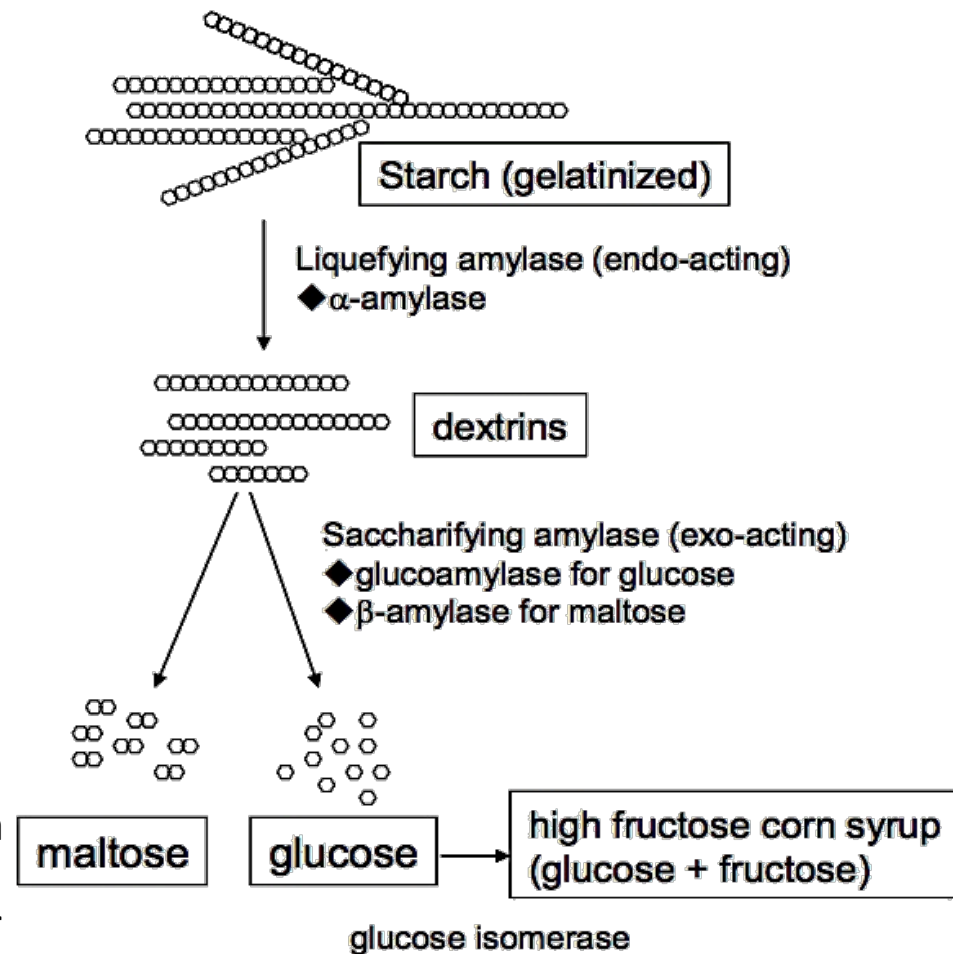


GLIKOZIDAZE

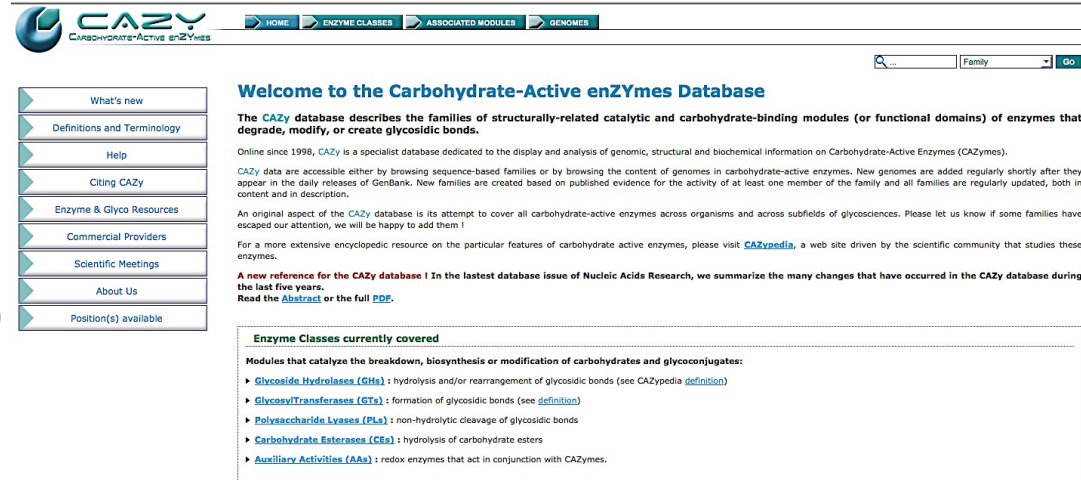
- glikozidaze so encimi, ki katalizirajo hidrolizo glikozidne vezi
- so najpomembnejši encimi v industrijski uporabi
 - razgradnja škroba do produktov
 - glukoza
 - sirup z visoko vrednostjo fruktoze
 - maltoza, maltooligosaharidi
 - dekstrini, ciklodekstrini
 - razgradnja rastlinske biomase
 - medicinske namene
 - delovanje virusne nevraminidaze za vstop v celico
 - v tem primeru pomemben inhibitor encima



GLIKOZIDAZE – razvrstitev in specifičnost

• razvrstitev encimov

- [podatkovna baza glikozidaz](http://www.cazy.org)
(<http://www.cazy.org>)
- [CAZypedia](http://www.cazypedia.org/index.php/Main_Page)
(http://www.cazypedia.org/index.php/Main_Page)
- več kot 1800 encimov / več kot 130 družin
- encimi so modularno zgrajeni
 - katalitična domena
 - vezavna domena
 - domena za modifikacijo substrata



CAZY
Carbohydrate-Active enZymes

HOME ENZYME CLASSES ASSOCIATED MODULES GENOMES

Family

Welcome to the Carbohydrate-Active enZymes Database

The **CAZY** database describes the families of structurally-related catalytic and carbohydrate-binding modules (or functional domains) of enzymes that **degrade, modify, or create glycosidic bonds**.

Online since 1998, CAZY is a specialist database dedicated to the display and analysis of genomic, structural and biochemical information on Carbohydrate-Active Enzymes (CAZymes).

CAZY data are accessible either by browsing sequence-based families or by browsing the content of genomes in carbohydrate-active enzymes. New genomes are added regularly shortly after they appear in the daily releases of GenBank. New families are created based on published evidence for the activity of at least one member of the family and all families are regularly updated, both in content and in description.

An original aspect of the CAZY database is its attempt to cover all carbohydrate-active enzymes across organisms and across subfields of glycosciences. Please let us know if some families have escaped our attention, we will be happy to add them!

For a more extensive encyclopedic resource on the particular features of carbohydrate active enzymes, please visit [CAZypedia](#), a web site driven by the scientific community that studies these enzymes.

A new reference for the CAZY database! In the latest database issue of *Nucleic Acids Research*, we summarize the many changes that have occurred in the CAZY database during the last five years. Read the [Abstract](#) or the full [PDF](#).

Enzyme Classes currently covered

Modules that catalyze the breakdown, biosynthesis or modification of carbohydrates and glycoconjugates:

- ▶ **Glycoside Hydrolases (GHs)**: hydrolysis and/or rearrangement of glycosidic bonds (see [CAZypedia definition](#))
- ▶ **Glycosyltransferases (GTs)**: formation of glycosidic bonds (see [definition](#))
- ▶ **Polysaccharide Lyases (PLs)**: non-hydrolytic cleavage of glycosidic bonds
- ▶ **Carbohydrate Esterases (CEs)**: hydrolysis of carbohydrate esters
- ▶ **Auxiliary Activities (AAs)**: redox enzymes that act in conjunction with CAZymes.

• specifičnost delovanja glikozidaz se nanaša na:

- konfiguracijo glikozidne vezi α ali β
 - cepi samo eno obliko (amilaze α -1,4 glukozidna vez, celulaze β -1,4
- mesto cepljene vezi
 - endo/eksoglikozidaze
 - določeni encimi imajo obe aktivnosti
- molekulska masa substrata
 - amilaza/maltaza
- kemijska struktura monomera



CAZypedia
carbohydrate-active
ENZYMES

Page Discussion View View source History Go Search

MAIN PAGE

Welcome to CAZypedia!

The Encyclopedia of Carbohydrate-Active Enzymes.

Now containing the following Curator Approved content:

- 94 Glycoside Hydrolase (GH) Family pages,
- 2 Polysaccharide Lyase (PL) Family pages,
- 2 Auxiliary Activity (AA) Family pages,
- 2 Glycosyltransferase (GT) Family pages,
- 4 Carbohydrate Binding Module (CBM) Family pages,
- and
- 21 Lexicon pages!

Purpose

CAZypedia has been initiated as a community-driven resource to assemble a comprehensive encyclopedia of the "CAZymes," the carbohydrate-active enzymes and associated carbohydrate-binding modules involved in the synthesis and degradation of complex carbohydrates. CAZypedia is inspired by, and closely connected with, the actively curated CAZY Database [@](#).

It's probably fair to say that CAZypedians are, like our friends at the CAZY DB [@](#), a group of "biocurators." [@](#)

Content

CAZypedia initially focussed on the Glycoside Hydrolase Families defined in the CAZY Database [@](#), and we continue to strive for complete coverage of this diverse class of enzymes. Other catabolic and anabolic CAZymes (e.g. Polysaccharide Lyases and Glycosyltransferases), as well as Auxiliary redox enzymes and non-catalytic Carbohydrate Binding Modules, continue to be incorporated as interest and engagement from the scientific community grows. In addition, there is a Lexicon of terms relevant to CAZymes and carbohydrate chemistry.

These and other aspects of CAZypedia's content can be accessed through the menus on the left side of each page.

How CAZypedia works

CAZypedia is built on authoring and editing principles similar to those of other expert-based online encyclopedias (cf. [Citizendium](#) [@](#)). All contributors to CAZypedia, from the Authors to the Board of Curators, are experts in the field. Transparency is achieved through the use of contributors' real names and published biographies in CAZypedia. Individual

Latest news

6 February 2014: Our second *LPMD* page: Glyn Hensworth and Gideon Davies have just completed the Auxiliary Activity Family 11 page. AA11 is a very recently discovered family of copper-dependent, lytic polysaccharide mono-oxygenases (LPMO), whose defining member catalyzes the oxidative cleavage of chitin. The LPMO field is particularly exciting and rapidly evolving, and we are proud to present the AA11 page in CAZypedia so closely after the initial report on this family.

17 January 2014: More on CBMs: The Carbohydrate Binding Module Family 41 page was upgraded to Curator Approved status today by Alicia Lammerts van Bueren and Al Boraston. CBM41 is a family of alpha-glucan-binding modules, which are primarily associated with the pullulanases and debranching enzymes of Glycoside Hydrolase Family 13. Find out more [here](#)...!

6 January 2014: A new year, a new CBM page! The Carbohydrate Binding Module Family 6 page was completed and given Curator Approved status today by Author and Curator Mirjam Czjzek. CBM6 was originally defined based on the observation of xylan binding, however the diversity of substrate specificities in this family has now grown to include diverse beta-glucans, chitin, and even the

ABOUT CAZYPEDIA

- Introduction to CAZypedia
- CAZypedia's History
- Board of Curators
- Contributors
- Citing

CONTENT

- Main Page
- Lexicon
- GH Families
- PL Families
- AA Families
- CBM Families
- GT Families
- Assigned pages
- Recent changes

FOR CONTRIBUTORS

- Getting Started Guide
- Help with editing
- Help with references
- Adding images
- Other help
- Citing your contribution
- Suggestion Box

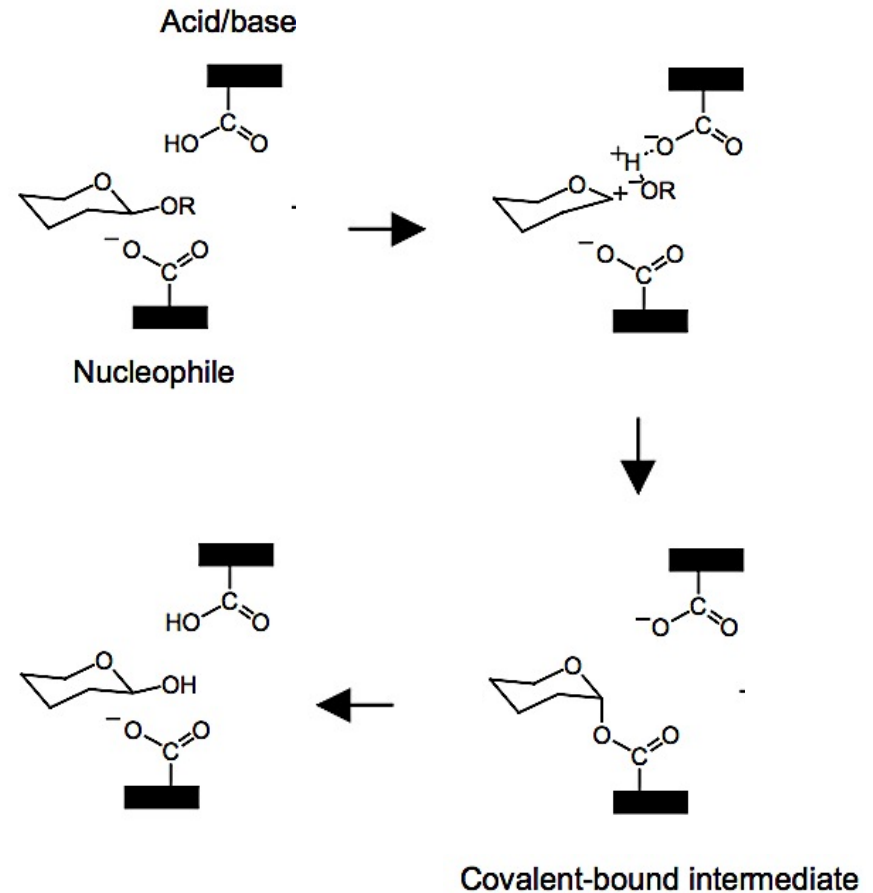
GLIKOZIDAZE: mehanizem reakcije

- hidroliza glikozidne vezi je običajno katalizirana z dvema ak

- splošna kislina
- druga, ki deluje kot nukleofil (splošna baza)
- ak sta običajno Glu ali Asp

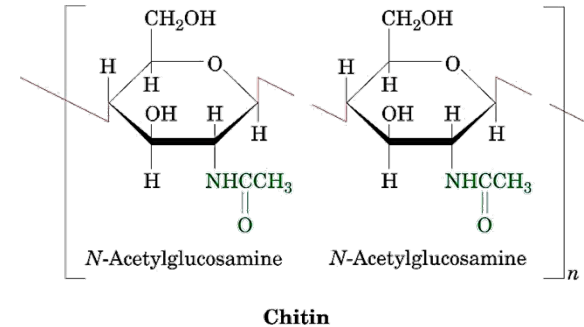
- potek reakcije:

- začne z donacijo protona
- nukleofilni napad na anomerni atom
- sprosti se alkohol
- nastane kovalentno vezan intermediat
- hidroliza, nov redukcijski konec

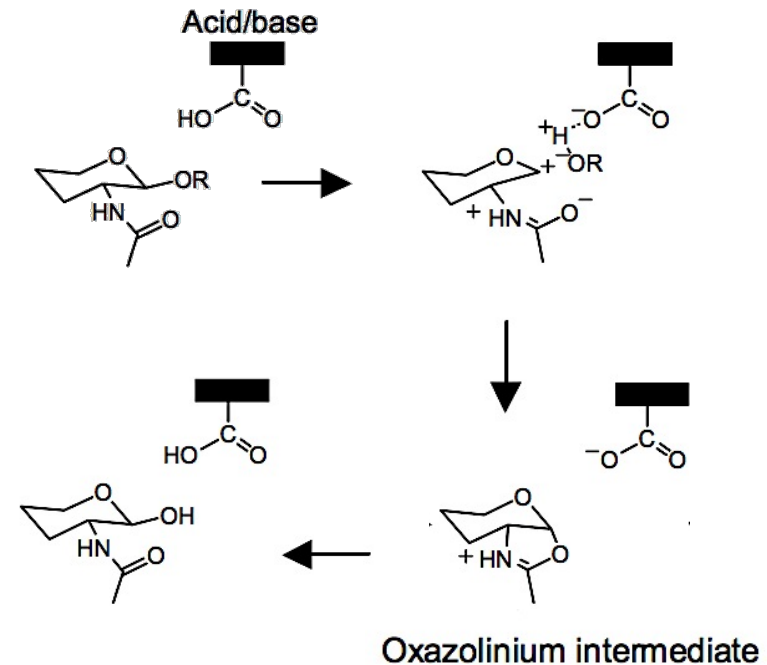


GLIKOZIDAZE: mehanizem reakcije – oksazolinski intermedijat

- pri nekaterih encimih kot npr. hitinaza (β -N-acetilheksozaminilna povezava) poteče reakcija preko oksazolinskega intermedjata

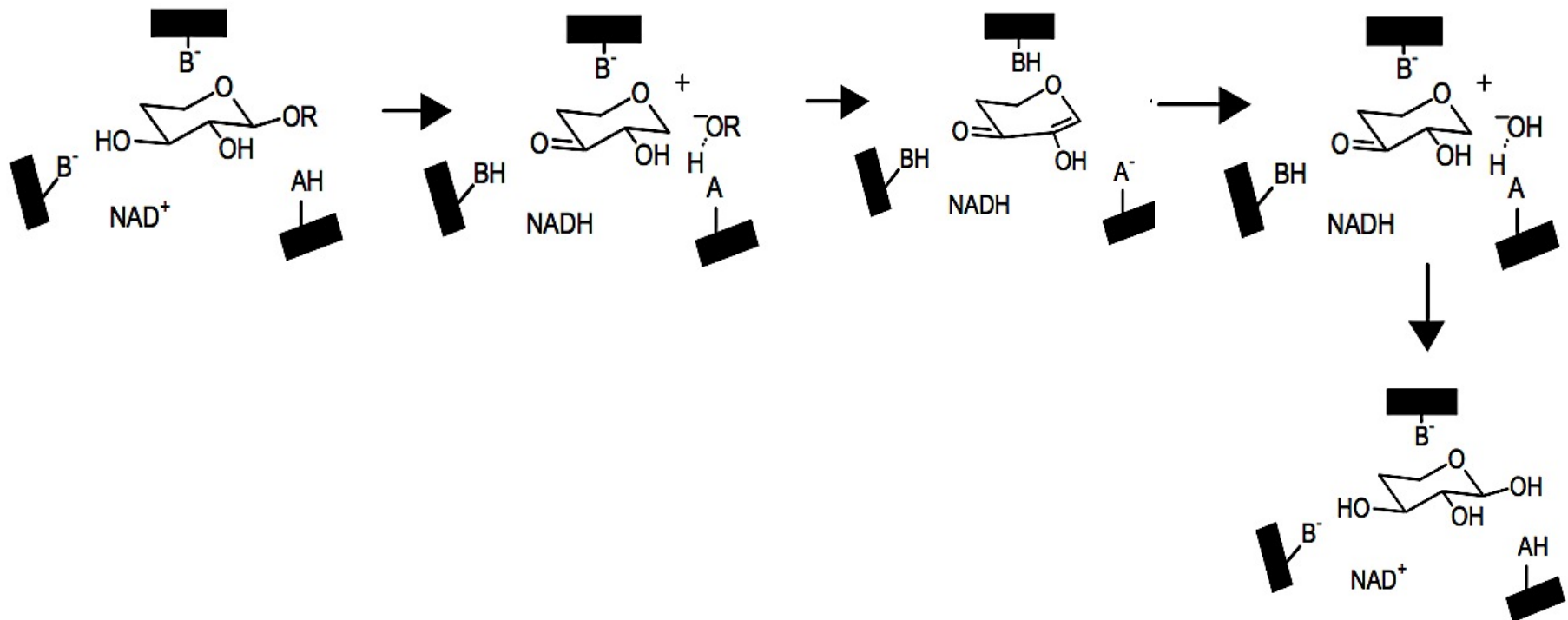


- potek reakcije
 - splošna kislina Glu (donor protona)
 - karbonilni kisik deluje kot nukleofil
 - sprosti se alkohol
 - nastank oksazolinskega intermedjata
 - hidroliza



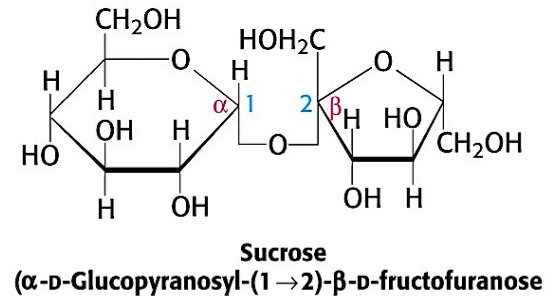
GLIKOZIDAZE: mehanizem reakcije – od NAD^+ odvisna kataliza

- pri encimu 6-fosfo β -D-glukozidaza iz *Termotoga maritima* sodeluje v mehanizmu reakcije NAD^+
- N-acetilgalaktozaminidaze
- potek reakcije
 - oksidacija C3 hidroksilne skupine (proton se prenese na NAD^+)
 - posledično se poveča kislost C2 atoma, ki donira proton anomernemu kisiku za cepitev glikozidne vezi
 - ak odvzame vodi proton in doda hidroksilno skupino
 - C3 karbonilni kisik se reducira z NADH in konča reakcijo

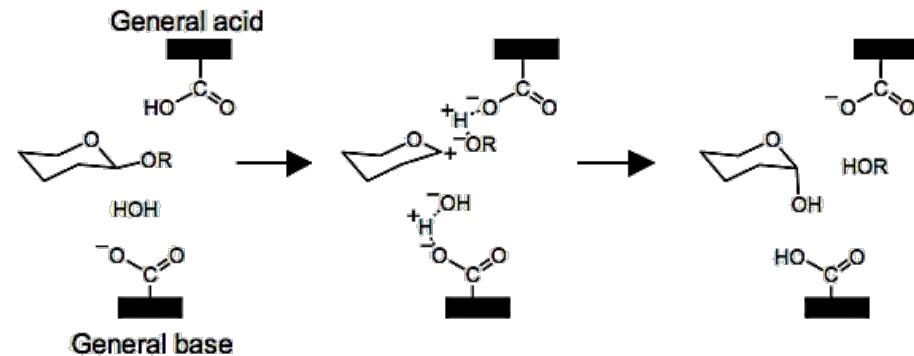


GLIKOZIDAZE: mehanizem reakcije – invertaza

- invertaze katalizirajo hidrolizo namiznega sladkorja saharoze do glukoze in fruktoze

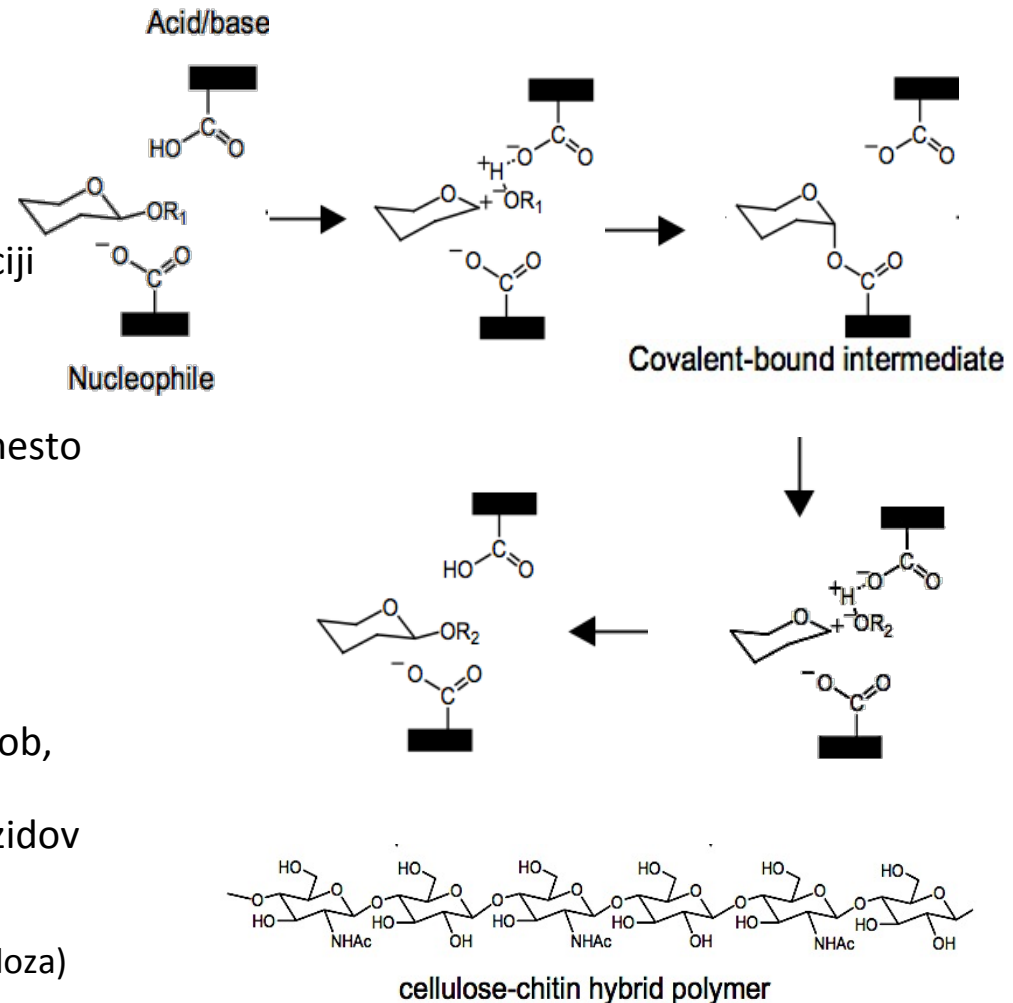


- potek reakcije
 - začetek enak kot pri klasični reakciji glikozidaz z dvema ak (kislina/baza)
 - Glu, Asp
 - kislina donira proton anomernemu kisiku v glikozidni vezi
 - nukleofil je voda, ki se deprotonira z bazo



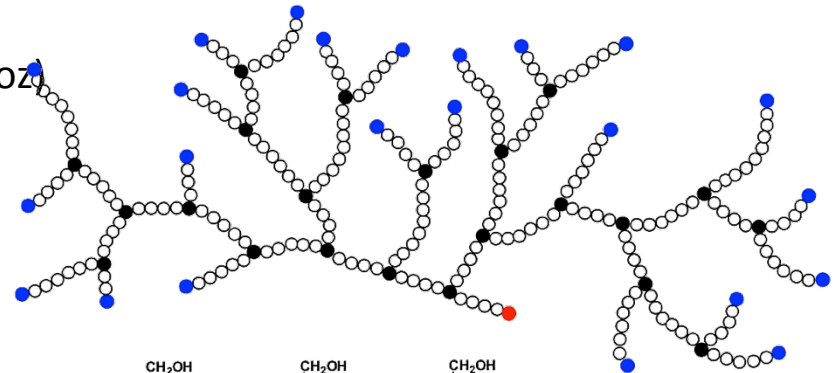
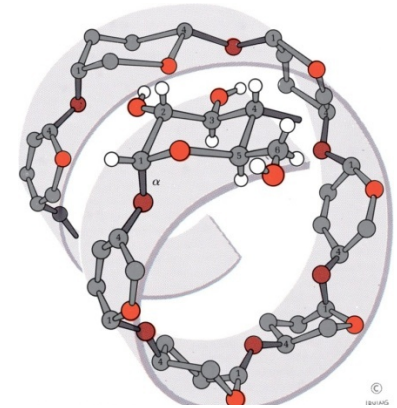
GLIKOZIDAZE: mehanizem reakcije – hidroliza in transglikozilacija

- transglikozilacija je reakcija, kjer se glikozid prenese na drugi sladkor (alkohol) in ne v vodo
- ti encimi redko katalizirajo hidrolizo
- potek reakcije
 - v reakciji ne sodeluje voda
 - začetek spet enak kot pri klasični reakciji glikozidaz z dvema ak (kislina/baza)
 - Glu, Asp
 - transglikozilacija se zgodi ob napadu drugega sladkorja na intermediat (namesto vode)
- transglikozilacija
 - se pogosto uporablja pri produkciji oligosaharidov iz poceni materiala (škrob, saharoza, laktoza)
 - za sintezo različno modificiranih glikozidov
 - aril-glikozid (uporabni kot substrati za glikozidaze)
 - sinteza hibridnih polimerov (hitin-celuloza)

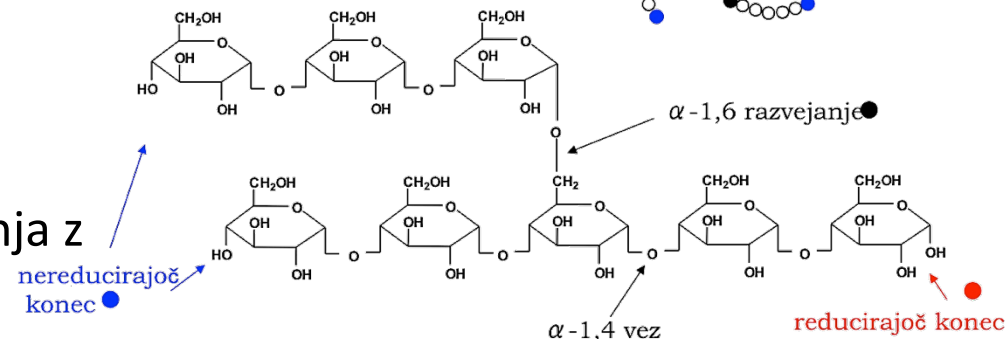


GLIKOZIDAZE: škrob

- škrob glavna komponenta hrane (zrna, korenine, gomolji)
- pomemben vir energije
- polimer sestavljen iz
 - linearne amiloze (500 enot)
 - glukoze povezane z α -1,4 vezmi
 - razvejani amilopektin (vsake 20 glukozi)
 - glukoze povezane z α -1,4 vezmi
 - mesta razvejanja α -1,6 vezi

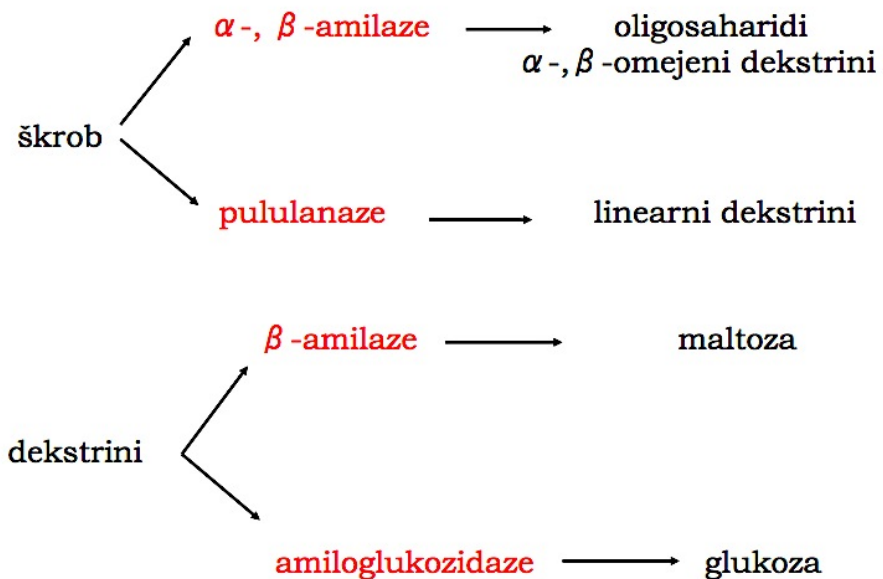
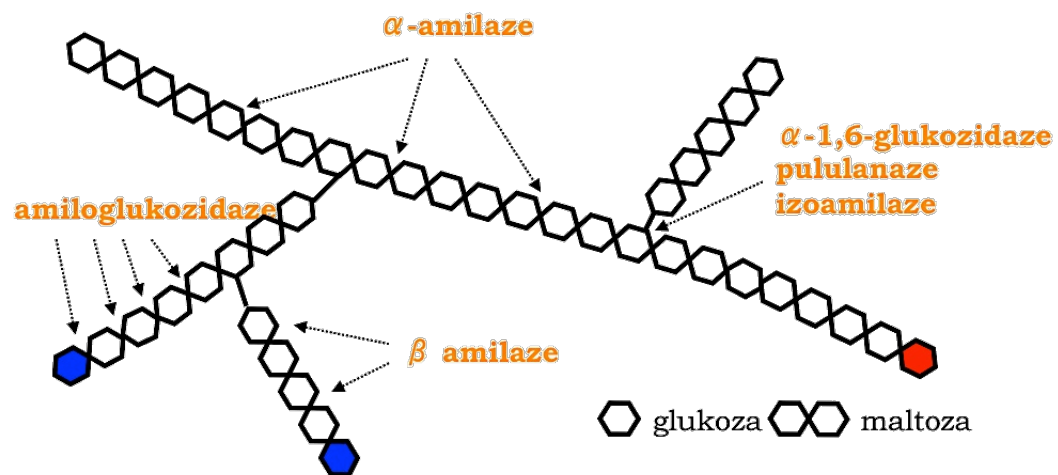


- škrob v vodi slabo topen
 - segrevanje
 - gelatinizacija (nabrekanje)
 - 300 - 100.000 x hitrejša razgradnja z encimi



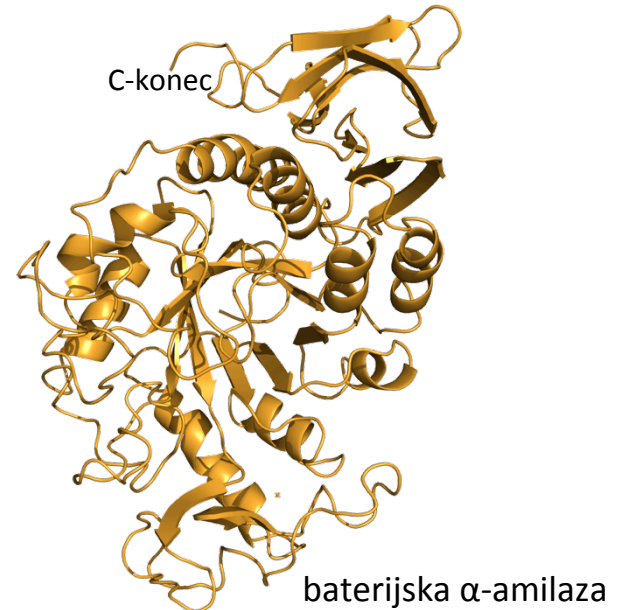
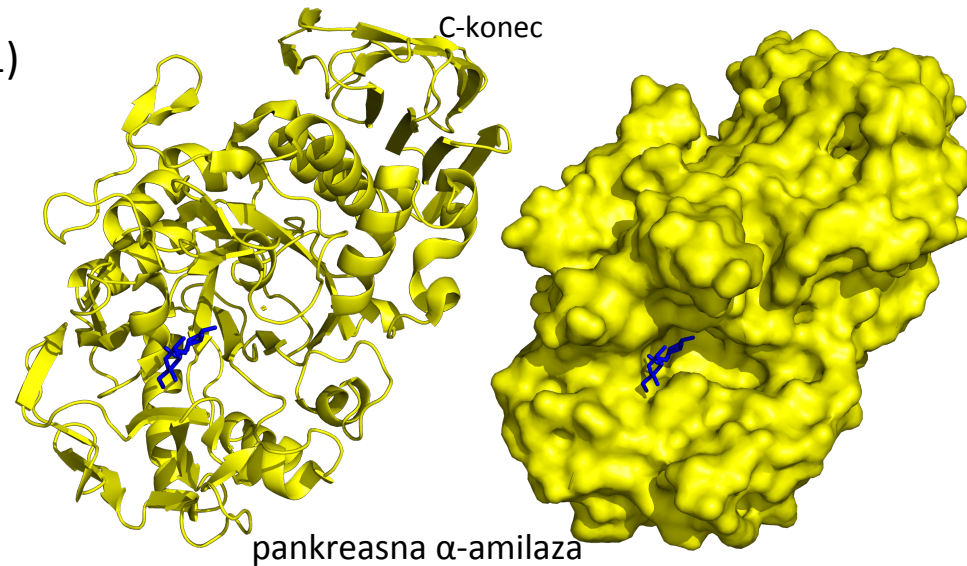
GLIKOZIDAZE: AMILAZE

- gelatinizacija škroba
- endoamilaze
 - α -amilaze cepijo α -1,4 vez
 - amilaze, ki cepijo α -1,6 vez
 - amilo-1,6-glikozidaze
 - pululanaze
 - izoamilaze
- eksoamilaze
 - β -amilaze (odcepljajo maltozo)
 - amiloglukozidaze (AMG)
 - transglukozidaze
 - ciklodekstrin glikozil-transferaze



GLIKOZIDAZE: endoamilaze

- **α -amilaze (α -1,4 vez)**
1,4- α -D-glukan glukanohidrolaza (E.C.3.2.1.1)
diastaza, ptalin, glikogenaza
- prednosti pred kemijsko razgradnjo
 - boljša kontrola
 - milejši pogoji (okolje)
 - specifičnost
 - stabilnost nastalih produktov
- izvor:
 - bakterije (*Bacillus subtilis*, *B. megaterium*)
 - amilaze iz m.o. so inducibilne
 - temperaturno stabilne
 - tehnične zahteve \rightarrow tekoči ali suhi pripravek
 - sekundarne aktivnosti (nevtralne proteaze, glukanaže, hemicelulaze)
 - glive (*Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *A. awamori*)
 - sekundarne aktivnosti (kisle proteaze, celulaze, hemicelulaze)
 - pankreas (goveji)
 - manj T stabilen, uporaben kot digestiv PANKREATIN
 - slad (diastaza)
 - v pivovarstvu in destilaciji vin
- struktura
 - β -sodček obdan z α -heliksi
 - aktivno mesto sprejme 4-10 sladkorjev



GLIKOZIDAZE: endoamilaze

- **α -amilaze (α -1,6 vez)**
1,6- α -D-glukan glukanohidrolaza
(E.C.3.2.1.1)
- razgrajuje α -omejene dekstrine
- amilaze, ki razgrajujejo α -1,6 glikozidne vezi
- predstavniki:

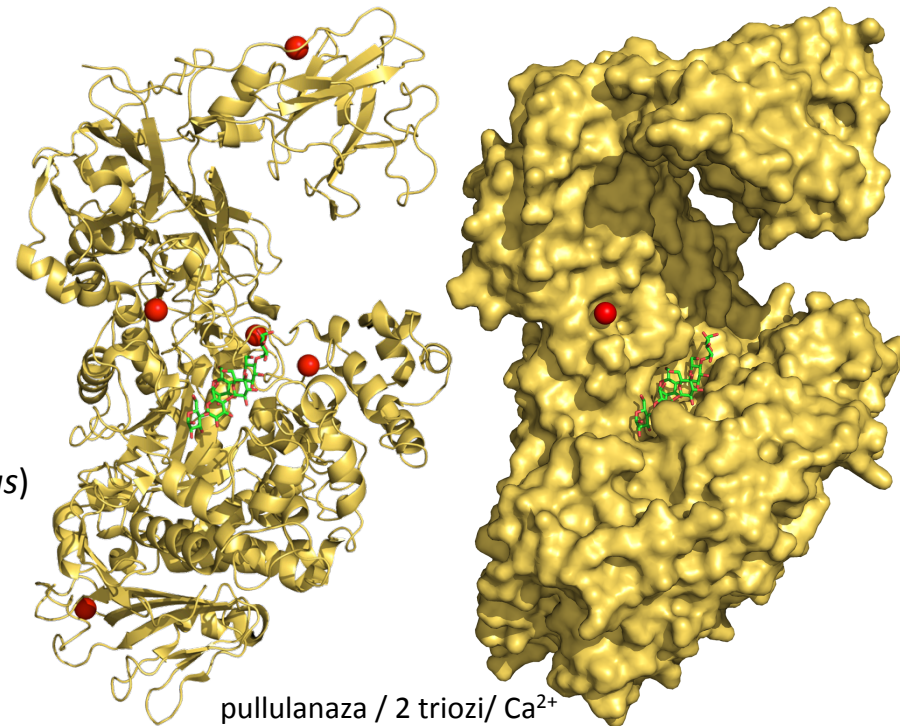
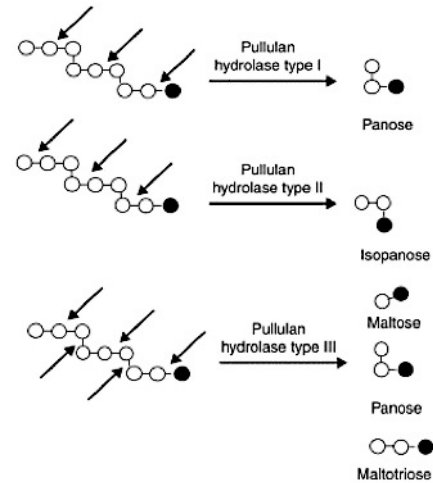
- **α -1,6 glikozidaze**

- višji organizmi

- **pululanaza** (EC 3.2.1.41)

- pululan proizvajajo glive *Aureobasidium pullulans*
- maltozil-(G2) in maltozil-(G3) ostanki povezani z α -1,6 vezjo
- encimi, ki razgrajujejo pululan
 - rastline
 - m.o. (*Klebsiella*, *Bacillus*, *Streptomyces*)
 - termostabilni encimi (*Thermus caldophilus*)
- tip I (α -1,6 vezi)
- tip II (α -1,6 in α -1,4 vezi)
- tip III (α -1,6 in α -1,4 vezi)
- enoverižni encim, 145 kDa, Ca^{2+}

- **izoamilaze**



GLIKOZIDAZE: eksoamilaze

- **β -amilaza (α -1,4 vez)**

α -1,4 -D-glukan maltohidrolaza
(EC 3.2.1.2)

- delovanje:

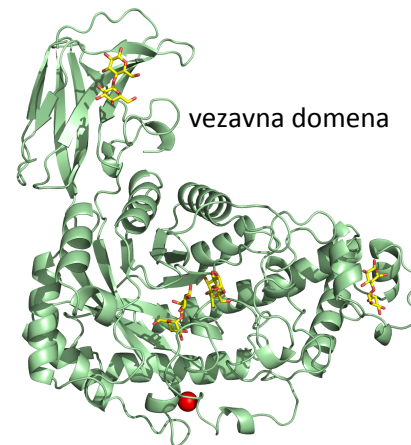
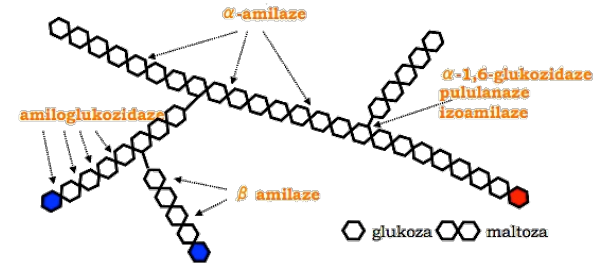
- odcepljajo maltozo z nereducirajočega konca
- končni produkt so β -omejeni dekstrini

- izvor:

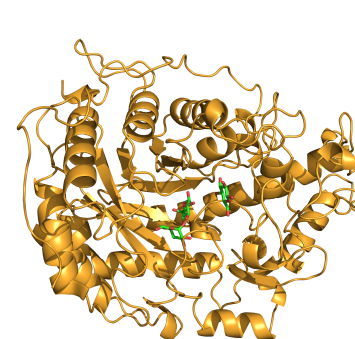
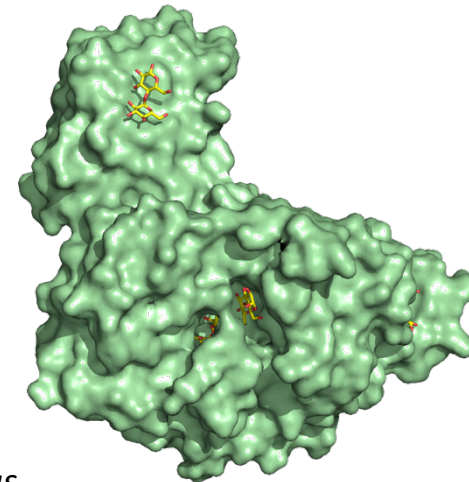
- m.o. (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptococcus*)
- v rastlinah (ječmen, pšenica, krompir...)

- struktura:

- aktivno mesto



β -amilaza *B. cereus*



β -amilaza iz ječmena

GLIKOZIDAZE: eksoamilaze

- **glukoamilaza**

α -1,4-D-glukan glukohidrolaza (EC 3.2.1.3) amiloglukozidaza

- delovanje:

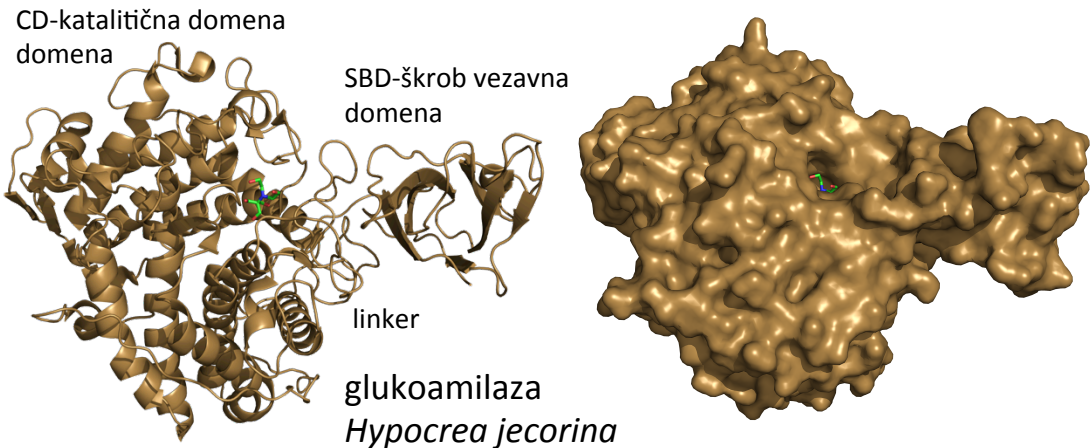
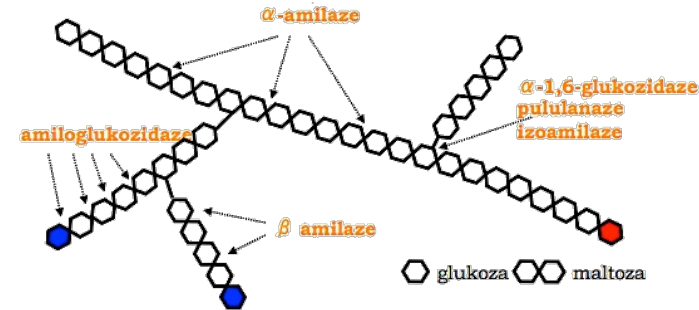
- odcepljajo glukozo z nereducirajočega konca
- cepi α -1,4; α -1,6; α -1,3 vezi
- edini encim, ki lahko cepi negelatiniziran škrob (počasi)

- izvor:

- živali, rastline
- m.O. (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Mucor*...)
- enako kot β -amilaze so redko prisotne pri termofilih

- struktura

- obstoja v dveh izooblikah
 - produkt alternativnega izrezovanja
 - krajše verige p tudi kot produkt proteolizne cepitve (subtilizin)
- multidomenski protein
 - katalitična domena
 - linker
 - škrob-vezavna domena



GLIKOZIDAZE: eksoamilaze

- **ciklodekstrin glikoziltransferaza**

(EC 2.4.1.19)

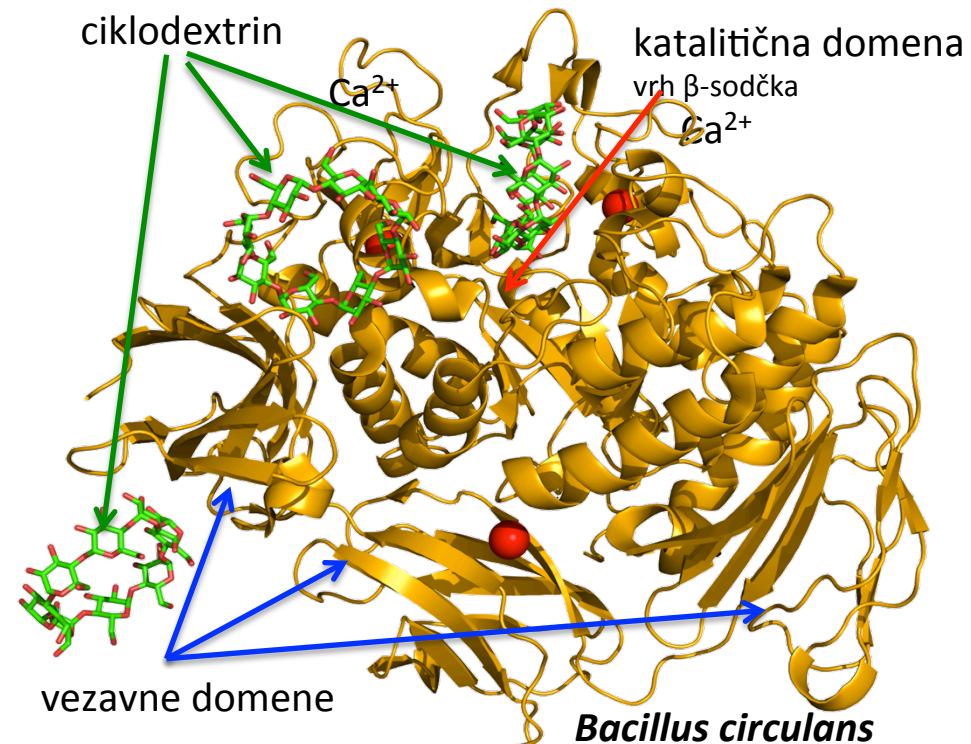
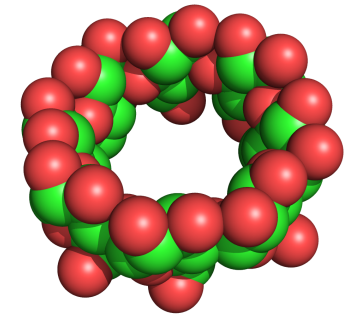
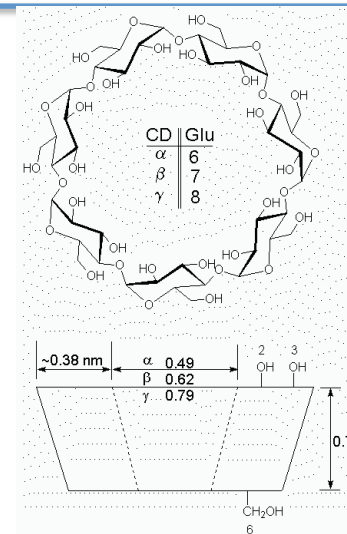
CGTaza, ciklodekstrin glukoziltransferaza

- CGT katalizirajo nastanek ciklodekstrinov

- z delovanjem na škrob ali dekstrin
- končni produkt je mešanica cikličnih α -1,4 povezanih oligonukleozidov
 - 6-, 7-, 8- glukoznih molekul
 - α -, β -, γ - ciklodekstrini
- z dodatkom organske molekule se usmeri reakcijo do sinteze posamezne oblike

- **struktura:**

- pet domenski protein 75 kDa
 - dve katalitični domeni
 - tri škrob vezavne domene
 - v aktivno mesto se veže vsaj 9 sladkorjev



GLIKOZIDAZE: eksoamilaze

- **shematski prikaz ciklizacijske reakcije CGT**

- cepitev se zgodi na mestih +1 in -1
- intermedat kovalentno vezan na Asp mestu -1
- encim ciklizira molekulo
- mesto -7 se premakne na mesto +1
- tvori se kovalentna vez

- **aktivno mesto**

- cepitev in reverzna reakcija-sklopitev

- **Uporabnost ciklodekstrinov:**

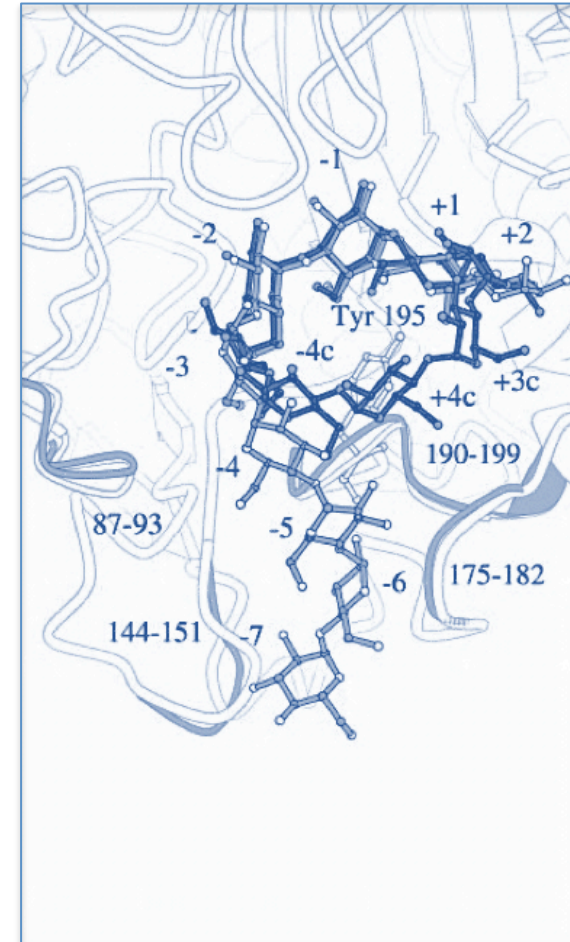
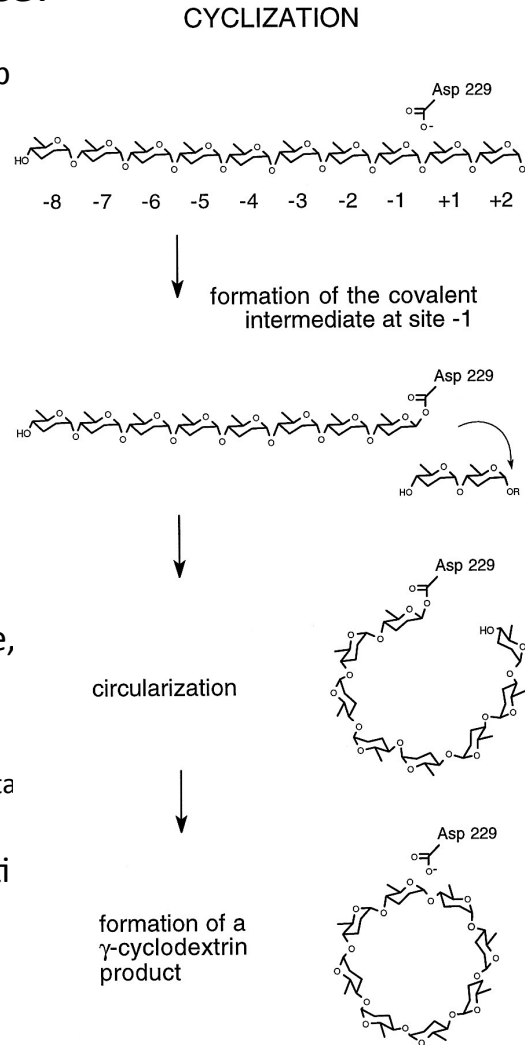
- farmacija, kozmetika
- prehrana
- analitska kemija

- **derivatizacija ciklodekstrinov (alkiliranje, aciliranje, derivati soli)**

- sprememba topnosti
- modifikacije glede kompleksiranja
- uvajanje skupin z določenoo vlogo (npr. kata

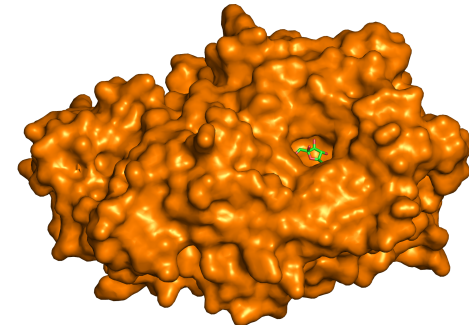
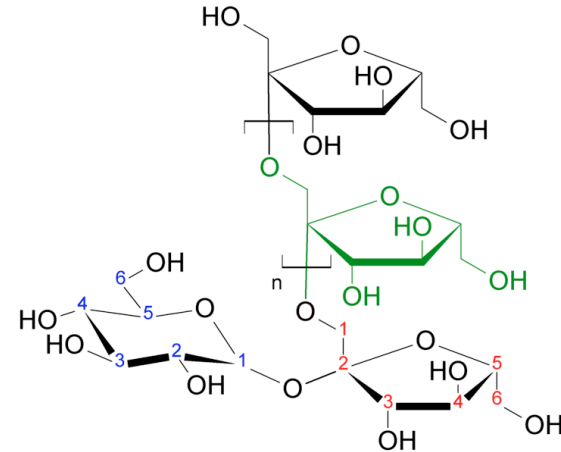
- **spremembe fizikalno-kemijskih lastnosti omogoča:**

- solubilizacija lipofilnih molekul
- stabilizacija reaktivnih substanc
- fiksacija volatilnih substanc
- eliminacija slabega okusa, vonja
- kontrlrirano sproščanje zdravil, doziranje
- pretvorba tekoče oblike v trdno
- kreiranje mešanic, ki so nekompatibilne



GLIKOZIDAZE: glikozidaze, ki niso amilaze

- **Inulinaza**
1- β -D-fruktan fruktanohidrolaza (EC 3.2.1.7)
 - razgrajuje inulin
- **inulin**
 - **inulin** je polimer z β -2,1-povezanih fruktoza, na koncu verige pa je vezana glukoza (saharoza)
 - stopnja polimerizacije od 20-več 1000 fruktoz
 - pšenica, čebula, česen, banane, beluš, cikorijai...
 - kot zaloga ogljikovih hidratov
 - kot odpornost proti nizkim T
 - uporabnost
 - prehrabene namene kot dietna vlakna (fruktani)
 - manj prebavljiva zaradi β -2,1 povezav
 - industriji kot osnova za pretvorbo v etanol
 - zdravstvene namene za določevanje filtracijske sposobnosti glomerulov
- **izvor:**
 - rastline
 - kvasovke (*Aspergillus*, *Penicillium*)
 - bakterije (*Bacillus*, *Clostridium*, *Streptomyces*)
- **razgradnja inulina**
 - inulin netopen v vodi
 - kemijska hidroliza ob uporabi anorganskih soli, T ali pH do fruktoze
 - inulinaze bolj prijazne za okolje
- **lastnosti inulinaz**
 - 50 – 300 kDa
 - eksoinulinaze
 - razgrajujejo vse do glukoze
 - endoinulinaze



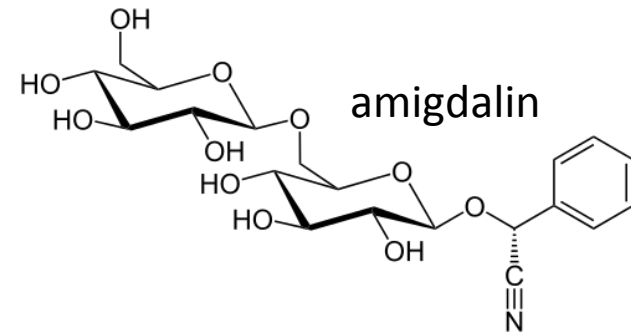
Aspergillus awamori

GLIKOZIDAZE: glikozidaze, ki niso amilaze

- glikozidaze

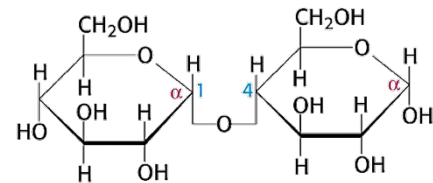
- encimi, ki cepijo glikozidno vez oligosaharidov

- α , β specifičnost
- specifičnost na vrsto sladkorja
- stopnjo polimerizacije
- cepitev nesladkornih elementov
 - amigdalín \rightarrow grenak okus mandljev
- maltaza, invertaza, laktaza



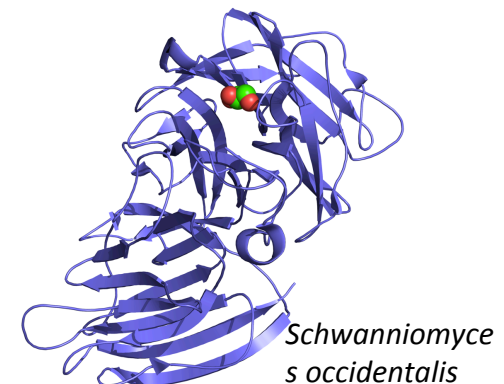
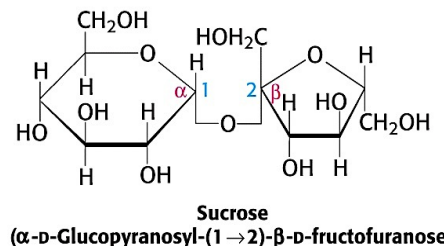
- **maltaza** (α -1,4 glikozidaza)

- cepi maltozo do dveh molekul glukoze
- izredno specifična na glukozo



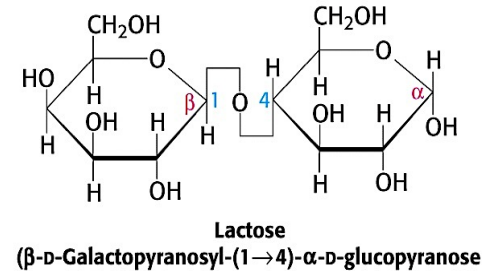
- **invertaza** (β -fruktozidaza)

- cepi saharozo do glukoze in fruktoze
- inverzija se nanaša na kot polarizirane svetlobe

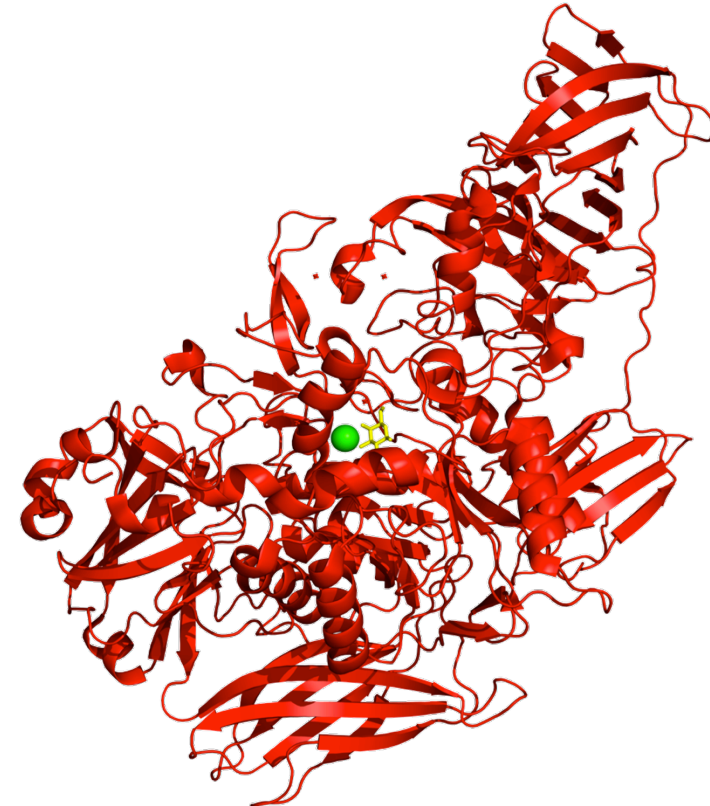


GLIKOZIDAZE: glikozidaze, ki niso amilaze

- **laktaza** (β -galaktozidaza)
 - hidrolizira laktozo do galaktoze in glukoze
 - izvor:
 - encim izločajo pankreas, mlečne žleze
 - manjše izražanje laktaze z leti \rightarrow krvavitve, diareja in bruhanje ob uživanju mleka
 - kvasovke in glive (*Kluyveromyces*, *Aspergillus*..)



človeška laktaza/galaktoza/ Ca^{2+}



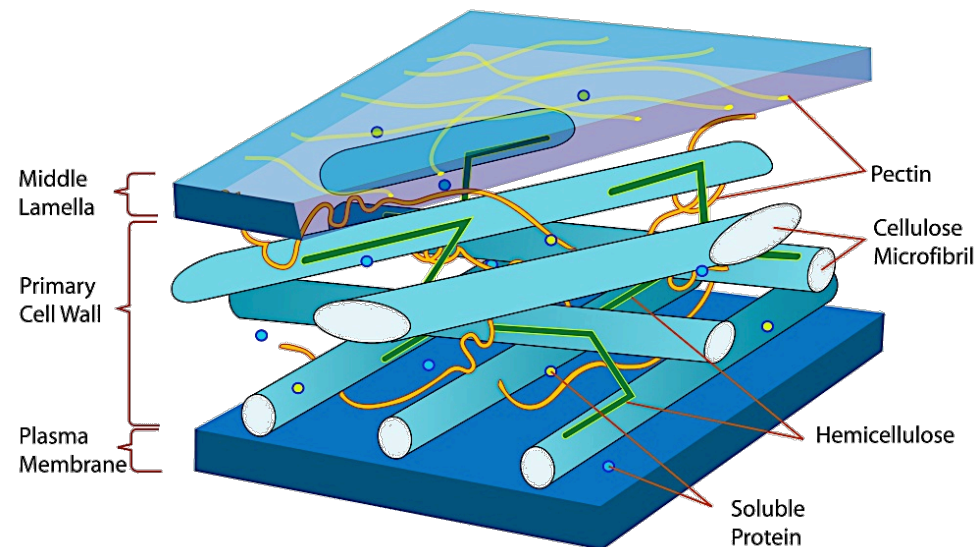
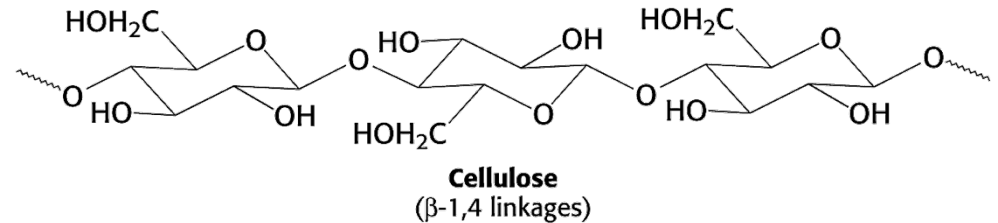
Kluyveromyces lactis /galaktoza/ Ca^{2+}

GLIKOZIDAZE: CELULAZE - celuloza

- substrat celulaz so celuloza in hemiceluloza

- **celuloza**

- **polimer** β -1,4 povezanih glukoz
- stabilizacija verig s H-vezmi
- vse verige ista orientacija
- različna stopnja polimerizacije (do 15.000)
 - bombaž SP ~ 10.000
 - lesni stržen SP ~ 600 -1.000
 - bombaž 90 % celuloze, les 60 %
- tvorba mikrofibril
- strukturna komponenta rastlinske **celične stene**
 - porozna, za razliko od celične membrane
 - neselektivna za prehajanje molekul
 - tanjša pri mladih rastlinah
- 60 % organske materije na Zemlji
- zanimiva za proizvodnjo glukoze in goriva



- **heteropolisaharidi**

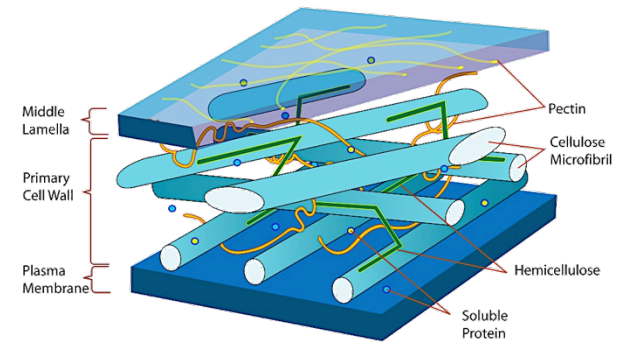
GLIKOZIDAZE: CELULAZE – hemiceluloza in pektini

• hemiceluloza

- ksiloza, manosa, galaktoza, arabinoza
- ksilan, ksiloglukan, galaktomanan..
- verige so krajše (500 - 3.000)
- pogosto vezani na mikrofibrile celuloze

• pektini

- nahajajo se v srednji plasti c. stene
- so heterogema mešanica polisaharidov različnih velikosti in z različno stopnjo esterifikacije → različna topnost
 - topnost narašča
 - s stopnjo esterifikacije
 - z manjšo molekulsko maso
- gradbene enote:
 - polimer galakturonske k. in njenih metilnih estrov (α -1,4 povezava)
 - polimer galakturonske k., z arabinozo, galaktozo in ksilozo (razvejano)
- negativno nabiti polimeri so nevtralizirani s Ca^{2+}
- odgovorni so za integriteto rastlinskega tkiva
 - rast, morfologija in razvoj
 - obramba
- uporabnost
 - prehrana
 - gelirna spojina
 - sladkarije
 - stabilizator sokov in mlečnih napitkov
 - dietična vlakna
 - kozmetika
 - zdravje: znižuje holesterol, glukozo v krvi



polisaharid	struktura	monomerna enota
celuloza	β -1,4-D-glukan	glukoza
pektini	poligalakturan; α -1,4	galakturonska kislina in njeni metilni estri
	ramnogalakturan	polimer ramnoze + arabinoze, galaktoza, ksiloza, hemiceluloza
hemiceluloza	ksilan	ksiloza
	ksiloglukan	polimer glukoze, ksiloze, arabinoze
	β -1,3; β -1,4-D-glukan	glukoza
	galaktomanan	galaktoza, manosa
drugi polisaharidi	arabinogalaktani (β -1,4; β -1,3)	oligomer galaktoza, arabinoza
	glukoromanani	glukoronska kislina, manosa

• drugi polisaharidi

GLIKOZIDAZE: CELULAZE

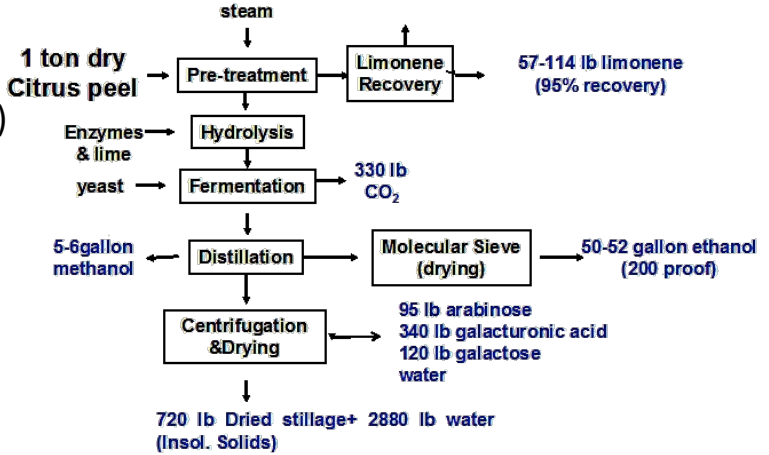
- velik ekonomski potencial biokonverzije celuloze kot glavnega biopolimera na zemlji
- žal so procesi izkoriščanja celuloze kot odpadnega materiala še vedno ekonomsko neprofitabilni



Alternative Ethanol Process

3-6 lb limonene

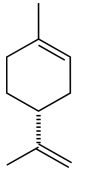
- uporabnost celulaz:
 - recikliranje kmetijskih odpadkov (obnovljivi viri) za produkcijo sladkorja in bioetanola
 - listi, stebela (riž), peclji
 - lesnate rastline, gozdni ostanki
 - trava, slama, krma, sladkorni trs
 - ostanki predelanega sadja
 - olupki pomaranč
 - kokos, inustrijski odpadki
 - tekstilna industrija
 - prehrabena industrija
 - papirna industrija



- celulaze z različnimi lastnostmi glede:
 - stabilnosti
 - pH in T delovanja
- trg v ZDA → celulaze 8% vseh encimov

Citrus Peel (\$0/ton)	\$ 0.00
Chemicals, Enzymes	\$ 0.835
Utilities (steam,el.)	\$ 0.628
Labor, Supplies & Overhead Expense	\$ 0.156
Capital Depreciation	\$ 0.301
Drying of Residues	\$ 1.40
Total Cost	\$ 3.32

Products	Value
Ethanol (1 gallon)	\$ 2.25
Limonene (1.7-3.4 lb @ \$2.00/lb)	\$ 3.40-6.80
Dried Pulp Pellet (38 lb @ \$150/dry ton)	\$ 2.85
Total Value	\$ 8.50-11.90

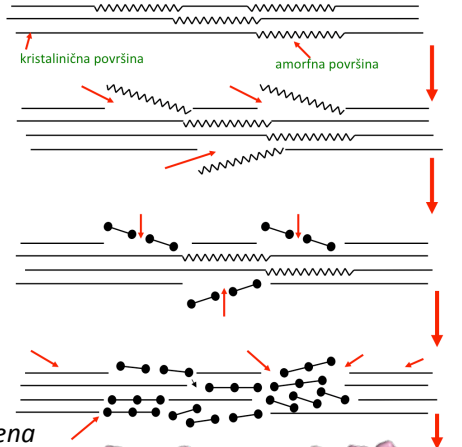
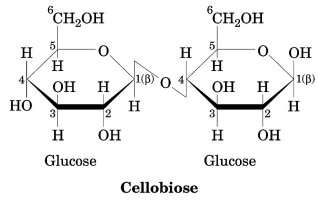


limonen

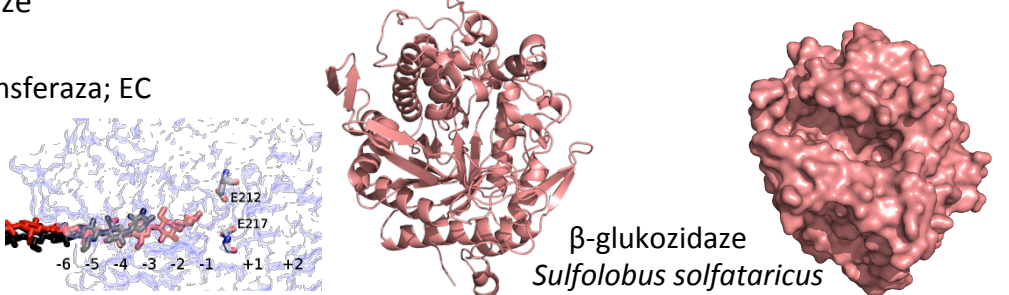
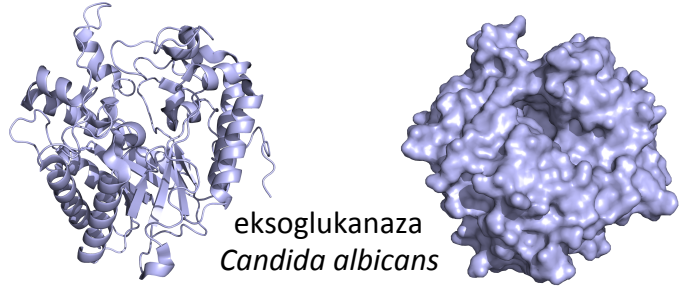
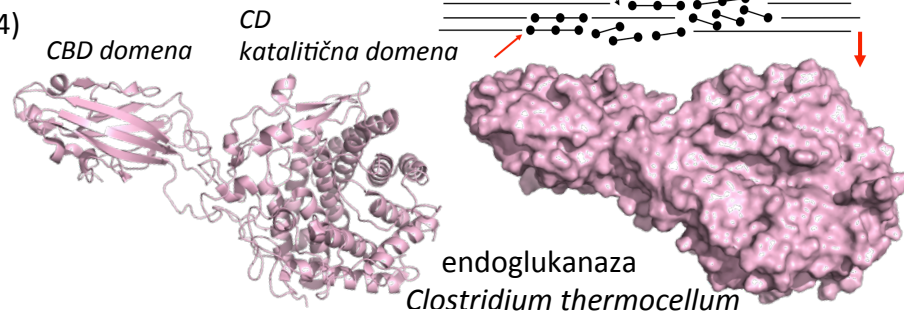
- kozmetika
- za prekivanje grenkega okusa
- uporaben proti refluksu
- v čistilih
- v lepilih

GLIKOZIDAZE: CELULAZE

- glive, bakterije, rastline, črvi, kače...
 - *Bacillus, Clostridium*
 - *Aspergillus, Trichoderma, Saccharomyces*
- razgradnja β -1,4 glikozidne vezi
- za popolno razgradnjo celuloze potrebno sinergistično delovanje več encimov
 - ponavadi predhodni kemijski tretma v kislem

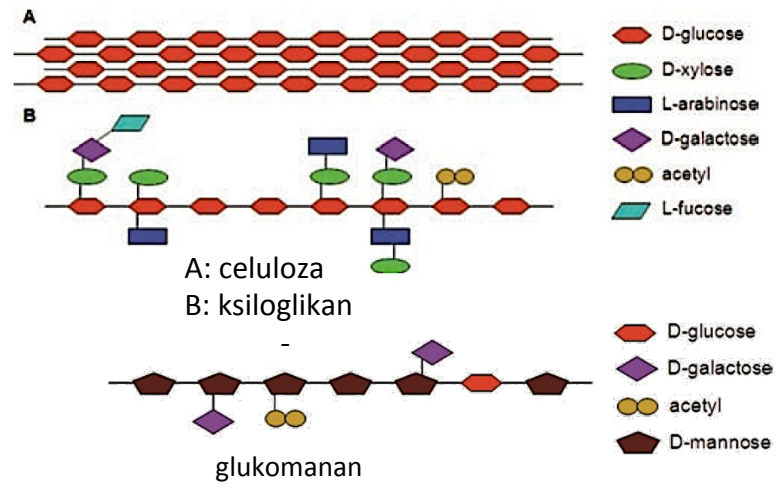


- **endoglukanaze** (1,4- β -D-glukan-4-glukanohidrolaza; EC 3.2.1.4)
 - cepi na amorfnih predelih celulozne verige
 - produkt so oligosaharidi različnih velikosti
- **eksocelobiohidrolaza** (1,4- β -D-glukan-4-celobiohidrolaza; EC 3.2.1.91)
 - delujejo na reducirajočih in nereducirajočih koncih
 - sproščajo ali glukozo (glukanohidrolaze) ali celobiozo (celobiohidrolaze)
 - delujejo na kristalinični in amorfni celulozi, celooligosaharidih
 - ne delujejo na celobiozo in topno celulozo
- **eksoglukanaze** (celodekstrinaze) (1,4- β -D-oligoglukan celobiohidrolaza; EC 3.2.1.74)
 - katalizirajo cepitev celobioze
- **β -glukozidaze** (β -D-glukozid glukohidrolaza; EC 3.2.1.21)
 - hidrolizira celodekstrine in celobiozo do glukoze
 - ne deluje na amorfni ali kristalinični površini
- **celobiazá** ali celobioza fosforilaza (α -D-glukozil transferaza; EC 2.4.1.20)
 - katalizira cepitev celobioze

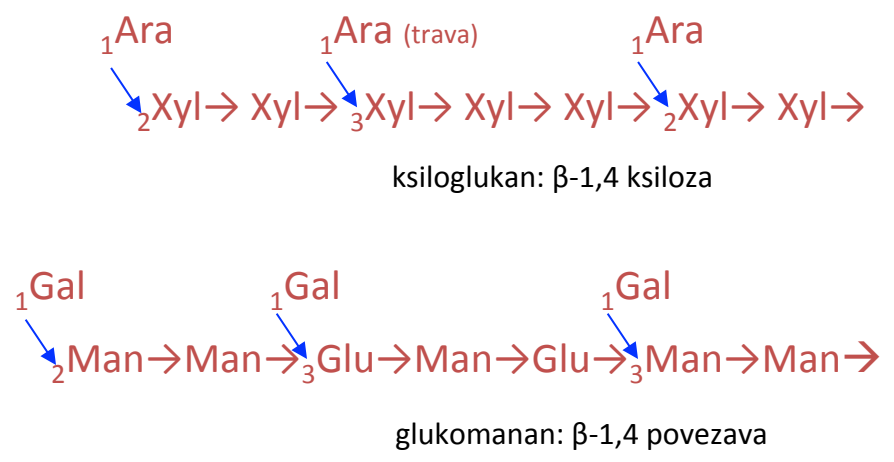


GLIKOZIDAZE: HEMICELULAZE

- **hemiceluloza** je polimer, ki se prepleta med celulozo in ligninom
 - glavna komponenta D-ksiloza (ksilan, ksiloglukan)
 - trdi les
 - zelene rastline
 - D-manoza, D-glukoza (glukomanan)
 - iglavci
 - L-arabinoza, D-galaktoza
- depolimerizacija hemiceluloze
 - kemijsko
 - kislina hidroliza (okolju neprijazno)
 - nastanek toksičnih snovi (furfural)
 - encimska razgradnja
 - komercialno zelo atraktivna
 - popolna razgradnja sinergistično delovanje več encimov

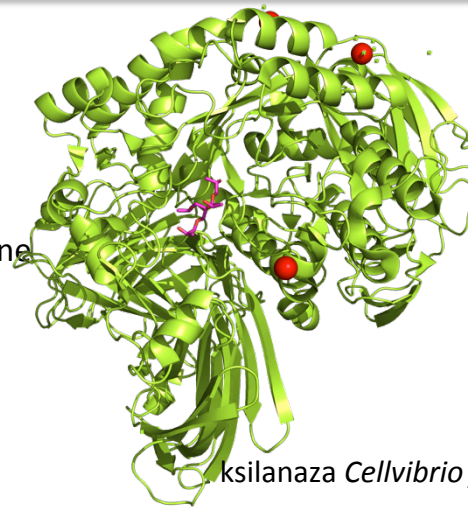


- hemicelulazni encimi
 - **ksilanaze**
 - endo-ksilanaza (endo-1, 4-β -xylanase, E.C.3.2.1.8)
 - cepi verigo ksilana
 - β -ksilozidaza (xylan-1,4-β -xylosidase, E.C.3.2.1.37)
 - hidroliza manoze z nered. konca
 - **manozidaze**
 - manaze
 - cepi glavno verigo glukomanana med Man
 - β -mannozidaza
 - hidroliza manoze z nered. konca
 - **α-glukoronidaza** (α-glucosiduronase, E.C.3.2.1.139)
 - cepi glukoronsko kislino z verige ksilana
 - **α-arabinofuranozidaza** (α-L-arabinofuranosidase, E.C.3.2.1.55)
 - cepi arabinozo z verige ksilana
 - **arabinaza** (endo α-L- arabinase, E.C. 3.2.1.99)
 - cepi 1,5-α-arabino furanozidno vez (arabinan)
 - **acetil ksilan esteraza** (E.C.3.1.1.72)
 - hidrolizira acetilne substitucije na stranskih verigah ksilana
 - **feruloil ksilan esteraza** (E.C.3.1.1.73)
 - hidrolizira estre prisotne na arabinozi pripeti na verigo ksilana

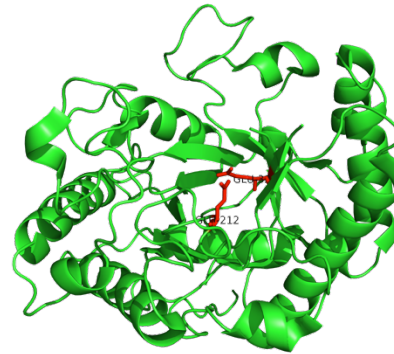
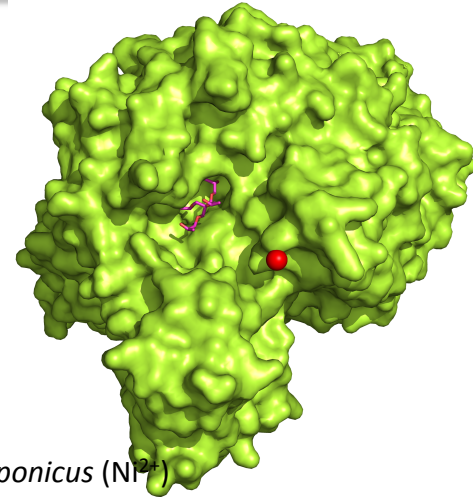


GLIKOZIDAZE: HEMICELULAZE - struktura

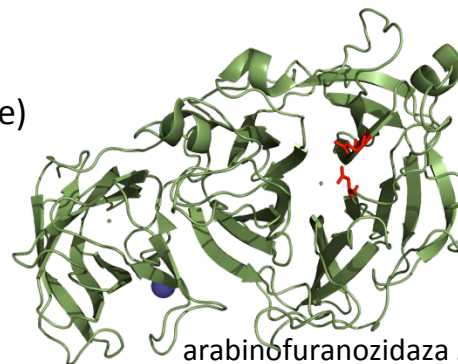
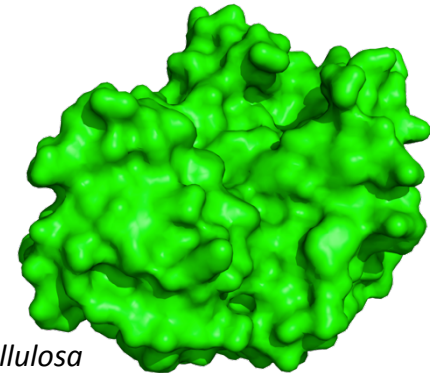
- strukturno heterogeni encimi
- domensko sestavljeni:
 - CD-domene (katalitična)
 - glikozil hidrolazna aktivnost (hidroliza glikozidne vezi)
 - esterazna aktivnost (hidroliza estrske vezi)
 - CBD (carbohydrate binding domain)
- vir industrijskih encimov
 - glive:
 - *Aspergillus*
 - *Trichoderma*
 - bakterije
 - *Pseudomonas*
 - *Clostridium*
 - *Bacillus*
- uporaba
 - izboljšava živalske krme (prebavljivost)
 - prehrabena industrija
 - ekstrakcija olj (kokos)
 - papirna industrija (odstranjevanje lignina-beljenje)
 - vinarstvo
 - tekstilna inustrija (vlakna)
 - prehrabena ind. (peka, kavna zrna)



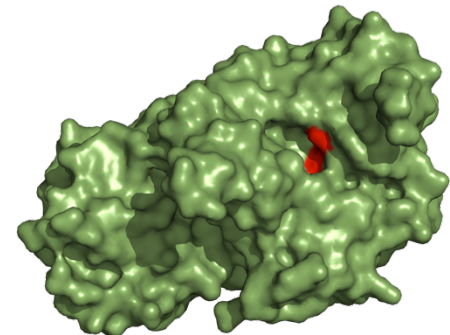
xilanaza *Cellvibrio japonicus* (N1)



manaza *Pseudomonas cellulosa*

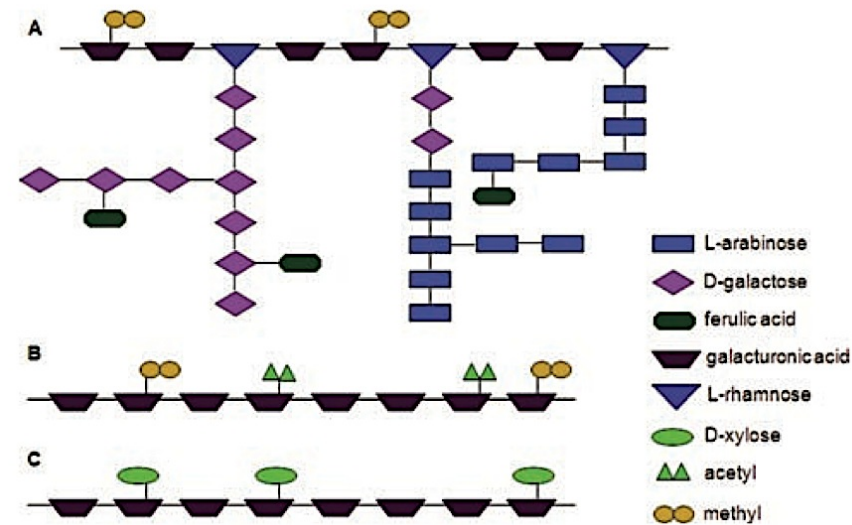


arabinofuranozidaza *Bacillus subtilis*



GLIKOZIDAZE: PEKTINAZE

- pektini so kompleksna struktura
 - poligalakturonska kislina z α -1,4 povezavo
 - protopektin** (nezrelo sadje)
 - v vodi netopen
 - stopnja esterifikacije karboksilnih skupin z metanolom > 90 %
 - polimer je obsežno povezan preko Ca^{2+}
 - po hidrolizi nastane pektin in pektinske k.
 - pektin**
 - topni polimer galakturonana z vsaj 75 % esterifikacijo
 - pektininska kislina**
 - topni polimer galakturonana z do 75% esterifikacije
 - pektinska kislina**
 - topni polimer brez esterifikacije
 - ramnogalakturonan** (β -1, 2 in β -1, 4 pripeti)
 - topen v vodi



(A) ramnogalakturan (RG I)
(B) homogalakturonan (HG)
(C) xylogalakturonan (XGA)

GLIKOZIDAZE: PEKTINAZE

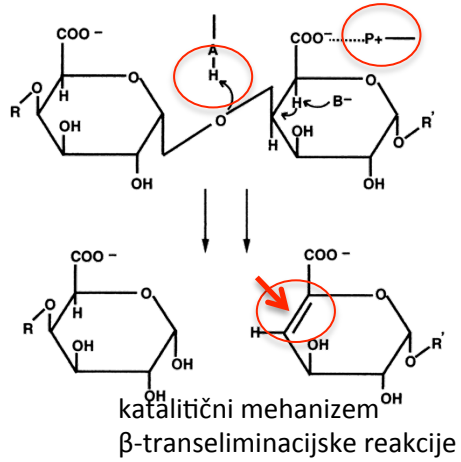
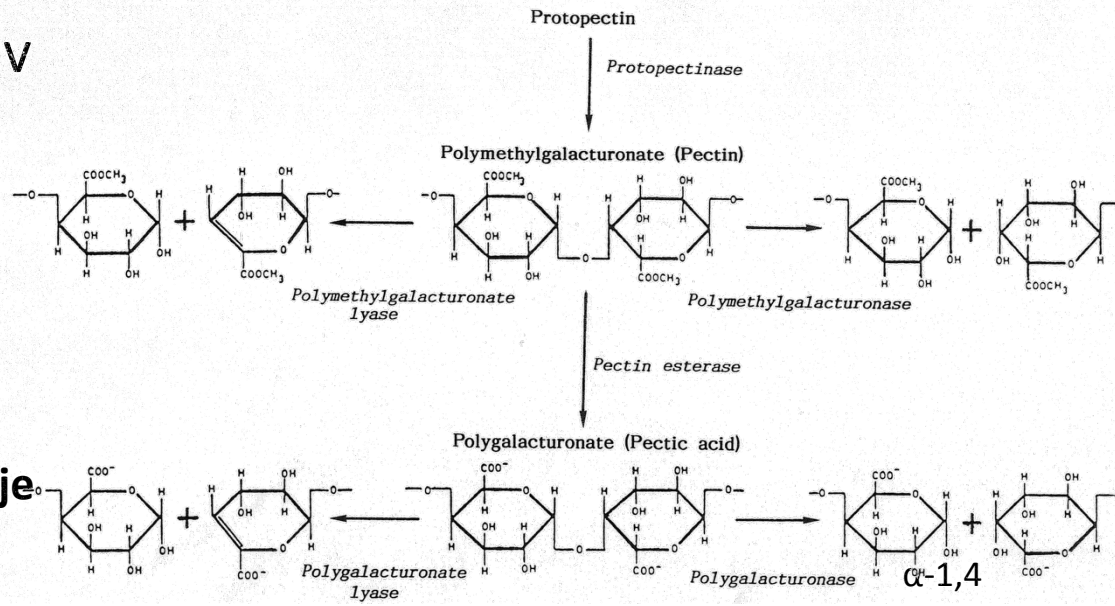
reakcije razgradnje pektinov potekajo v dveh smereh:

– depolimerizacije

- hidroliza glikozidnih vezi (galakturonaze)
- β -transeliminacijske reakcije (liaze)

- P+ nevtralizira naboj karboksilne skupine
- B splošna baza, ki odtegne proton iz C-5
- A splošna kislina, vključena v prenos protona na kisik glikozidne vezi, pri čemer nastane dvojna vez med C-4 in C-5

– deesterifikacije (esteraze)



GLIKOZIDAZE: PEKTINAZE

- encimi pektinaze

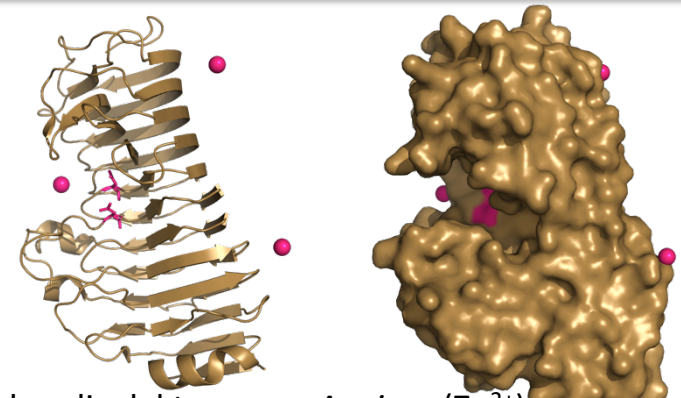
- endo-, eksopoligalakturonaza (PG)
 - PG poligalakturonaza
 - PMG polimetilgalakturonaza
- endo-, eksopektin liaza (PL)
 - PGL poligalakturonat liaza
 - PMGL polimetilgalakturonat liaza
- endo-, eksopektin esteraza (PE)
 - PE pektin esteraza

- struktura pektinaz

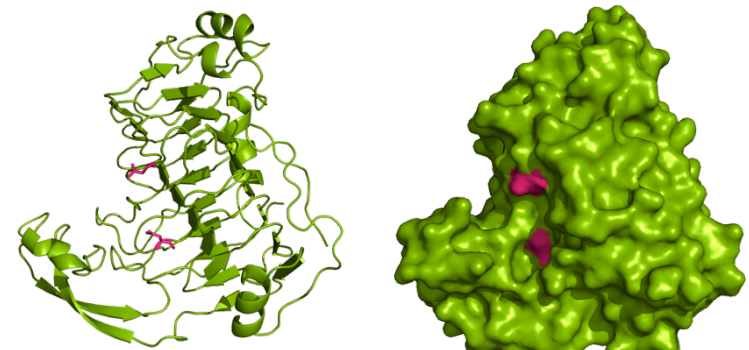
- enodomenski proteini
- podobno zvitje → paralelni β -heliks
- zvit v cilinder
- različne aktivnosti → vezava substrata na podoben način v režo

- uporabnost encimov

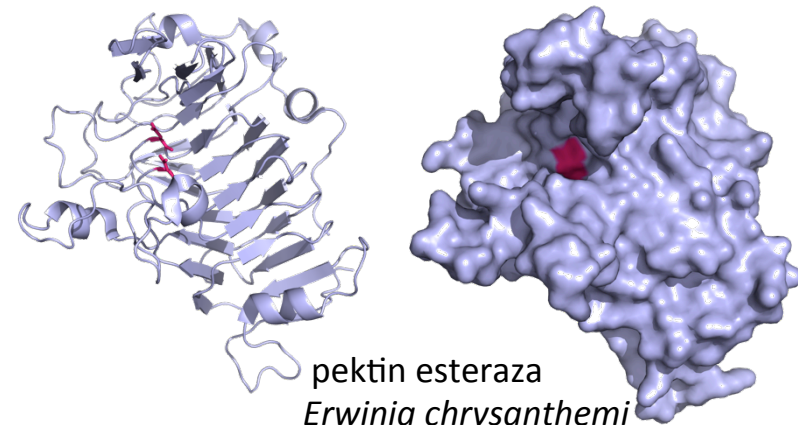
- bistrenje sokov
- maceracija
- obdelava odpadnih vod
- fermentacija kave in čaja
- zaščita lesa



endopoligalakturonaza *A. niger* (Zn^{2+})



pektin liaza *A. niger*



pektin esteraza
Erwinia chrysanthemi