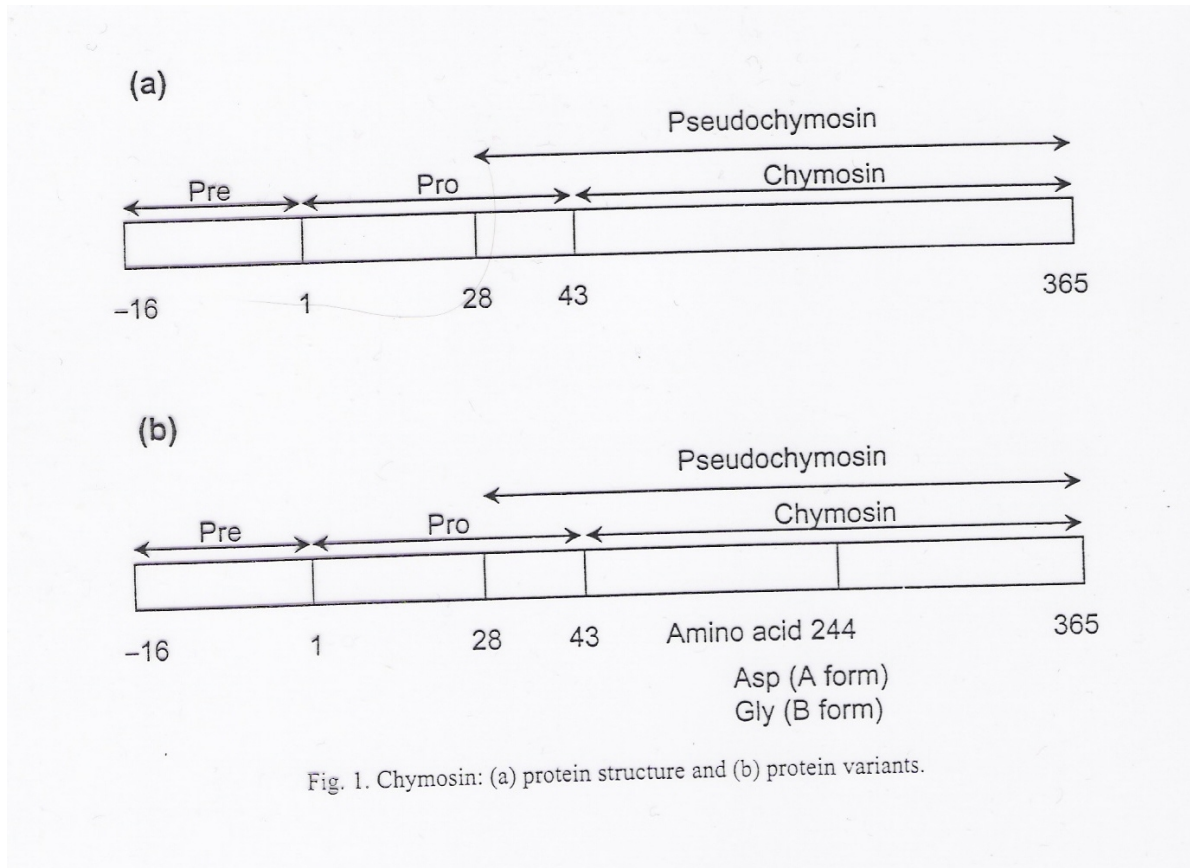
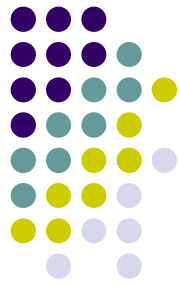
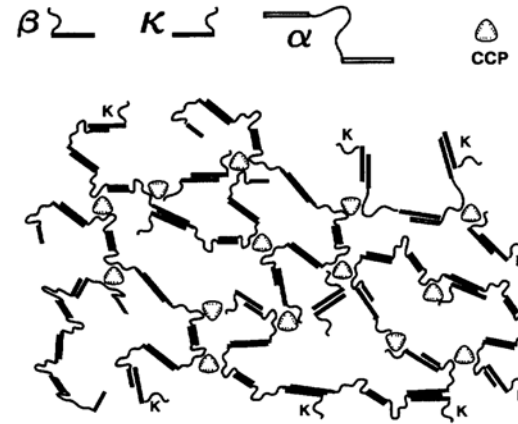


Fig. 1. Chymosin: (a) protein structure and (b) protein variants.

Specifita chymosinu  
Aspartátová proteasa,  
pH optimum 3,5 - 6,5



Povrch  
kaseinové  
mycely

-glu-.....-his-(pro-his)<sub>2</sub>-leu-ser-phe-met-ala .....val  
1 105 106 169

Para-k-kasein  
hydrofobní

kaseinmakropeptid  
hydrofilní

Rekombinantní: mRNA z mukosy předžaludků - produkční MO - E.coli, B. subtilis,  
S.cerevisiae, K. lactis, A. niger

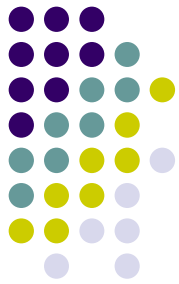


# Pepsin

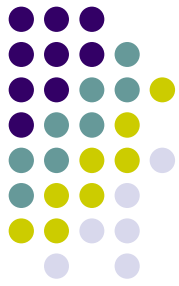
pH optimum 1,0 - 2,0

Autokatalytická aktivace v přít. HCl

Pepsin A, B (gelatinasa) C (gastriksin)



# Rostlinné proteasy



Papain  
Bromelain  
Ficin  
Aktinidin

} SH-proteasy

# Mikrobiální proteasy



MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, Sept. 1998, p. 597–635  
1092-2172/98/\$04.00+0  
Copyright © 1998, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 62, No. 3

## Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases†

MALA B. RAO, APARNA M. TANKSALE, MOHINI S. GHATGE, AND VASANTI V. DESHPANDE\*

*Division of Biochemical Sciences, National Chemical Laboratory, Pune 411008, India*

# Mikrobiální proteasy



MIKROBIÁLNÍ PROTEASY

Mikroorganismus		serinové	SH-	aspartátové	metalo
Bacillus	alcalophilus	+			
	amyloliquefaciens	+			
	amylosaccharicus	+			
	licheniformis	+		+	
	lentus				+
	polymixa				+
	subtilis				+
	thermoproteolyticus				+
Aspergillus	flavus	+			
	melleus	+			
	oryzae	+		+	+
	niger			+	
	saitoi			+	
	sojae			+	
	Endothia parasitica			+	
	Mucor miehei			+	
	Mucor pusillus			+	
	Penicillium sp.			+	
	Rhizopus delemar			+	
	Clostridium sp.				+
	Streptomyces griseus				+

# Mikrobiální proteasy - vlastnosti



## ■ Bakteriální (Bacillus)

**Neutrální** - metaloproteasy, serinové proteasy

pH 5 – 8, nízká termotolerance (výhoda pro proteinové hydrolyzáty)

nejsou inhibovány rostlinnými inhibitory proteas

specifita – hydrofobní AK

Thermolysin -  $Zn^{2+}$  metaloproteasa z *B.thermoproteolyticus*, stabilisace  $Ca^{2+}$  při vyšší teplotě (1h, 80 °C, 50% aktivity)

**Alkalické** - pH optimum  $\approx 10$ , optimální teplota  $\approx 60$  °C (ideální pro biodetergenty)

široká specifita (zdroj alkalofilní nebo alkalotolerantní MO)

Subtilisin – alkalická serinová proteasa , 27,5 kDa, typ Carlsberg a BNP

kat. triáda Asp32,His61,Ser221

## Proteinové inženýrství: 50% AK z 275

↑aktivity, – SDM Met222xSer, Ala

změna specifity mutacemi ve vazebném místě

↑termostability – zavedení S-S můstků

↑stability v alkalickém prostředí

↓autoproteolýzy –



■ **Plísňové** – kyselé, neutrální, alkalické, široké rozmezí pH 4 – 11

široká specifita, nižší termotolerance

Kyselé – pH 4 – 4,5, stabilní při 2,5 – 6,0 – pepsinového a chymosinového typu

Neutrální jsou metaloproteasy



# Glykosidasy

Hydrolýza glykosidických vazeb v homo i heteroglykosidech

Faktory ovlivňující specifitu glykosidas

- konfigurace sacharidu (D-, L-,  $\alpha$ -,  $\beta$ -)
- charakter cyklické formy (furanosa, pyranosa)
- charakter aglykonu, charakter atomu v glykosidické vazbě
- velikost molekuly

# Stanovení aktivity glykosidas



- Zvýšení redukční schopnosti produktů
- Změna fyzikálních vlastností substrátů (viskozita)
- Změna optické otáčivosti (refraktometrie)
- Kolorimetrie s využitím barevných polysacharidů
- Speciální metody (enzymové)



# Glykosidasy



## ➤ Enzymy konvertující škrob

Endoamylasy	$\alpha$ -amylasa ( $\alpha$ -1,4)
Exoamylasy	$\beta$ -amylasy ( $\alpha$ -1,4)
	Glukoamylasy ( $\alpha$ -1,4 a $\alpha$ -1,6)
	$\alpha$ -glukosidasy ( $\alpha$ -1,4 a $\alpha$ -1,6)
Odvětvující enzymy	pullulanasy ( $\alpha$ -1,6)
	Isoamylasy ( $\alpha$ -1,6)
Transferasy	Cyklodextrin glykosyltransferasa ( $\alpha$ -1,4)
	Větvící enzym ( $\alpha$ -1,6)

➤ Invertasa,  $\beta$ -galaktosidasa

➤ Celulolytické enzymy

➤ Pektolytické enzymy

# Enzymy degradující škrob

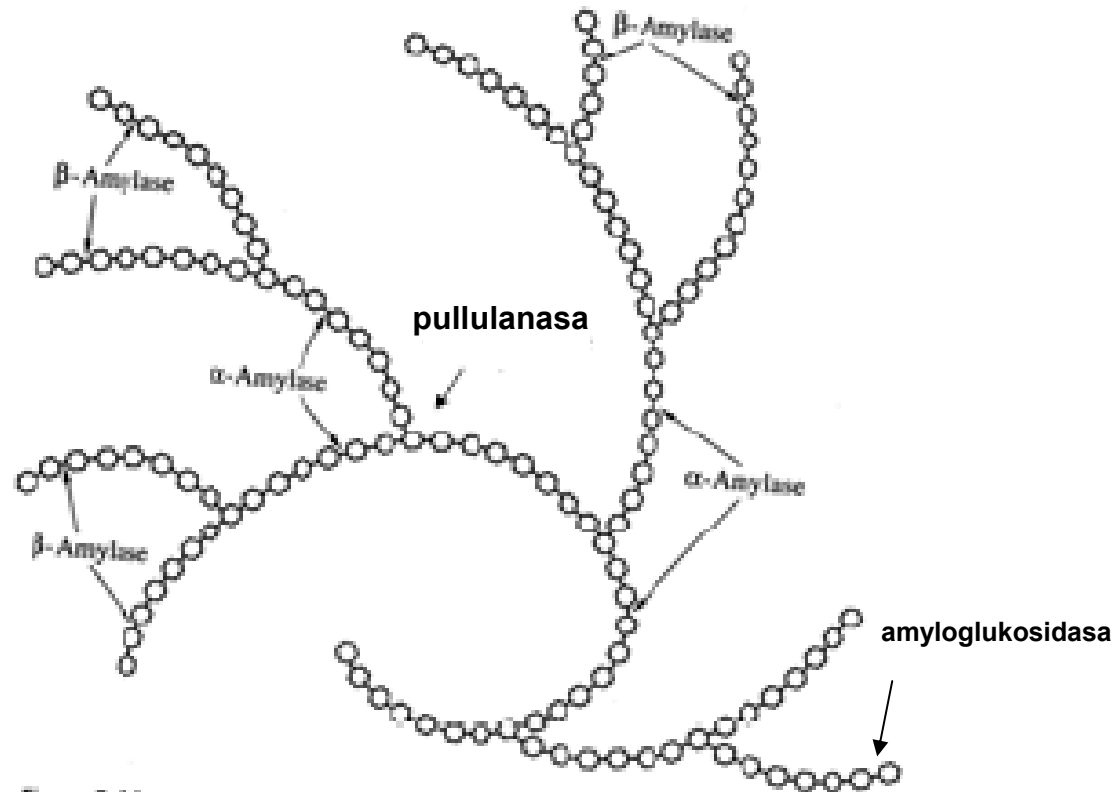
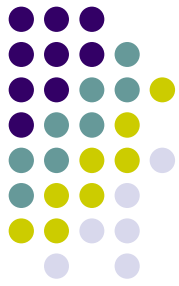
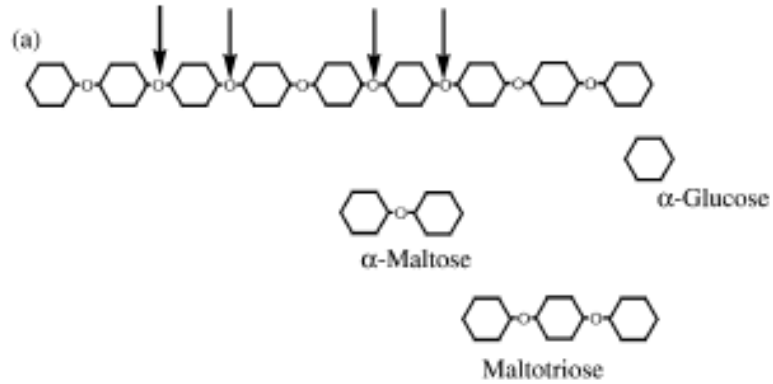


Figure 8-14



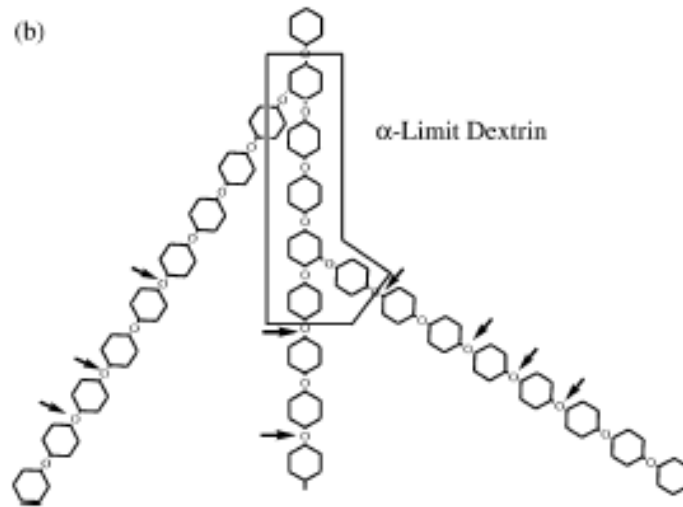
# Produkty enzymové degradace škrobu:

Exo - , endoamylasy

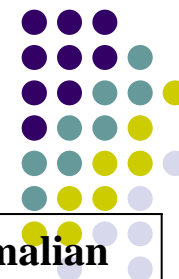


+ isomaltosa

+  $\beta$  limitní dextriny



## Zdroje amylas



Plant $\alpha$ -amylase	Plant $\beta$ -amylase	Bacterial $\alpha$ -amylase	Fungal $\alpha$ -amylase	Glucos- amylase	Mammalian $\alpha$ -amylase
Barely and malted barely	Barely and malted barely	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Aspergillus niger</i>	Saliva
Wheat and malted wheat	Soybean sweet potato	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aspergillus candidus</i>	<i>Rhizopus delemar</i>	Pancreas
Malted sorghum pearl millet maize	Wheat	<i>Bacillus coagulans</i>		<i>Rhizopus niveus</i>	
		<i>Pseudomonas stutzeri</i>			

Bakteriální - termostabilní (110 °C), pH - neutrální, Ca<sup>2+</sup>, stabilisace substrátem

Plísňové - nižší teplotní stabilita, specifita  $\beta$ -amylasová

# Odvětující enzymy

R-enzymy

**Pululanasy** – štěpí  $\alpha$ - i -limitní dextriny a amylopektin

**Isoamylasa** – nehydrolyzuje pullulan, preferuje  $\alpha$ -limitní dextriny

*Aerobasidium pullulans*

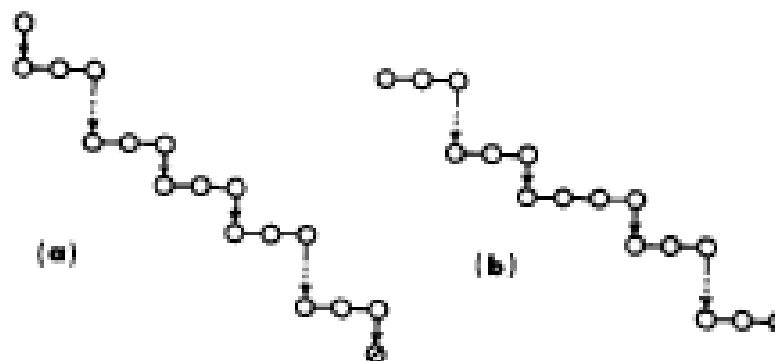


Fig. 1.(a) The structure of pullulan proposed by Wallenfels et al. [2] with terminal tetrasaccharide units.

(b) The structure proposed by Catley et al. [3] with maltotetraose units located within the polymer.

$\alpha$ -1,6-Linkages are represented by  $\dashv$ ,  $\alpha$ -1,4-linkages by  $\text{—}$ . Non-reducing glucosyl units are shown by  $\circ$ , and reducing units as  $\odot$ .



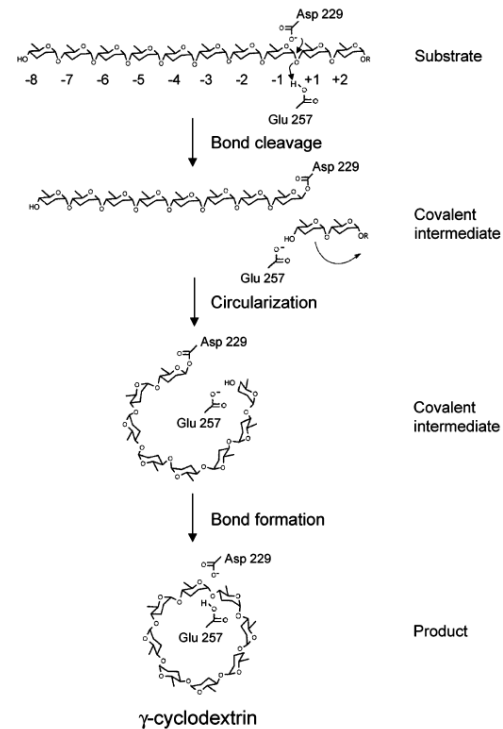


## Trnasferasové aktivity....

1. Glykosidasy obecně
2. Amylomaltasa (EC 2.4.1.25, tvořící  $\alpha$ -1,4 vazby)
3. Větvící enzym (EC2.4.1.18, tvořící  $\alpha$ -1,6 vazby)
4. Cyklodextringlykosyltransferasa, (EC 2.4.1.19) B.macerans

Substrát: škrob,  
oligosacharidy

Fig. 2 Scheme of the  $\gamma$ -cyclization reaction of CGTase. The enzyme first cleaves the  $\alpha$ -1,4-glycosidic bond between the residues bound at subsites +1 and -1, resulting in a covalent intermediate. The linear chain of the intermediate assumes a cyclic conformation, which is the circularization step. Subsequently, an  $\alpha$ -1,4-glycosidic bond is reformed with the terminal 4-hydroxyl group of the intermediate. The catalytic residues involved in bond cleavage are Asp229 and Glu257 (numbering in *B. circulans* 251 CGTase), which are absolutely conserved in the  $\alpha$ -amylase family (Uitdehaag et al. 2002b)



# Cyklické oligosacharidy:

... a vyšší

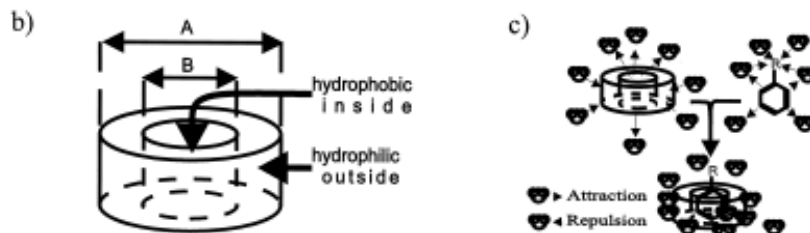
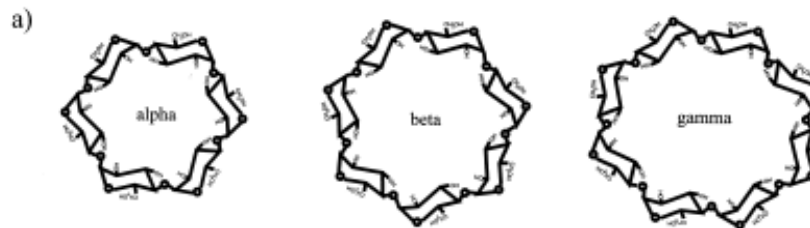
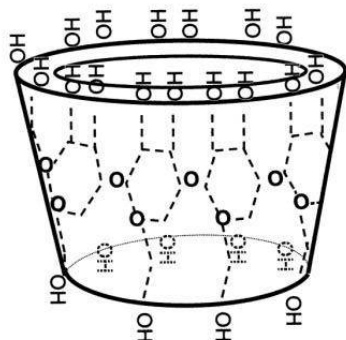


Fig. 1. Structure and properties of cyclodextrins. (a)  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -cyclodextrins; (b) three-dimensional form and properties of cyclodextrins (for sizes of A and B, see Table I); (c) formation of inclusion complex of a cyclodextrin with a hydrophobic molecule. (Reproduced from Penninga [13].)

## Ovlivnění vlastností inkorporovaných molekul:

Stabilisace

Nižší těkavost

Změna chemické reaktivity

Zvýšení rozpustnosti

Změna sensorických vlastností

## Využití:

Analytická chemie

Zemědělství

Výroba léčiv

Potravinářství ( $\downarrow$ cholesterol)

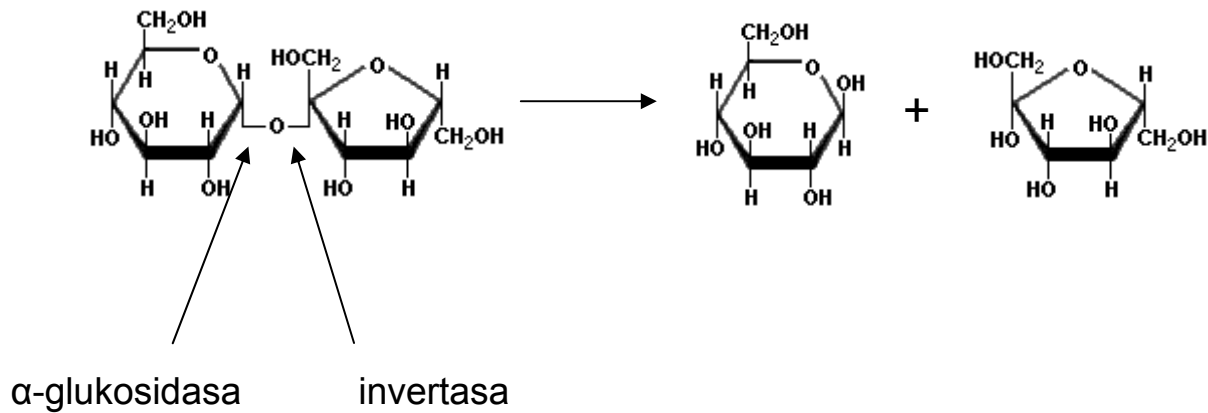
Kosmetický průmysl



INVERTASA, EC 3.21.26,  $\beta$ -D-fruktofuranosidfruktohydrolasa

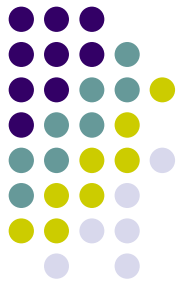
Rostlinná, MO (kvasinková)

Intra- i extracelulární, glykoprotein (50% sach. komp.)

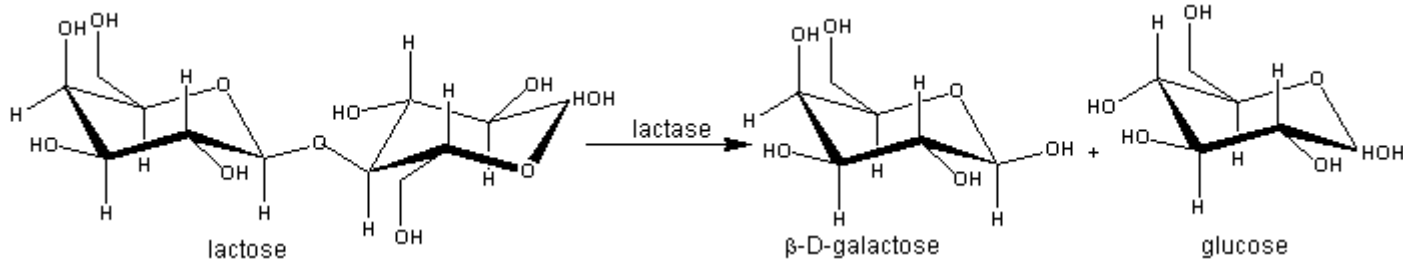


Výroba invertního cukru - konzervárenství, cukrovinkářství





## $\beta$ -galaktosidasa - (EC 3.2.1.23)



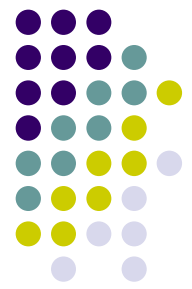
Zdroje: bakterie, plísně, kvasinky

Plísňové - kyselé pH 2,4 - 5,4, 50°C

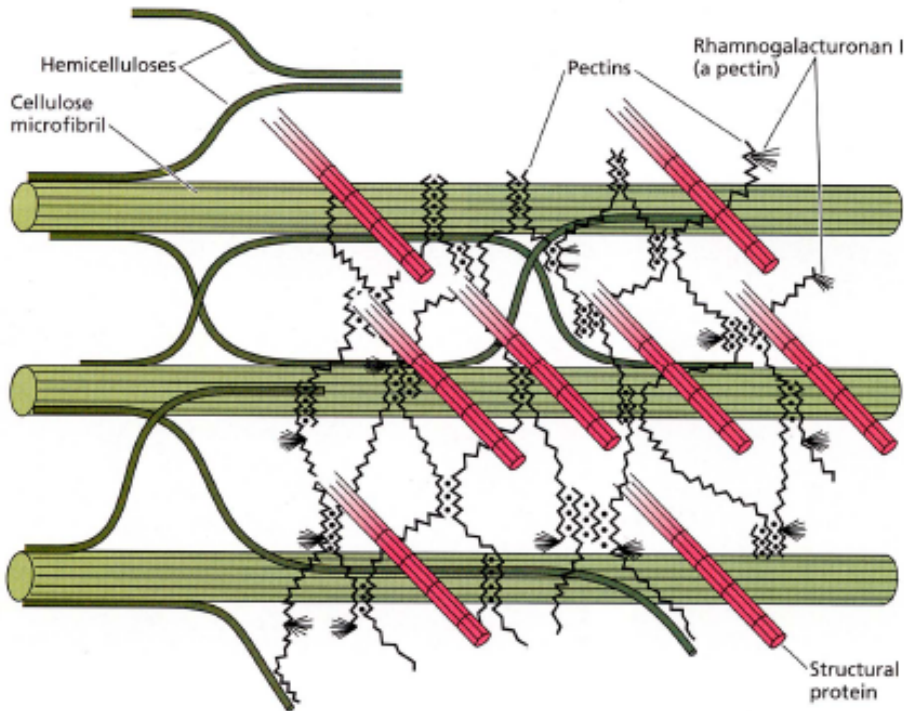
Psychrofilní organismy

mlékárenství

# Enzymy degradující polysacharidy buněčných stěn rostlin



Složky b.s. rostlin:

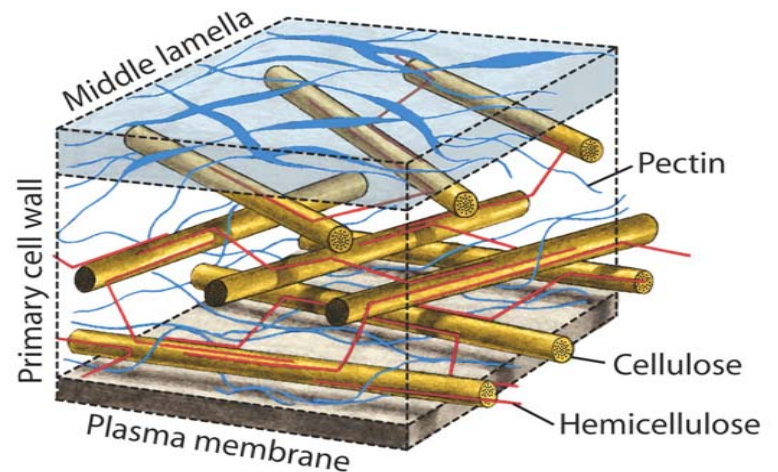


Celulosa

Hemicelulosy

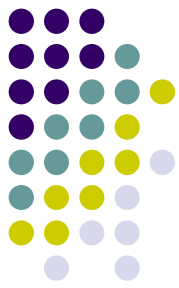
Pektin

Strukturní protein - extensin

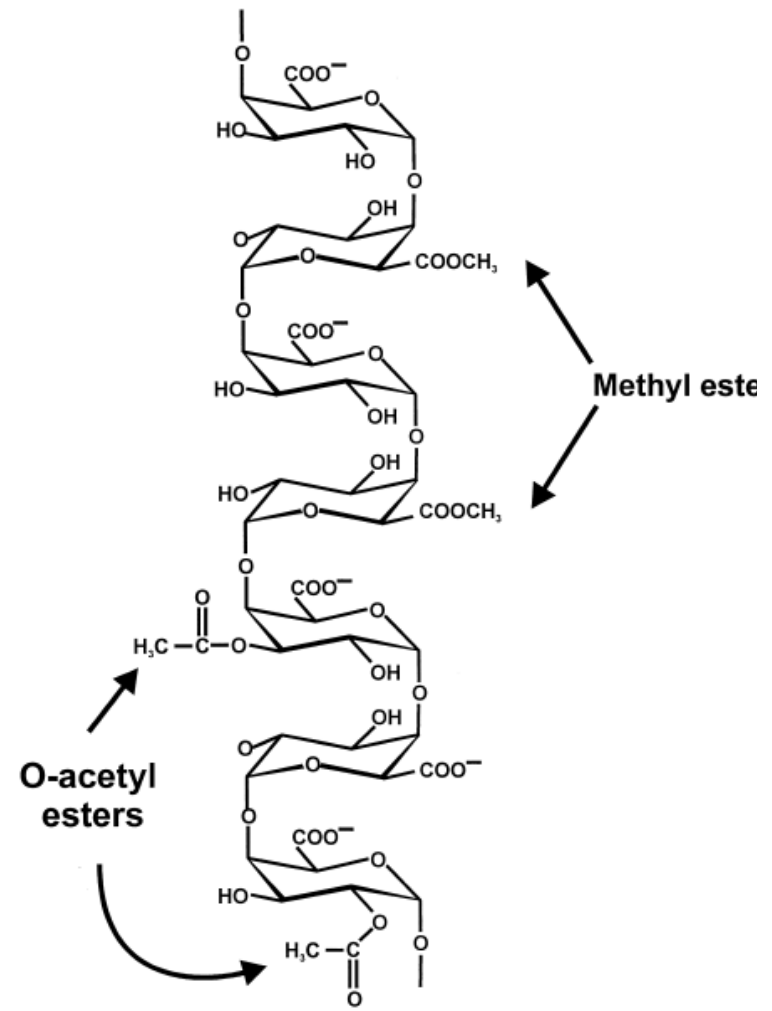


# Pektinové látky – struktura:

1. Homopolygalakturonan
2. Rhamnogalakturonan I
3. Rhamnogalakturonan II



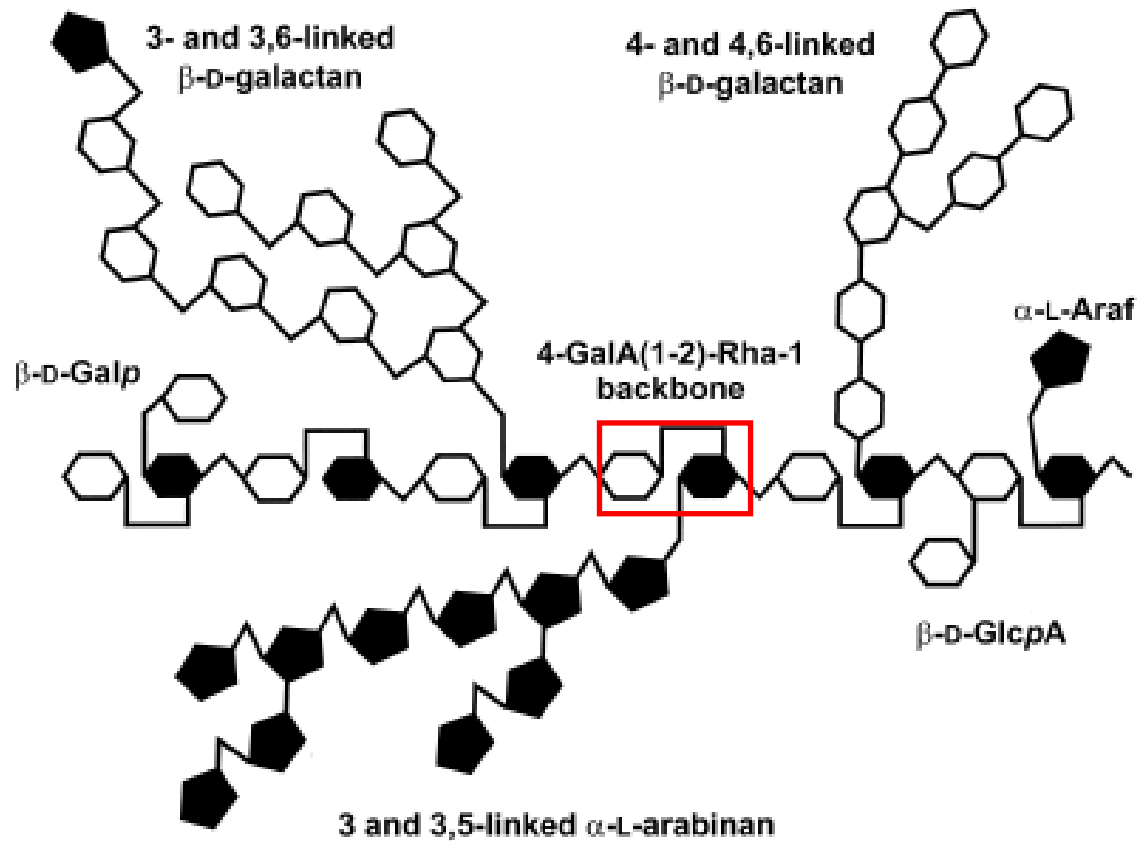
Homogalakturonan (HG) -  
lineární, GalA,  $\alpha$ 1,4-

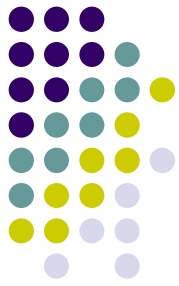


Rhamnogalakturonan I - větvený,

páteř  $[\rightarrow 4)\text{-}\alpha\text{-D-GalpA-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-L-Rhap-(1}\rightarrow]$

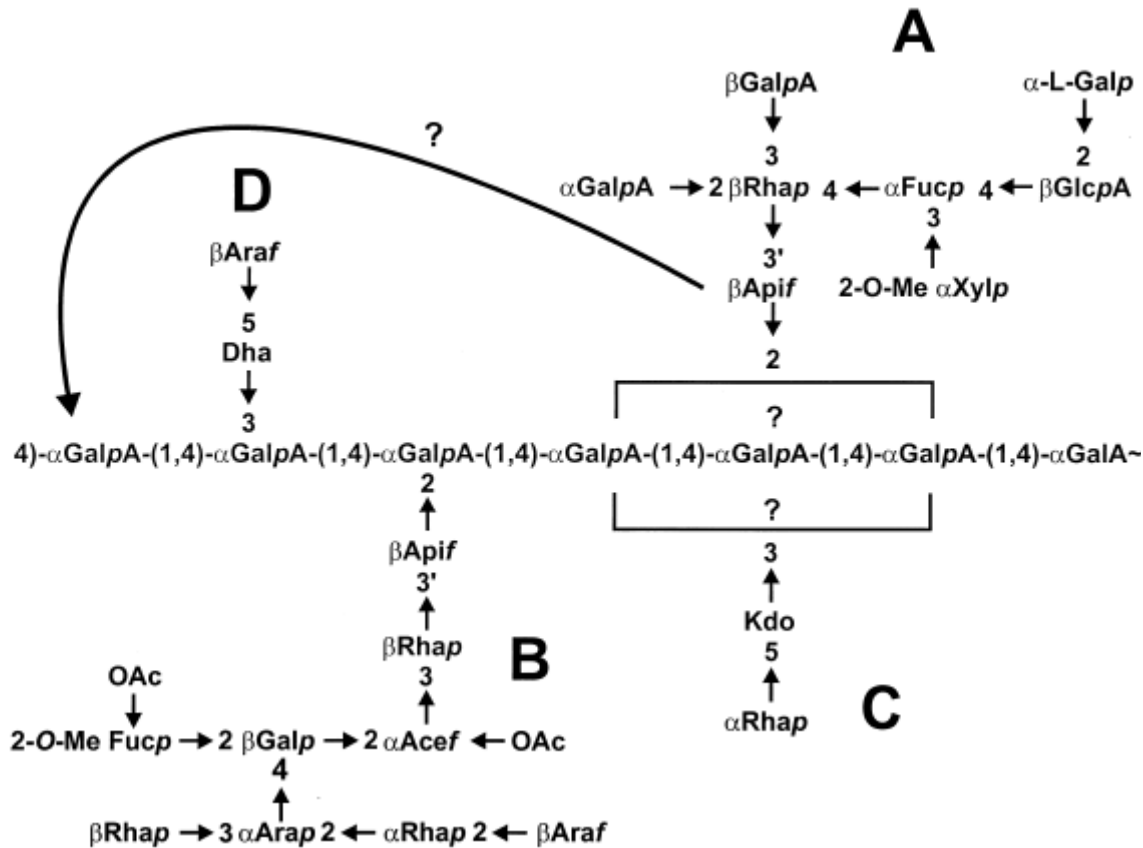
Větvení na C4 Rha





# Rhamnogalakturonan II větvený

Páteř polygalA, 4 typy postranních řetězců



# Struktura pektinu



Mh:

Jablka, citron 200 - 300 kDa

Hrušky, švestky 25 -35 kDa

Pomeranče 40 - 50 kDa

Cukrovka 40 - 50 kDa

## Zastoupení

Table 1  
Composition of pectin in different fruits and vegetables

Fruit/vegetable	Tissue	Pectic substance (%)
Apple	Fresh	0.5-1.6
Banana	Fresh	0.7-1.2
Peaches	Fresh	0.1-0.9
Strawberries	Fresh	0.6-0.7
Cherries	Fresh	0.2-0.5
Pine	Fresh	0.9-1.4
Carrots	Dry matter	6.9-18.6
Orange pulp	Dry matter	12.4-28.0
Potatoes	Dry matter	1.8-3.3
Tomatoes	Dry matter	2.4-4.6
Sugar beet pulp	Dry matter	10.0-30.0

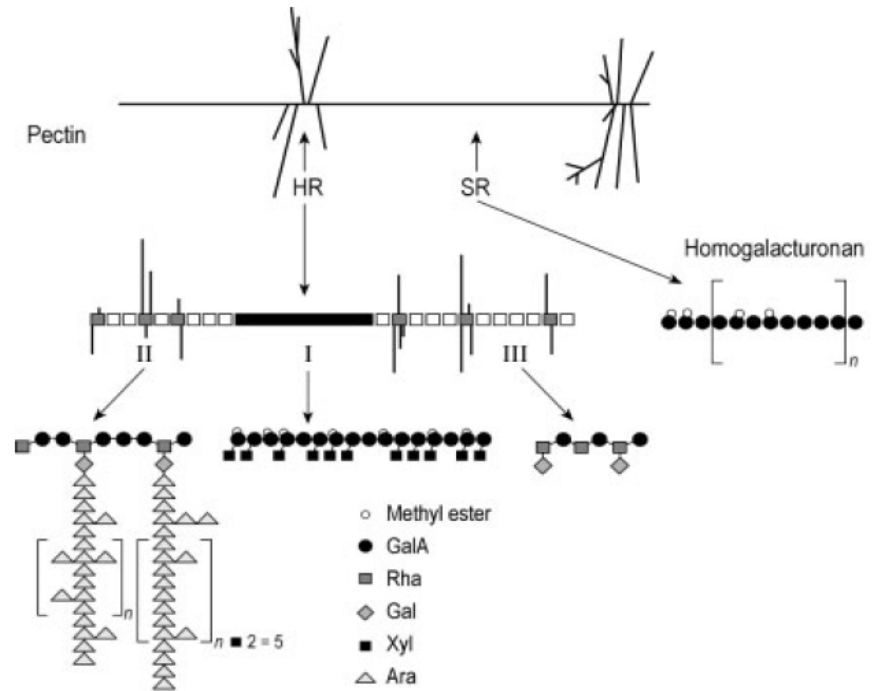
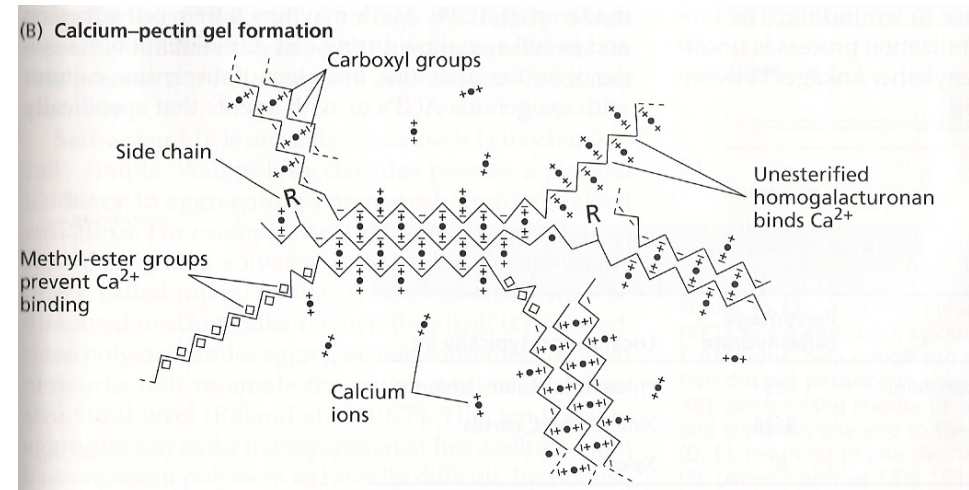
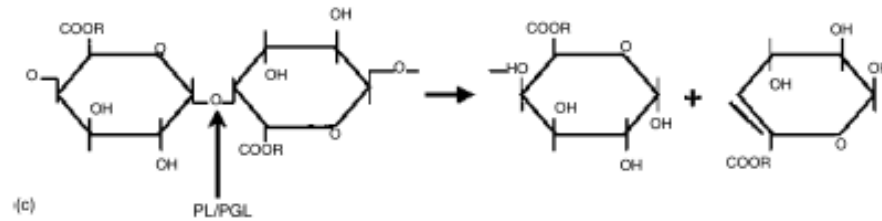
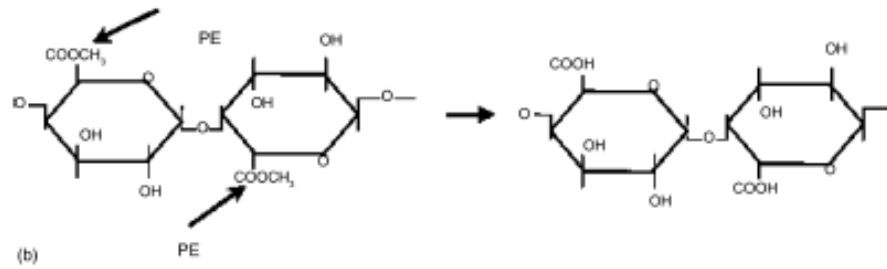
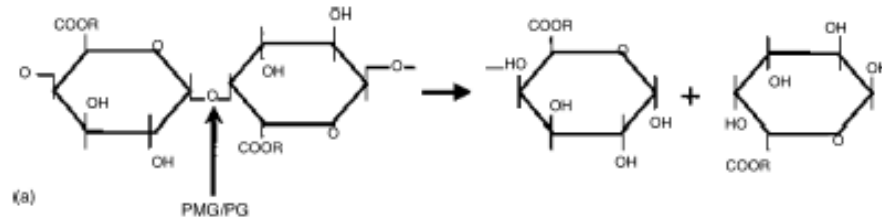
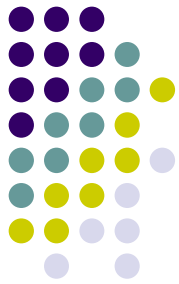
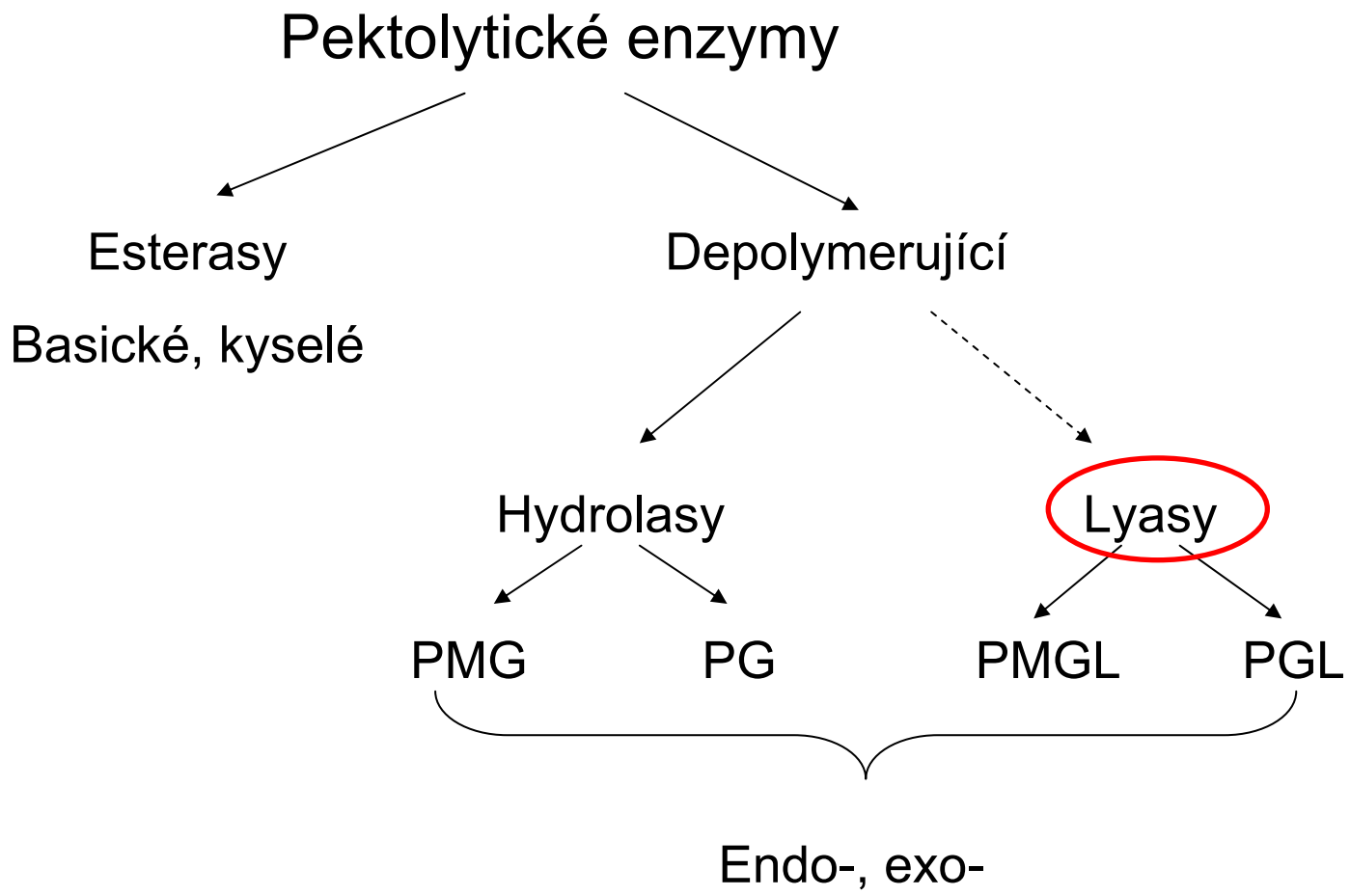


Figure 36. Model of pectin smooth regions (SR) and hairy regions (HR) model [483]. Ara = arabinose, Gal = galactose, GalA = galacturonic acid, Rha = rhamnose, Xyl = xylose.



# Reakce katalysované pektolytickými enzymy









## Depolymerační enzymy

### 1. Polygalakturonasy

pH-optimum 4 -5

Endopolygalakturonasy      x      exopolygalakturonasy

Snížení viskozity

digalakturovová kyselina (bakteriální)

Vyšší oligogalakturonidy

galakturonová kyselina (plísňové)

### 2. Lyasy

pH optimum 8 - 9

Pouze bakteriální

Stanovení aktivity:  
změna viskozity,  
syntetické substráty

Lyasy: UV 234(vznik  
dvojně vazby



## Pektinesteraasy

Specifita: D-galakturonany, volný karboxyl

### **Basické** (pH optimum 7 - 8)

- rostlinné
- mikrobiální
- plísňové



### **Kyselé** (pH optimum 4 - 6)

- plísňové

deesterifikace v blocích

Inhibice produktem (pektát)

oligogalakturonáty

Stanovení aktivity:  
viskozita, titrace

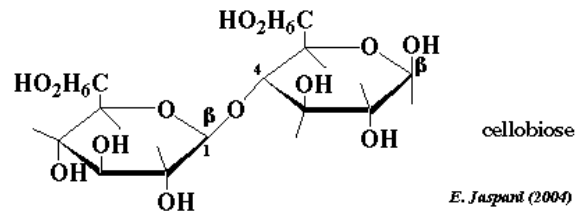
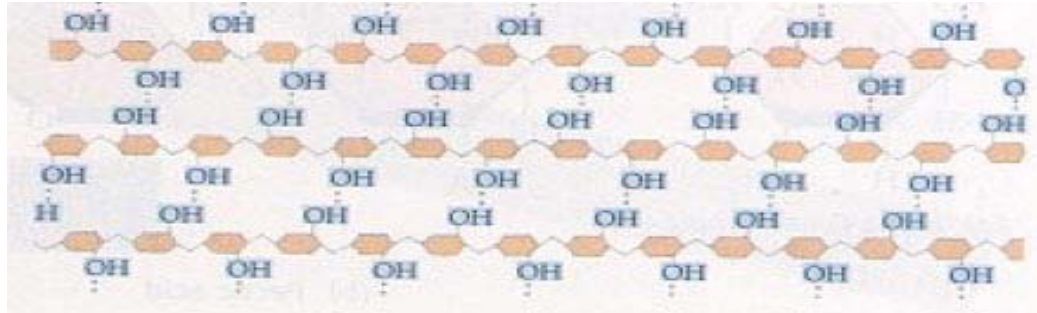
deesterifikace statisticky



## Pektinové látky – klasifikace (spíše potravinářská)

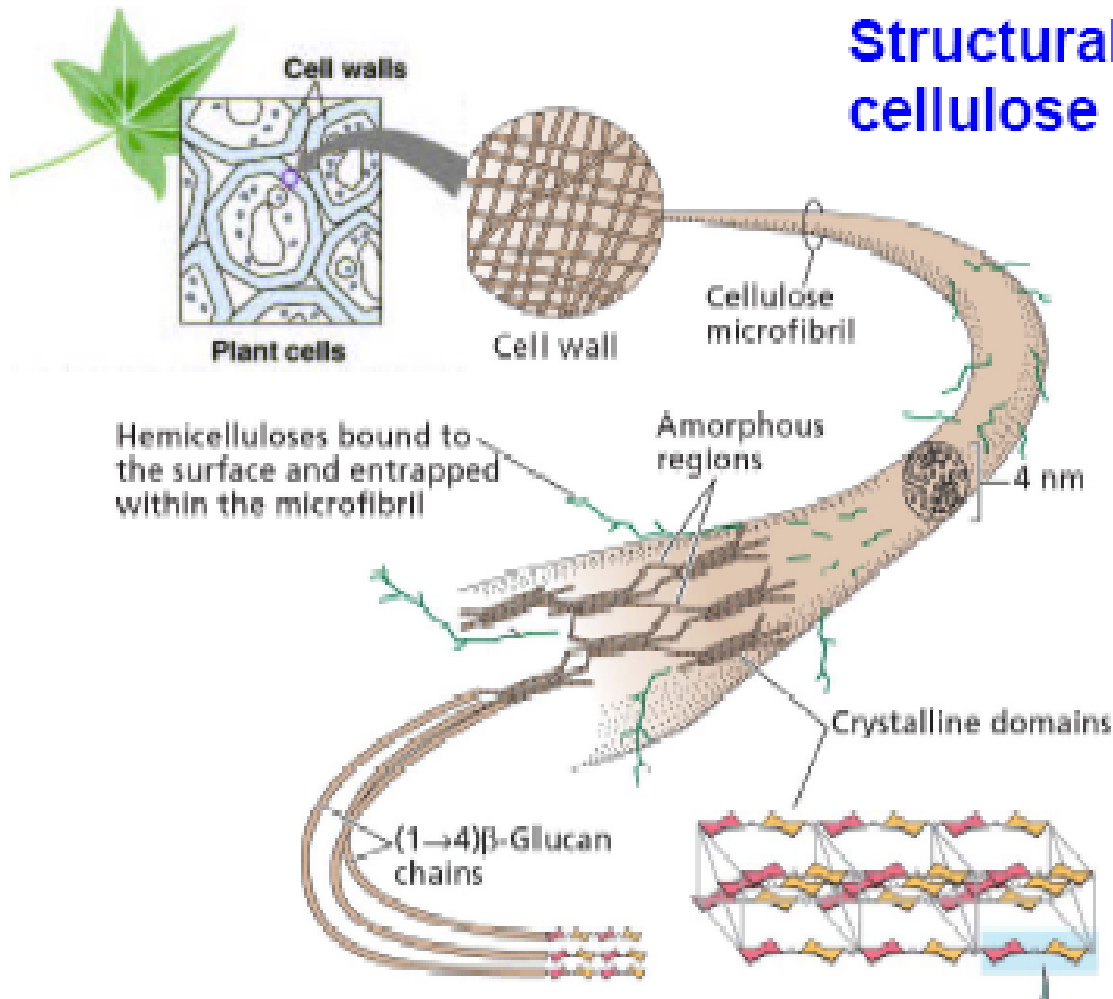
1. **Protopektin** – ve vodě nerozpustný, přítomen v intaktním pletivu, limitovanou hydrolýzou vzniká pektin a kyselina pektová
2. **Kyselina pektová** – rozpustný homopolygalakturonan , prakticky neesterifikovaný
3. **Pektinová kyselina** – vyšší stupeň esterifikace – do 75%
4. **Pektin** – polymethylgalakturonát , nejméně 75% karboxylových skupin je esterifikováno

# Struktura cellosy



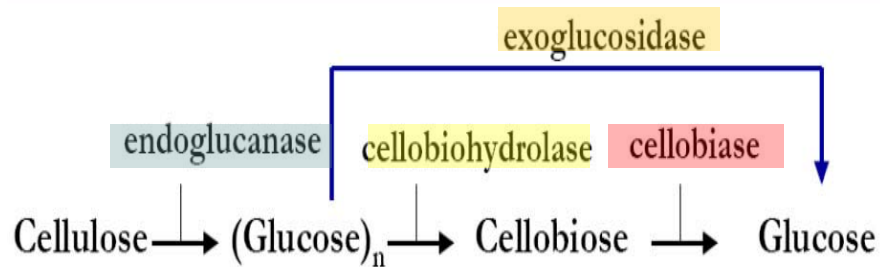
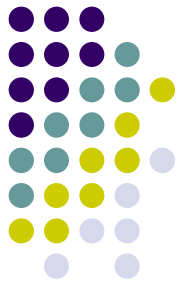


## Structural model of a cellulose microfibril



# Celulolytické enzymy

Celulasy - multikomponentní enzymový systém



Hlavní producent:  
Trichoderma reesei

Problém: glukosa a cellobiosa jsou inhibitory celulasového systému

glykoprotein

2 domény: katalytická + vazebná

# Metody stanovení celulolytické aktivity



Table 2  
Substrates containing  $\beta$ -1,4-glucosidic bonds hydrolyzed by cellulases and their detections

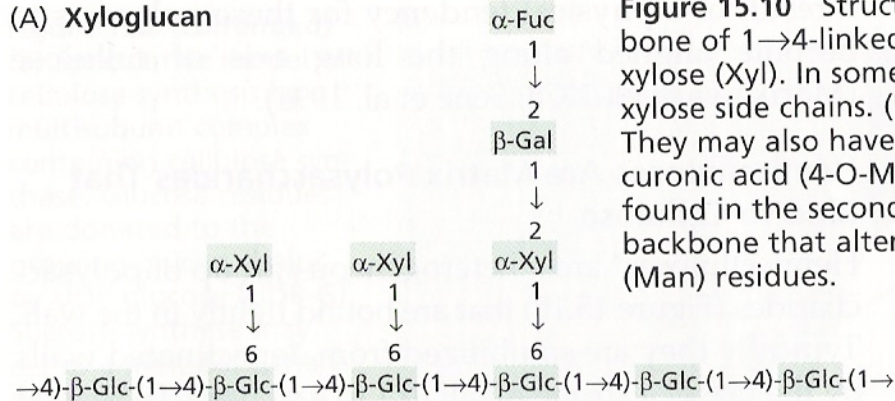
Substrate	Detection <sup>a</sup>	Enzymes
<b>Soluble</b>		
Short chain (low DP)		
Cellodextrins	RS, HPLC; TLC	Endo, Exo, BG
Radio-labeled cellodextrins	TLC plus liquid scintillation	Endo, Exo, BG
Cellodextrin derivatives		
$\beta$ -methylumbelliferyl-oligosaccharides	Fluorophore liberation, TLC	Endo, Exo, BG
<i>p</i> -nitrophenol-oligosaccharides	Chromophore liberation, TLC	Endo, Exo, BG
Long chain cellulose derivatives		
Carboxymethyl cellulose (CMC), hydroxyethyl cellulose (HEC)	RS; viscosity	Endo
Dyed CMC	Dye liberation	Endo
<b>Insoluble</b>		
<b>Crystalline cellulose-</b>		
Cotton, microcrystalline cellulose (Avicel), Valonia cellulose, bacterial cellulose	RS, TSS, HPLC RS, TSS, HPLC	Total, Endo, Exo
Amorphous cellulose - PASC, alkali-swollen cellulose RAC	RS, TSS, HPLC, TLC	Total, Endo, Exo
Dyed cellulose	Dye liberation	Total, Endo
Fluorescent cellulose	Fluorophore liberation	Total
<b>Chromogenic and fluorephoric derivatives</b>		
Trinitrophenyl-carboxymethylcellulose (TNP-CMC)	Chromophore liberation	Endo
Fluram-cellulose	Fluorophore liberation	Endo, Total
<b>Practical cellulose-containing substrates</b>		
$\alpha$ -cellulose, pretreated lignocellulosic biomass	HPLC, RS	Total

<sup>a</sup> RS, reducing sugars; TSS, total soluble sugars.

# Hemicelulosity

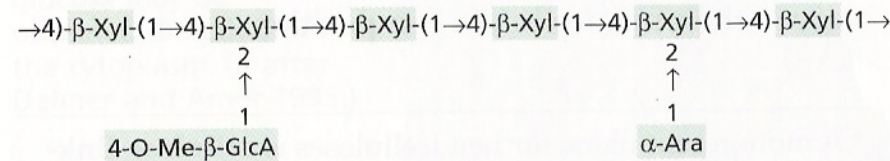


**(A) Xyloglucan**

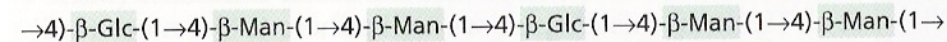


**Figure 15.10** Structure of bone of 1→4-linked β-D-glucopyranose (Glc). In some cases, they may have side chains of α-D-xylose (Xyl). They may also have side chains of β-D-galactose (Gal) or α-D-fucose (Fuc). They may also have side chains of 4-O-Me-β-D-glucuronic acid (4-O-Me-β-GlcA) found in the secondary wall of cellulose. They may also have side chains of α-D-arabinose (Ara) found in the secondary wall of cellulose. They may also have side chains of α-D-mannose (Man) residues.

**(B) Xylans**

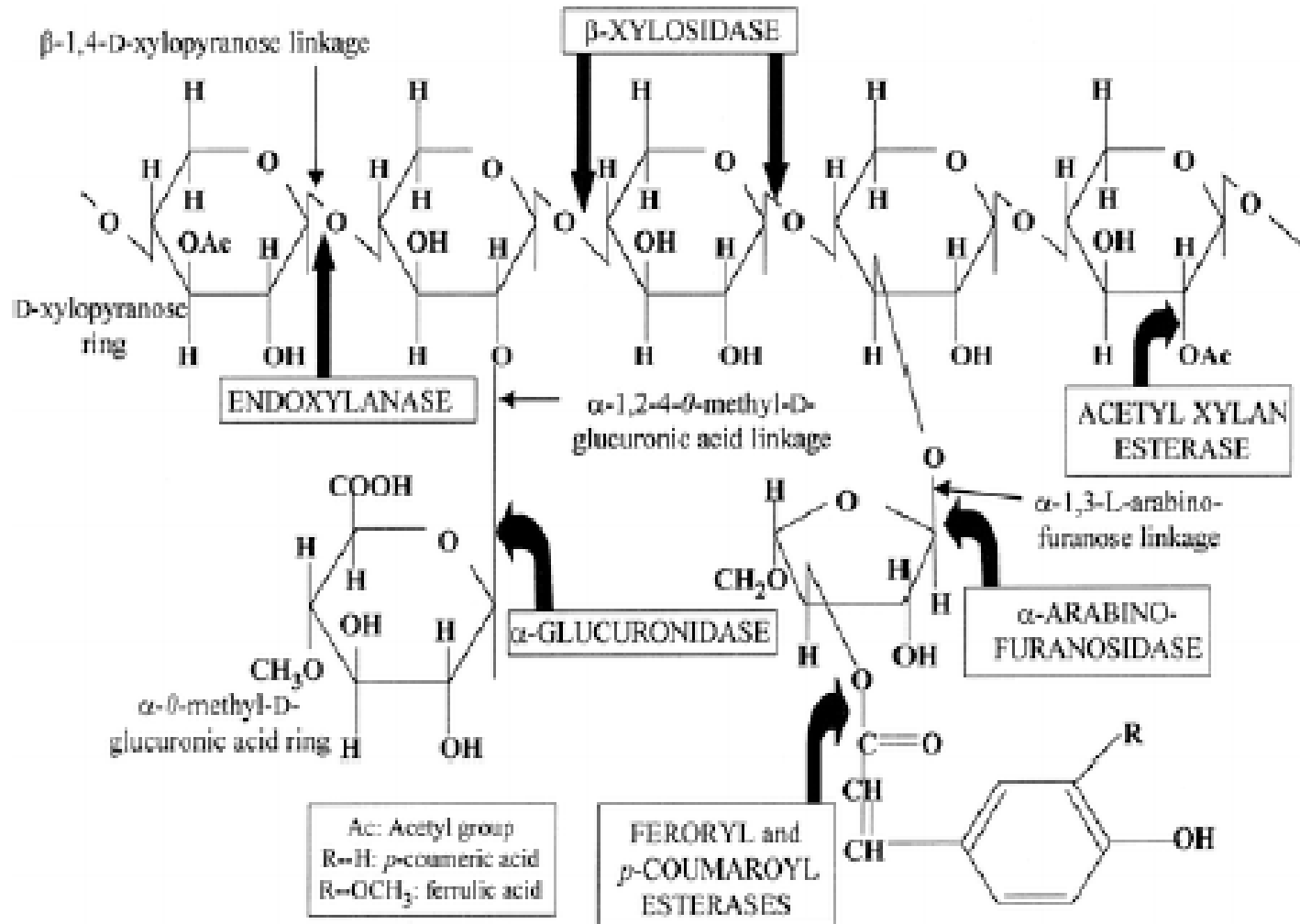
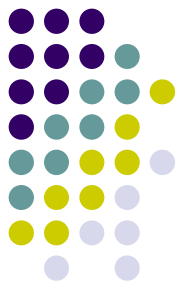


**(C) Glucomannans**

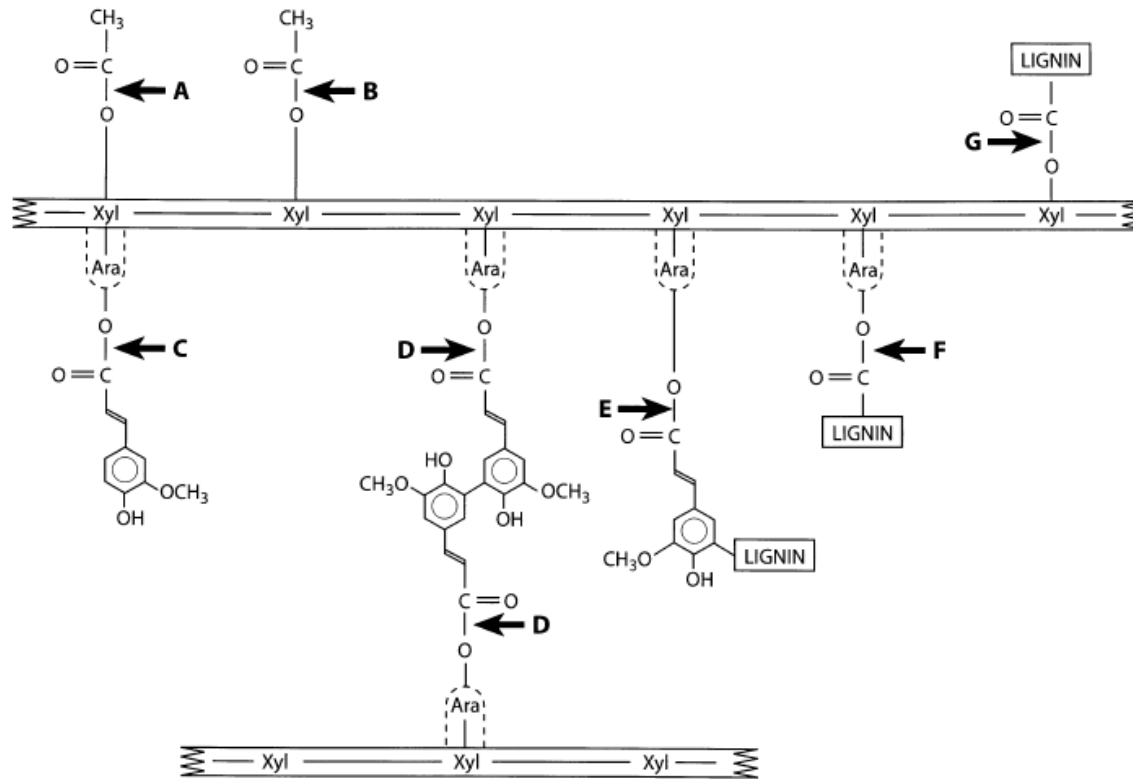
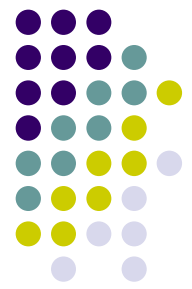




# Hemicelulasy

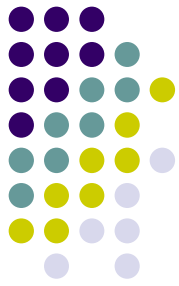


# Mikrobiální esterasy štěpící hemicelulosity



Enzyme Commission nomenclature	Subclass
Carboxylesterases (EC 3.1.1.1)	Cinnamoyl esterases: FAEA/FAE-III (feruloyl esterase) CinnAE ( <i>p</i> -coumaroyl/cinnamoyl esterase) Cinnamoyl ester hydrolases
Acetylerases (EC 3.1.1.6)	Acetylxylan esterases Rhamnogalacturonan acetylerases Pectin acetylerases
Pectin methylesterase (EC 3.1.1.11)	Pectin methylesterase (pectinesterase)

# Lipasy



TAG  $\rightarrow$  DAG (1,2 nebo 1,3)  $\rightarrow$  MAG  $\rightarrow$  MK + glycerol

Živočišné, rostlinné, mikrobiální

Fázové rozhraní (CMC)

Mechanismus působení - katalytická triáda podobná serinovým proteasám

Specifita: stereospecifita, MK, poloha štěpené vazby

Stabilita !

Stanovení aktivity

# Reakce katalysované lipasami



## Hydrolysis :



## Ester synthesis :



## Acidolysis :



## Interesterification :



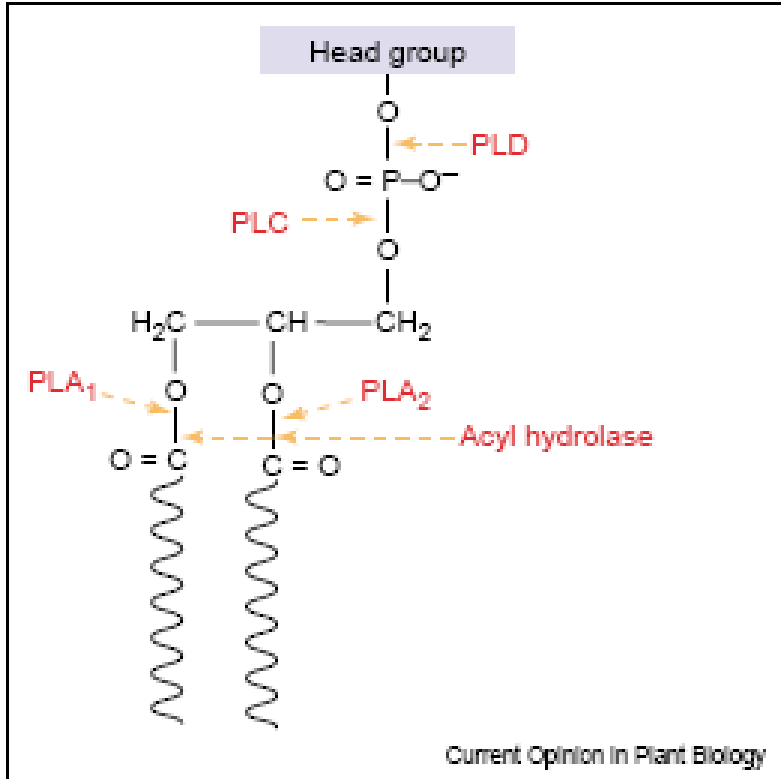
## Alcoholysis :



## Aminolysis :



# Fosfolipasy



Produkty reakcí

PLD: PA + polární hlava

PI-PLC: DAG + IP<sub>3</sub>

PC-PLC: DAG + P-Cho

PLA: MK + lysoPL

# Transfosfatidylační reakce PLD

