

# Otrzymywanie, właściwości i przydatność termostabilnych enzymów drobnoustrojowych

Józef Synowiecki

Katedra Technologii Utrwalania Żywności, Wydział Chemiczny  
Politechnika Gdańska  
Gdańsk

## 1. Wstęp

Mikroorganizmy rozwijające się w temperaturach dochodzących nawet do 100°C są ostatnio tematem wielu badań zmierzających do wyjaśnienia przyczyn termostabilności oraz określenia możliwości praktycznego wykorzystania tego zjawiska. Termofile wytwarzają m.in. aktywne w ekstremalnych warunkach enzymy stwarzające nowe możliwości zastosowań w procesach technologicznych, w których ich mało odporne analogi zawodzą. Aktualnie termostabilne enzymy mają stosunkowo niewiele zastosowań, co wynika m.in. z niepełnej jeszcze wiedzy o ich właściwościach, jak też z trudności prowadzenia hodowli termofili w dużej skali. Intensywne badania w tym zakresie są jednak prowadzone w wielu krajach w tym w Stanach Zjednoczonych, Niemczech i Japonii.

## 2. Źródła termostabilnych enzymów

Termostabilne enzymy są wytwarzane zarówno przez termofile umiarkowane rozwijające się, np. w fermentującym kompoście, kiszonkach i innych środowiskach o podwyższonej temperaturze, jak też przez żyjące w gorących źródłach i wulkanicznych obszarach dna oceanów termofile skrajnie rosnące w temperaturze 65-80°C oraz hipertermofile o optymalnej temperaturze rozwoju przekraczającej 80°C. Jedną z najwyższych optymalnych temperatur rozwoju (113°C) przejawiają kolonie *Pyrolobus fumaris* rosnące pod zwiększonym ciśnieniem jeszcze w 120°C (1). Niektóre głębinowe termofile przeżywają krótki czas nawet w 250°C (2). Przetrwanie szoku termicznego umożliwia indukowana obecnością zdenaturowanych białek synteza chaperonin i specyficznej proteazy hydrolizującej zdenaturowane białka. Po utworzeniu kom-

pleksu z uszkodzonymi białkami czynniki te odtwarzają ich rodzimą konformację lub hydrolizują białka w przypadku zbyt dużych zmian denaturacyjnych (3). Według istniejących hipotez przyczyną ciepłooporności bakterii termofilnych jest też: duża termostabilność białek i kwasów nukleinowych, szybka resynteza zdenaturowanych termicznie makrocząsteczek oraz inna budowa błony cytoplazmatycznej, której lipidy zawierają rozgałęzione długocząłkowate, nasycone kwasy tłuszczowe lub są zastąpione — u archebakterii — eterami glicerolowymi izoprenoidów alkilowych (4). W niektórych badaniach wskazuje się na duży wpływ ciepłooporności błony cytoplazmatycznej i innych membran komórkowych na maksymalną temperaturę wzrostu mikroorganizmów. Eubakterie *Thermus thermophilus* rozwijające się do temperatury 85°C zawierają kwasy nukleinowe i enzymy nie ulegające jeszcze w tych warunkach cieplnej denaturacji. Zaobserwowano natomiast zmiany fizykochemiczne błon lipidowo-białkowych (5).

Termofile występują wśród eubakterii oraz archebakterii metanogennych, halofilnych i termokwasolubnych. W grupie termofilnych drobnoustrojów znajdują się zarówno litotrofy jak i heterotrofy oraz tlenowce i beztlenowce. Hipertermofile należą najczęściej do archebakterii, które ogólnie określane są mianem ekstermofili. Możliwość hodowli bakterii w skali wystarczającej do produkcji enzymów zależy od: wrażliwości na tlen, metabolizmu bakterii i związanego z tym składu podłoża oraz od toksyczności i oddziaływania korozyjnego wydzielanych produktów. Tylko niektóre hipertermofile są tlenowcami, ale dwa z nich: *Pyrobaculum aerophilum* i *Aquifex pyrophilus* rozwijają się najlepiej przy stężeniu tlenu nie przekraczającym 1% (6). W naturalnym środowisku rozwoju hipertermofile asymilują głównie siarkę elementarną, siarczki, siarczyny i siarczany, wodór, tiosiarczany oraz tlenek węgla, wydalając niekiedy toksyczne lub silnie korodujące metabolity, jak np. siarkowodór lub wytwarzany przez *Sulfolobus solfataricus* kwas siarkowy (7). Większość heterotropowych termofili może jednak przyswajać białka, a niektóre z nich również węglowodany. Wytwarzające enzymy aktywne do temperatury około 120°C archebakterie *Pyrococcus furiosus* dobrze rozwijają się na podłożach zawierających ekstrakt drożdżowy, pepton, kazeinę i skrobię lub maltozę, produkując kwas octowy, wodór i dwutlenek węgla (8). W przypadku występowania w podłożu siarki elementarnej, zamiast wodoru wytwarzany jest siarkowodór. Zwiększa to prawie dwukrotnie wydajność biomasy wskutek wyeliminowania ze środowiska wodoru działającego jako inhibitor wzrostu tych bakterii (8).

Wytwarzanie niepożądanych metabolitów i wysoka temperatura rozwoju utrudniają hodowlę hipertermofili użytecznych w produkcji enzymów o szczególnie dużej ciepłooporności. Sklonowanie genu kodującego syntezę termostabilnego enzymu do mikroorganizmu mezofilnego zapewni rozwiązanie tego problemu; pozwoli na obniżenie temperatury hodowli, zwiększenie wydajności biomasy i wyeliminowanie niepożądanych produktów oraz na uzyskanie znacznej nadekspresji wytwarzania enzymu nawet do 30% ogólnej ilości białek komórkowych (9). Przy większej nadekspresji może nastąpić zakłócenie translacji i w konsekwencji często śmierć komórek (10). Wytworzony enzym jest jedynym termostabilnym białkiem w komórce i pozostaje w roztworze

po cieplnym strąceniu innych białek. Umożliwia to oczyszczenie enzymu w stopniu podobnym jak przy zastosowaniu kolumny z DEAE celulozą (11).

### 3. Przyczyny termostabilności

Termostabilne enzymy tylko w niewielkim stopniu różnią się pod względem składu aminokwasowego i konformacji cząsteczek od ich analogów wytwarzanych przez psychrofile i mezofile. Są one jednak niekiedy zbudowane z innej liczby podjednostek. Najczęściej obserwuje się zastąpienie niektórych reszt seryny i glicyny alaniną, lizyny argininą, seryny treoniną i izoleucyny waliną (12). Konsekwencją tych zmian jest zwiększenie udziału w cząsteczkach białka domen hydrofobowych i obszarów o konformacji  $\alpha$ -helisy. Te niewielkie różnice mogą jednak zasadniczo zmieniać termostabilność enzymów. Utrzymywanie trzecio- i czwartorzędowej konformacji białek zależy nie tylko od łącznej energii wiązań stabilizujących strukturę, wynoszącej średnio 1000 kJ/mol, ale również od oddziaływań destabilizujących wywołanych ogrzewaniem oraz różnymi czynnikami fizycznymi i chemicznymi. Rodzimy stan wielu białek jest zachowany dzięki różnicy entalpii swobodnej zaledwie około 40-80 kJ/mol (13). Zatem, nawet niewielki wzrost liczby stabilizujących białko wiązań wodorowych, jonowych, mostków solnych oraz oddziaływań van der Waalsa i hydrofobowych może spowodować znaczne zwiększenie termostabilności. Z obliczeń termodynamicznych wynika, że zmiana energii swobodnej o kilka kJ/mol wywołana, np. powstaniem w cząsteczce tylko jednego odpowiednio zlokalizowanego wiązania wodorowego lub oddziaływania hydrofobowego około 10-krotnie wydłuża okres półtrwania niedenaturowanego białka w temperaturze 70°C (14). Silne oddziaływania hydrofobowe występujące u większości termostabilnych enzymów zwiększają odporność cząsteczek na zmiany struktury, zmniejszając przez to wpływ sił entropii ze strony środowiska o podwyższonej temperaturze (15).

Najczęściej wzrost termostabilności jest skutkiem współdziałania wielu czynników. Wytwarzana przez ekstremalnie termofilną bakterię *Pyrococcus furiosus* ferredoksyna różni się od analogicznych enzymów organizmów mezofilnych większą ilością wiązań wodorowych w cząsteczce, rozmieszczeniem niektórych reszt alaniny oraz długością domen o konformacji fałdowej i  $\alpha$ -helisy (16). Strukturę niektórych termostabilnych enzymów stabilizują mostki solne wytworzone z udziałem dwuwartościowych kationów, najczęściej jonów wapnia lub magnezu. Ich występowanie pomiędzy resztami lizyny w pozycjach 88 i 385 łańcucha polipeptydowego jest m.in. przyczyną różnic termostabilności  $\alpha$ -amylaz wytwarzanych przez *Bacillus amyloliquefaciens* i *Bacillus licheniformis* (17). Usunięcie mostków solnych zrównuje ciepłooporność niektórych termostabilnych enzymów z analogicznymi enzymami organizmów mezofilnych (18). Przyczyną wzrostu termostabilności jest niekiedy wbudowanie enzymu w strukturę białkowo-lipidowych membran lub też jego unieruchomienie na powierzchni membran licznymi oddziaływaniami elektrostatycznymi lub hydrofobowymi (19). U niektórych drobnoustrojów stabili-

zacja  $\alpha$ -amylaz, proteaz i innych enzymów zewnątrzkomórkowych następuje poprzez ich związanie z zewnętrzną warstwą ściany komórkowej (12). Hydroliza wielkocząsteczkowego substratu zachodzi w tym przypadku nie w podłożu, a na powierzchni komórek. Zwiększenie ciśnienia hydrostatycznego zazwyczaj stabilizuje konformację enzymów i przypuszczalnie innych białek termofili głębinowych (20). Jest to zapewne jedną z przyczyn zaobserwowanego pod zwiększonym ciśnieniem wzrostu o 2-3°C optymalnej temperatury rozwoju *Pyrococcus furiosus*. W przedstawionych informacjach wskazuje się, że przyczyną termostabilności enzymów nie jest tylko ich szczególna budowa, lecz współdziałanie wielu rozmaitych czynników spotykanych także u innych białek.

#### 4. Aktywność i właściwości

Wytwarzane przez rozmaite termofile enzymy o tej samej funkcji katalitycznej różnią się aktywnością właściwą, optymalną temperaturą reakcji i termostabilnością, optymalnym pH reakcji, jak również wrażliwością na działanie aktywatorów i inhibitorów oraz selektywnością działania.

Termostabilne enzymy wykazują w optymalnej temperaturze rozwoju wytwarzających je mikroorganizmów 80-100% maksymalnej aktywności. Tylko w nielicznych przypadkach, jak np. u *Thermus thermophilus* różnice w zakresie optymalnej temperatury reakcji enzymatycznej i rozwoju mikroorganizmów dochodzą do 17-20°C (21). Wytwarzane przez ekstremalne termofile i hipertermofile enzymy są bardzo mało aktywne w temperaturze optymalnego działania ich odpowiedników pełniących tę samą funkcję katalityczną, wyizolowanych z mikroorganizmów mezofilnych. Przykładem jest  $\beta$ -galaktozydaza hipertermofilnej archebakterii *Sulfolobus solfataricus*, która w optymalnej temperaturze działania analogicznego enzymu z *Escherichia coli* ma tylko 5% maksymalnej aktywności osiąganą w 100°C (22). Przyczyną tych różnic są niejednakowe ilości energii, którą należy dostarczyć w celu zmniejszenia sztywności struktury cząsteczek i umożliwienia im przez to fluktuacji konformacyjnych. Fluktuacje te zapewniają niezbędny dla przeprowadzenia reakcji enzymatycznej stopień swobody grup funkcyjnych centrum aktywnego. Następuje to jednak w różnych temperaturach, zależnie od termostabilności zdeterminowanej sztywnością struktury cząsteczek. Podobieństwo stopni swobody grup funkcyjnych występuje w optymalnych temperaturach działania u analogicznych enzymów wytwarzanych przez mezofile i termofile (15). W przypadku niektórych termostabilnych enzymów prostoliniowy wykres wyrażonej równaniem Arrheniusa funkcji określającej zależność aktywności właściwej od temperatury reakcji ma załamanie przejawiające się u  $\beta$ -galaktozydazy z *Sulfolobus solfataricus* w temperaturze 65°C (22). Powyżej tej temperatury następuje też znaczne zmniejszenie energii aktywacji z 74,5 kJ/mol do 29,8 kJ/mol (22). Skokowy wzrost aktywności po przekroczeniu określonej temperatury można prawdopodobnie tłumaczyć zaistnieniem korzystnej dla działania enzymu zmiany konformacji jego cząsteczek. Ograniczenie swo-

body zmian konformacji poprzez zwiększenie sztywności struktury cząsteczek jest też jedną z przyczyn spadku aktywności enzymów po ich unieruchomieniu na nierozpuszczalnych nośnikach.

Niewielkie przekroczenie optymalnej temperatury działania termostabilnych enzymów wywołuje znaczny spadek aktywności. Tak mała różnica temperatury optymalnego działania i cieplnej denaturacji wskazuje, że nawet niezbyt duże zwiększenie niezbędnych dla działania enzymu fluktuacji konformacyjnych nieodwracalnie zmienia strukturę cząsteczek. Jest to przyczyną małej termotolerancyjności termostabilnych enzymów, czyli braku możliwości aktywnego działania w szerokim zakresie temperatur. Uzyskanie dużej termostabilności poprzez usztywnienie konformacji cząsteczek odbywa się kosztem zmniejszenia aktywności w niższych temperaturach w których większość cząsteczek enzymu nie ma już dostatecznej swobody zmian konformacyjnych. Fluktuacje konformacyjne nie są jedynym czynnikiem wpływającym na aktywność termostabilnych enzymów. Duże znaczenie mają też zależne od temperatury zmiany szybkości rozpadu kompleksu enzym-substrat, stopnia denaturacji enzymu i jego powinowactwa do substratu oraz aktywatorów i inhibitorów, jak też zmiany stopnia dysocjacji: enzymu, substratów, związków pośrednich i końcowych produktów reakcji.

Termostabilne enzymy różnią się znacznie zależnością oporności cieplnej od pH, składu jonowego i siły jonowej środowiska oraz od obecności stabilizatorów, którymi są w niektórych przypadkach cząsteczki substratu, tworzące kompleks z enzymem. Z dotychczas zbadanych enzymów największą termostabilność mają  $\alpha$ -amylazy z *Pyrococcus furiosus* i *Pyrococcus woesei*, zachowujące 50% początkowej aktywności po 2 h inkubacji w temperaturze 120°C (23,24). Prawie zupełny zanik aktywności enzymu z *Pyrococcus woesei* następował dopiero po około 90 min autoklawowania w 130°C (24). Dużą termostabilność ma także wytwarzana przez *Pyrococcus furiosus*  $\beta$ -glukozydaza, której okresy półtrwania w temperaturach 100°C i 110°C wynoszą odpowiednio 85 h i 13 h. Jest ona jednak niezwykle zależna od środowiska i zastąpienie użytego do badań buforu Tris/HCl buforem fosforanowym o tym samym pH 5,0 zmniejsza okres półtrwania w temperaturze 110°C aż do 30 min (8). Tak duże oddziaływanie stabilizujące próbowano tłumaczyć podobieństwem znajdującego się w buforze tri(hydroksymetylo)aminometanu do występującego w komórkach naturalnego stabilizatora enzymu. Stabilizatorem  $\beta$ -amylazy z *Clostridium thermosulphurogenes* są jony  $\text{Ca}^{2+}$ , których usunięcie wywołuje szybką inaktywację enzymu w temperaturze 80°C (25). Skład jonowy środowiska nie ma natomiast żadnego wpływu na stabilność  $\alpha$ -amylazy z *Pyrococcus woesei* (24).

Różnice optymalnego pH działania występują zarówno wśród rozmaitych enzymów tego samego mikroorganizmu jak i u różniących się pochodzeniem enzymów o tej samej funkcji katalitycznej. Większość termostabilnych enzymów przejawia maksymalną aktywność w granicach pH 4,5 – 7,5, zbliżonych do odczynu optymalnego dla wzrostu wytwarzających je mikroorganizmów. Niektóre termofile, jak np. *Thermoplasma acidophilus* lub *Sulfolobus solfataricus* rozwijają się najlepiej w bardzo kwaśnym środowisku o pH 2,0 i 3,0

(1,4). Duża kwasowość środowiska rozwoju *Sulfolobus solfataricus* nie ma jednak istotnego wpływu na optymalne pH działania  $\beta$ -galaktozydazy (pH 6,2) i innych enzymów wytwarzanych poprzez te archebakterie (22,26). Wynika to z zupełnie innej kwasowości cytoplazmy niż środowiska rozwoju, zapewnionej selektywnym transportem jonów przez błonę cytoplazmatyczną oraz ograniczeniem samoistnego przenikania protonów do wnętrza komórek przez silnie hydrofobowe składniki ściany komórkowej. Wśród enzymów tego samego pochodzenia występują niekiedy dość duże różnice optymalnego pH zaobserwowane, np. u  $\alpha$ -amylazy (pH 7,0) i  $\beta$ -galaktozydazy z *Pyrococcus furiosus* (pH 5,0). Można je tłumaczyć zmianami stężenia jonów wodorowych w sąsiedztwie błon retikulum endoplazmatycznego i innych błon komórkowych. Związane z nimi enzymy są dostosowane do wartości pH zdeterminowanych gęstością, rozmieszczeniem i stopniem jonizacji grup funkcyjnych na powierzchni błon. Enzymy wytwarzane przez termofilne halofile uzyskują dużą aktywność i termostabilność dopiero przy zwiększonym stężeniu chloru sodu w środowisku.

## 5. Niektóre zastosowania

Prowadzenie procesów biotechnologicznych z udziałem enzymów mikroorganizmów termofilnych jest korzystne ze względu na dużą szybkość i wydajność reakcji, zwiększenie rozpuszczalności niektórych substratów oraz małą możliwość kontaminacji środowiska reakcji, trudnej do uniknięcia w dużych fermentorach i w reaktorach przepływowych z unieruchomionym enzymem. Przy użyciu termostabilnych enzymów należy się jednak liczyć z pewnym zwiększeniem kosztu energii zużytej na prowadzenie procesu w podwyższonej temperaturze.

Termostabilne  $\alpha$ -amylazy są powszechnie stosowane do upłynniania i scukrzania skrobi w pierwszym etapie wytwarzania syropu glukozowego lub fruktozowego, maltozy, cyklodekstryn i etanolu. Na koszty procesu w dużym stopniu wpływa zużycie enzymu i stężenie roztworu skrobi od którego zależy ilość wody odparowywanej podczas zagęszczania produktu. Zastosowanie termostabilnych  $\alpha$ -amylaz umożliwia prowadzenie reakcji w temperaturze 80-90°C ograniczającej niekorzystne żelowanie i wzrost lepkości 30-40% roztworu skrobi oraz zapewniającej strącenie pozostałości białek zanieczyszczających substrat. Najczęściej stosowana  $\alpha$ -amylaza z *Bacillus subtilis* ma zbyt małą termostabilność. Aby zwiększyć wydajność reakcji dodaje się ją niekiedy w dwóch porcjach — na początku i podczas trwania procesu, co znacznie zwiększa zużycie enzymu. Podejmowane są próby prowadzenia procesu w temperaturze 120-140°C, umożliwiającej dalsze zwiększenie stężenia skrobi (27). Ich powodzenie zależy jednak od zastosowania  $\alpha$ -amylaz o większej termostabilności niż dotychczas używane.

Termostabilne  $\beta$ -mannozydazy hydrolizujące hemicelulozy umożliwiają lepsze wykorzystanie złóż ropy naftowej (28). W tym celu do szybu pompuje się mieszaninę piasku z roztworem gumy guarowej z *Cyamopsis tetragonales*

i hydrolizującego ją enzymu, nieaktywnego w niskiej temperaturze. Wytworzone eksplozją ładunku wybuchowego szczeliny, stopniowo wypełnia piasek zachowujący zdolność penetracji złoża dzięki domieszce hemicelulozy. Rozkład gumy guarowej hamującej przenikanie ropy przez wypełnione piaskiem szczeliny następuje po uaktywnieniu enzymu w podwyższonej temperaturze skał otaczających szyb.

Zastosowanie termostabilnej polimerazy DNA z *Thermus thermophilus* lub *Thermus aquaticus* umożliwiło znaczne uproszczenie i zautomatyzowanie techniki PCR poprzez wyeliminowanie konieczności uzupełniania enzymu po każdej wysokotemperaturowej fazie cyklu replikacji fragmentów DNA (29,30). Podane przykłady nie wyczerpują wszystkich możliwych zastosowań termostabilnych enzymów, które mogą służyć np. do wytwarzania cyklodekstryn, syropu glukozowo-galaktozydowego z serwatki, syntezy rozmaitych oligosacharydów, oraz do produkcji biosensorów z unieruchomionym enzymem umożliwiającymi jakościowe i ilościowe oznaczanie analitów w podwyższonej temperaturze.

Autor dziękuje prof. Z. E. Sikorskiemu za krytyczną ocenę i uwagi dotyczące niniejszego opracowania.

## Literatura

1. Barros J. A., Holden J. F., (1996), *Adv. Protein Chem.*, 48, 1-34.
2. Straube W. L., Deming J. W., Somerville C. C., Colwell R. R., Barros J. A., (1990), *Appl. Environm. Microbiol.*, 56, 1440-1447.
3. Taguchi H., Konishi J., Ishii N., Yoshida M., (1991), *J. Biol. Chem.*, 266, 22411-22418.
4. Schlegel H. G., (1996), *Mikrobiologia ogólna*, PWN, Warszawa, 141-143.
5. Oshima M., Osawa Y., (1983), *J. Biochem.*, 93, 225-234.
6. Burggraf S., Olsen G. J., Stetter K. O., Woese C. R., (1992), *Arch. Microbiol.*, 15, 352-356.
7. Huber G., Drobner E., Huber H., Stetter K. O., (1992), *Syst. Appl. Microbiol.*, 15, 502-504.
8. Kengen S. W. M., Luesink E. J., Stams A. J. M., Zehnder A. J. B., (1993), *Eur. J. Biochem.*, 213, 305-312.
9. Kidwell J., Kolibachuk D., Dennis D., (1996), *Biotechnol. Bioeng.*, 50, 108-114.
10. Dong H., Nilsson I., Kurland C. G., (1995), *J. Bacteriol.*, 177, 1497-1504.
11. Moracci M., LaVolpe A., Pulitzer J. F., Rossi M., Ciaramella M., (1992), *J. Bacteriol.*, 174, 873-882.
12. Jaenicke R., Schuring H., Beaucamp N., Ostendorp R., (1996), *Adv. Protein Chem.*, 48, 181-263.
13. Sikorski Z. E., (1997), *Proteins, the chemical structure and properties*, in: *Chemical and Functional Properties of Food Components*, Ed. Sikorski Z.E., Technomic Publ. Co. Lancaster/Basel, 119-160.
14. Perutz M. F., Raidt H., (1975), *Nature*, 255, 256-259.
15. Daniel R. M., (1996), *Enzyme Microbiol. Technol.*, 19, 74-79.
16. Adams M. W. W., Kletzin A., (1996), *Adv. Protein Chem.*, 48, 101-178.
17. Tomazic S. J., Kilbanov A. M., (1988), *J. Biol. Chem.*, 263, 3092-3096.
18. Cowan D. A., Daniel R. M., (1982), *Biochem. Biophys. Acta*, 705, 293-305.
19. Maier R., (1996), *Adv. Protein Chem.*, 48, 35-99.
20. Hei D. J., Clark D. S., (1994), *Appl. Environm. Microbiol.*, 60, 932-939.

21. Maciuńska J., Czyż B., Synowiecki J., (1998), Food Chem., in press.
22. Pisani F. M., Rella R., Raia C. A., Rozzo C., Nucci R., Gambacorta A., (1990), Eur. J. Biochem., 187, 321-328.
23. Laderman K. A., Asada K., Uemori T., Mukai H., Taguchi Y., Kato I., Afinsen C. B., (1993), J. Biol. Chem., 268, 24402-24407.
24. Koch R., Spreinat A., Lemke K., Antranikian G., (1991), Arch. Microbiol., 150, 572-578.
25. Shen G. J., Saha B. C., Lee Y. E., Bhatnagar L., Zeikus J. G., (1988), Biochem. J., 254, 835-840.
26. Cacaе M. G., de Rosa M., Gambacorta A., (1976), Biochem., 15, 1692-1696.
27. Lonsane B. K., Ramesh M. V., (1990), Adv. Appl. Microbiol., 35, 1-56.
28. Madigan M. T., Marrs B. L., (1997), Świat Nauki, 78, 60-65.
29. Ruttimann C., Cotoras M., Zaldivar J., Vicuna R., (1985), Eur. J. Biochem., 149, 41-46.
30. Stenesh J., Roe B. A., (1972), Biochim. Biophys. Acta, 272, 156-166.

## Preparation, properties and suitability of thermostable enzymes

### Summary

Some enzymes from extreme thermophiles and hyperthermophiles have half-lives up to 13 h at temperatures above 100°C. They are suitable for starch and whey processing, oil mining, PCR technique and oligosaccharides synthesis. The differences in structure and function between these very stable and the prevailing less stable enzyme forms are relatively small and are comparable with those differences found among enzymes of similar stability. The relationship of both conformational stability and enzymatic activity with protein flexibility suggests that stability at temperatures far above those which are optimum for the growth of microorganism is rather unlikely.

### Key words:

thermophiles, enzyme thermostability, *Pyrococcus furiosus*, *Sulfolobus solfataricus*.

### Adres do korespondencji:

Józef Synowiecki, Katedra Technologii Utrwalania Żywności, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-952 Gdańsk.