

Ressourcenschonende Herstellung von Feinchemikalien

Christoph Mähler, Dr. Kathrin Castiglione, Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz

Technische Universität München, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

Hintergrund

Chirale Verbindungen sind wichtige Bausteine für die Synthese bioaktiver Substanzen wie beispielsweise Pharmazeutika, Lebensmittelzusatzstoffe, Futtermittel und Agrochemikalien. Eine Option, chirale Moleküle herzustellen, bietet die „asymmetrische Reduktion von Alkenen“. Die Biokatalyse stellt in diesem Kontext eine umweltfreundliche und wirtschaftlich interessante Möglichkeit dar, diese Reduktion durchzuführen. Dabei werden Doppelbindungen von Alkenen mit Hilfe von Enreduktasen (ERs) hydriert. Während dieser Reaktion verbrauchen ERs ein sehr teures Hilfsmolekül, den sogenannten Cofaktor Nicotinamidadenindinukleotid (NADH). Daher ist die Möglichkeit einer ressourcenschonenden industriellen Anwendung von ERs eng mit der Enzymaktivität und dem Cofaktor verknüpft.

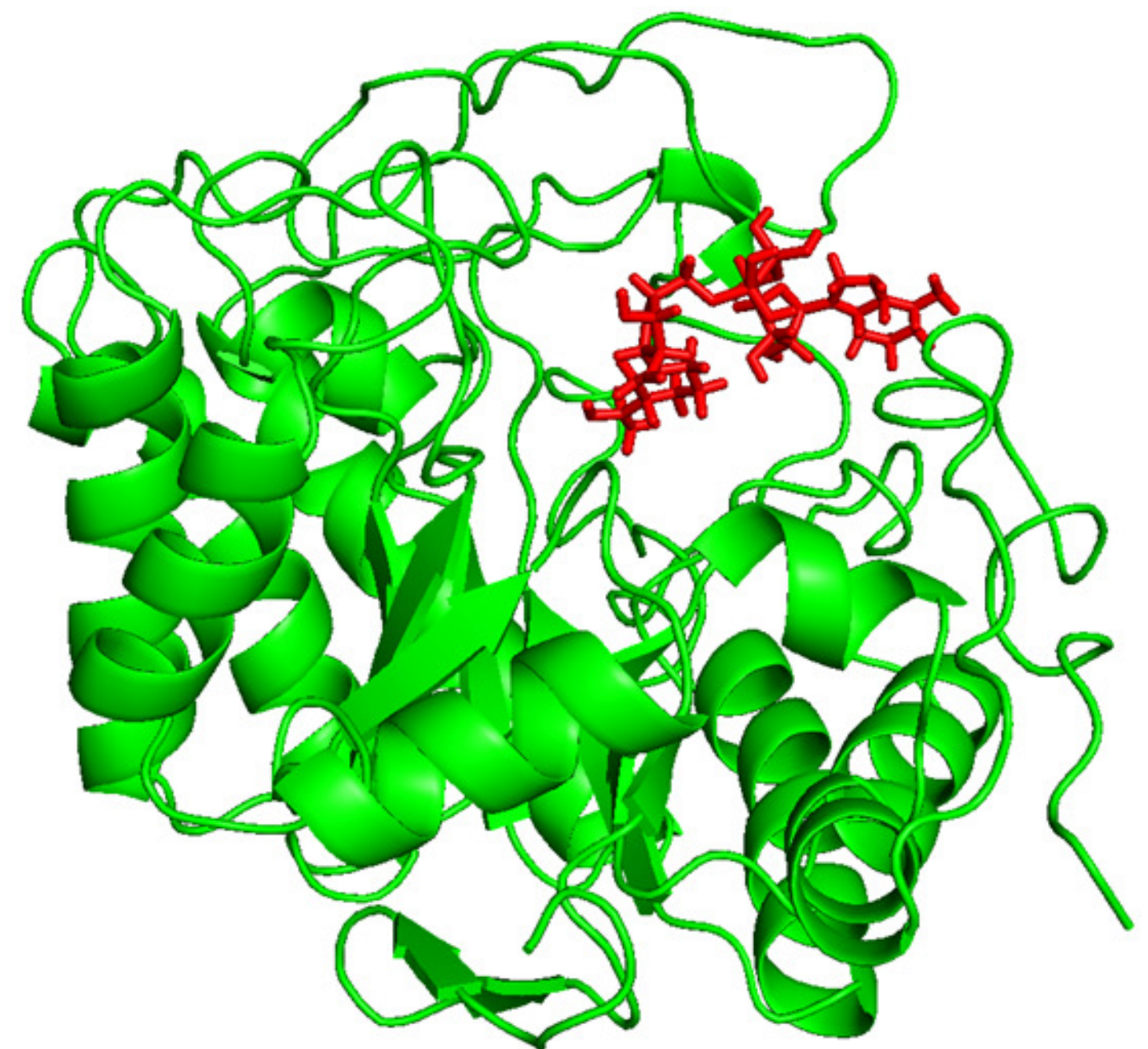


Abbildung 1: Homologiemodell einer cyanobakteriellen Enreduktase eines *Nostoc*-Stammes (grün) mit dem gebundenen Cofaktor Nicotinamidadenindinukleotid (rot).

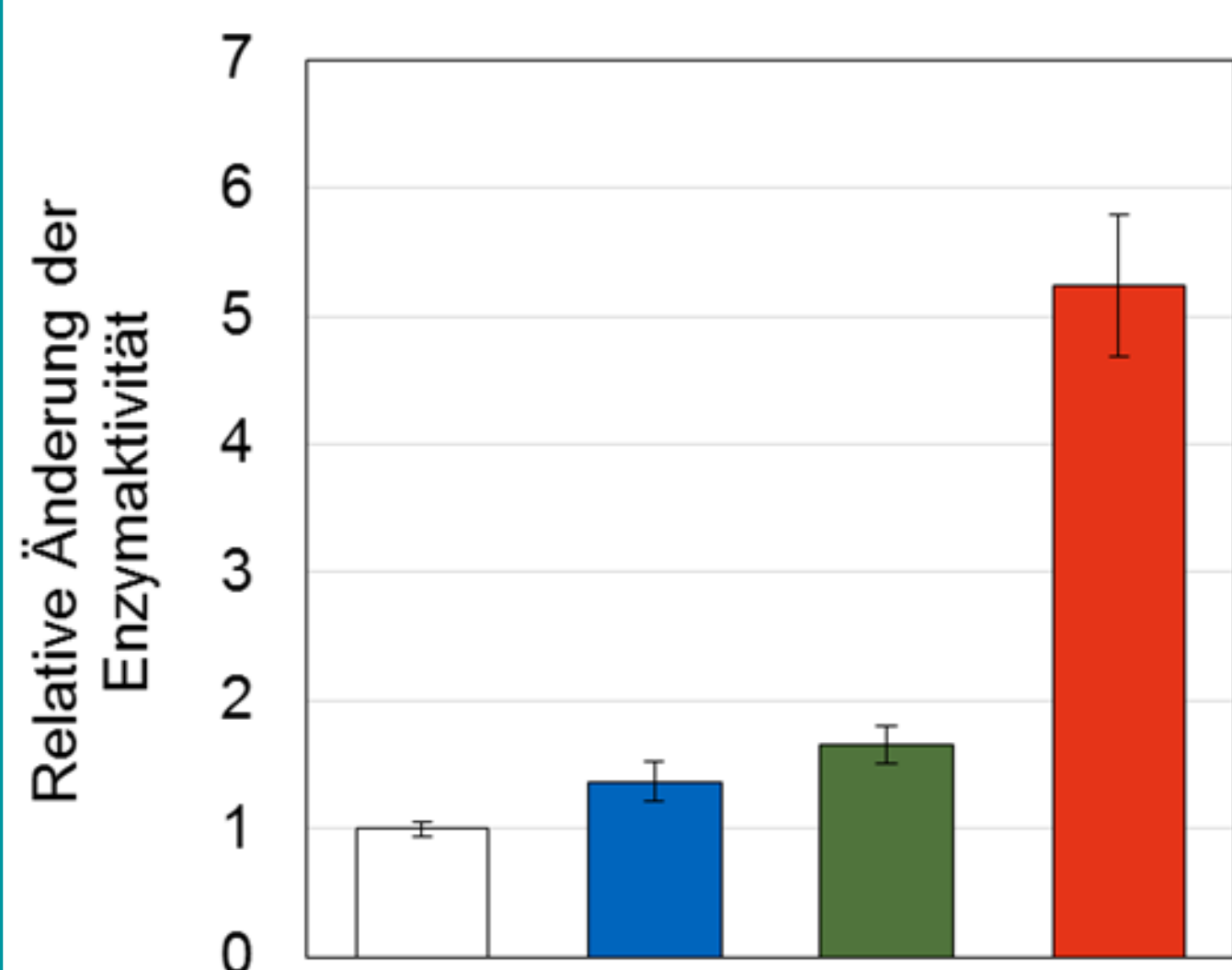


Abbildung 2: Relative Änderung der Enzymaktivität der drei veränderten Enzymvarianten NostocER1_(a) (blau), NostocER1_(b) (grün) und NostocER1_(c) (rot) zur Referenz NostocER1 (weiß).

Projektfortschritt und Zwischenergebnisse

Im ersten Abschnitt des Forschungsvorhabens sollte die Aktivität von ERs mit NADH als Cofaktor gesteigert werden. Hierfür wurden vielversprechende ERs ausgewählt und durch verschiedene Methoden des *Protein Engineerings* verändert. Dabei konnten erste Erfolge durch die Veränderung von flexiblen Bereichen der cyanobakteriellen Enreduktase 1 aus einem *Nostoc*-Stamm (NostocER1) erzielt werden (Abbildung 1). Flexible Bereiche der NostocER1, welche an der Bindung des Cofaktors NADH beteiligt sein könnten, wurden durch Bereiche vergleichbarer ERs mit einer hohen Enzymaktivität mit NADH ersetzt. Die interessantesten Ergebnisse wurden durch den Austausch dreier Regionen (a, b und c) mit den entsprechenden Bereichen einer proteobakteriellen ER erzielt. So konnten drei Enzymvarianten charakterisiert werden, welche eine Steigerung der Aktivität mit NADH um die Faktoren 1,4 sowie 1,7 und 5,2 aufweisen (Abbildung 2).

Ausblick

Aufbauend auf diesen vielversprechenden Ergebnissen wird die Optimierung der NostocER1 weiter vorangetrieben. Zusätzlich soll ihr Einsatz für die Synthese von Dihydrocarvon, einem Schlüsselbaustein bei der Herstellung von Antimalaria-Wirkstoffen und Naturstoffen, validiert werden. Hierzu werden im Satzverfahren enzymatische und Ganzzell-Ansätze in Ein- und Zweiphasensystemen vergleichend untersucht. Das beste System wird reaktionskinetisch analysiert und vom Milliliter- in den Litermaßstab übertragen.