

Ressourcenschonende Herstellung von Feinchemikalien

Christoph Mähler², Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz², Prof. Dr. Kathrin Castiglione¹

¹Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, ²Technische Universität München

Hintergrund

Chirale Feinchemikalien sind wichtige Bausteine für die Synthese bioaktiver Substanzen wie beispielsweise Pharmazeutika, Lebensmittelzusatzstoffe, Futtermittel und Agrochemikalien. Eine attraktive Möglichkeit chirale Moleküle herzustellen, bietet die asymmetrische Reduktion von Kohlenstoff-Doppelbindungen. Diese Reduktion kann mit Hilfe von umweltfreundlichen Biokatalysatoren durchgeführt werden. Dabei werden die Doppelbindungen mit Hilfe von Enzymen, den sogenannten Enreduktasen (ERs), reduziert. Während dieser Reduktion benötigen ERs ein sehr teures Hilfsmolekül, den Cofaktor Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) für den Elektronentransport. Eine ressourcenschonende industrielle Anwendung von ERs ist abhängig von der Enzymaktivität mit diesem natürlichen Cofaktor.

Vorhaben

Ziel dieses Forschungsvorhabens war die Aktivitätssteigerung von ERs mit dem Elektronentransportmolekül NADH. Aus diesem Grund wurde eine ER aus einem Cyanobakterium (kurz: NostocER1) durch verschiedene Methoden des *Protein Engineerings*, also der zielgerichteten Struktur- und Funktionsoptimierung von Enzymen, verändert. Aufgrund des effizienten Umsatzes einer Vielzahl von Substraten, unter anderem (R)-Carvon, einer Feinchemikalie die für die Synthese von Anti-Malaria Wirkstoffen verwendet wird, ist die NostocER1 ein viel versprechender Biokatalysator. Ein industrieller Einsatz dieses Enzyms wird jedoch durch seine geringe NADH-Aktivität erschwert.

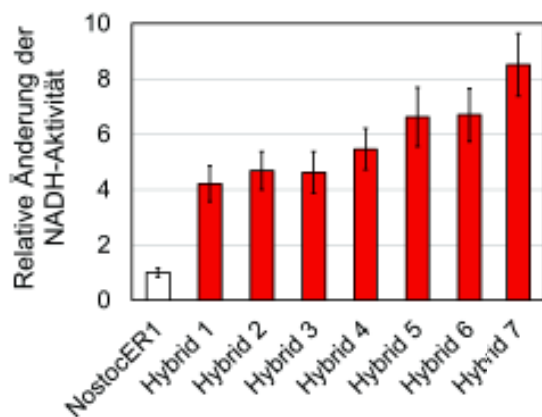
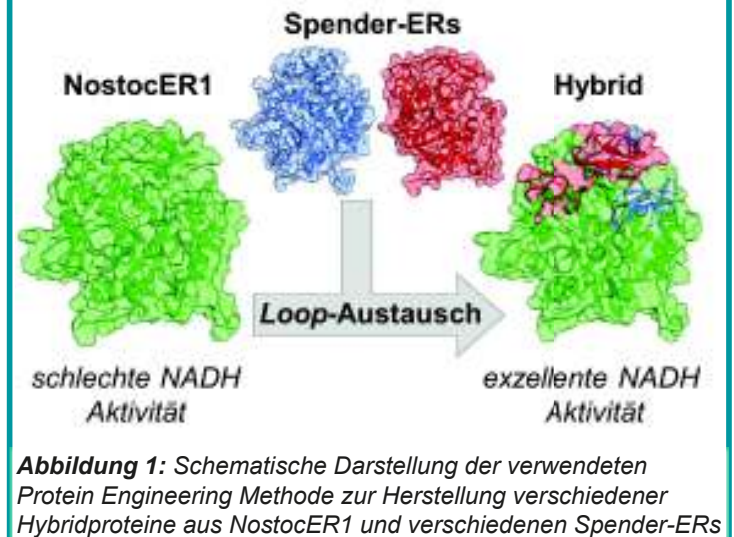


Abbildung 2: Relative Änderung der NADH-Aktivität einer Vielzahl von optimierten NostocER1-Hybriden (rot) im Vergleich zum Ausgangsenzym NostocER1 (weiß).

Ergebnis

Im Rahmen der Forschungsarbeiten gelang die Identifikation eines wirkungsvollen Ansatzes zur Steigerung der NADH-Aktivität der NostocER1. Dabei wurden die flexiblen Loop-Regionen des Enzyms, welche an der Bindung des NADH beteiligt sind, durch entsprechende Bereiche ähnlicher ERs (Spender-ERs) mit einer von Natur aus höheren Aktivität mit NADH ersetzt (Abbildung 1). Durch die Anwendung dieser Methode konnte eine Vielzahl von optimierten NostocER1-Hybriden erzeugt werden. Sieben dieser optimierten Enzyme zeigten eine 4- bis 8-fach gesteigerte Aktivität mit NADH relativ zur unveränderten NostocER1 (Abbildung 2). Mit Hilfe dieser Hybride war es möglich, die Geschwindigkeit bei der Umsetzung von (R)-Carvon zu steigern. Aufbauend auf diesen Ergebnissen konnte ein Bioprozess entwickelt werden, welcher erfolgreich einer Maßstabsvergrößerung unterzogen wurde.