

Nederlandse samenvatting

Een enzym met chitin deacetylase activiteit [EC 3.5.1.41], welke hydrolysis van de acetamido groep van N-acetylglucosamine mogelijk maakt in chitin, is gezuiverd tot homogeniteit van de cultuur filtraat van de *Bacillus cereus* Frankland and Frankland 1887 AL LMG 6923 (ATCC 14579). Het moleculaire gewicht is bepaald op 32 kDa. Het enzym is actief op chitin substraten, chitooligomeren en xylan substraten. Enzymatische activiteit naar alle substraten is duidelijk toegenomen bij aanwezigheid van Co^{2+} . Het enzym heeft een substraat nodig met tenminste 4 N-acetyl-D-glucosamine residuen (chitotetraose) om katalyse mogelijk te maken en acetate is gebleken een inhibitor te zijn voor dit enzym met glycol chitin als substraat. Met glycol chitin als substraat de optimale temperatuur bleek 50°C te zijn en een optimale pH 8.0. Het onlangs sequenced genoom van deze *Bacillus cereus* gaf verder duidelijke argumenten voor een alternatief chitin degradatie pathway in bacteriën.

Gelijklopend met dit werk werd de relaties van chitin deacetylases met zijn gelijkaardige enzymen van de Carbohydrate Esterase familie 4 verder ingekeken. Een goed geconserveerde domain van deze genen van deze Carbohydrate Esterase familie 4, met als naam NodB domain of polysaccharide deacetylase domain, gaf duidelijk een potentiële relatie aan tussen alle enzymen van deze familie. Verder is duidelijk dat de substraten van deze enzymen structureel overeenkomen.

Voor een vergelijkende studie werden twee enzymen onderzocht versus hun substraten: een chitin deacetylase van de zygomycete *Mycor rouxii* en een acetyl xylan esterase van de actinobacterie *Streptomyces lividans* AxeA. Model substraten voor vergelijking waren: $[^3\text{H}]$ -glycol chitin, chitin-50, N-acetyl chitotetraose, birchwood xylan and $[^3\text{H}]$ -peptidoglycan. Verder werd de full-length acetyl xylan esterase AxeA eiwit getest samen met de kortere versie waarin de xylan-binding domain niet meer aanwezig is. Alle geteste enzymen waren actief tegenover de gebruikte substraten, met uitzondering van peptidoglycan. Een toename van de activiteit naar de meeste substraten nam toe met Co^{2+} (1mM) in de reactie oplossing. Een potentiële activiteit naar peptidoglycan toe werd onderzocht maar bleek te ontbreken op dit ogenblik.

Deze studie heeft de primeur om de relatie tussen de enzymen van de Carbohydrate Esterase familie 4 aan te tonen en is een eerste in de isolatie en zuivering tot homogeniteit van een eiwit met chitin deacetylase activiteit van bacteriën.