

Charakterisierung und Strukturaufklärung von rSAM abhängigen Epimerasen



Diplomandin

Stefanie Reiter

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Lukas Neutsch

Mikroorganismen können Resistenzen gegen antimikrobielle Wirkstoffe ausbilden, was eine Gefahr für die globale medizinische Versorgung darstellt. Die Suche nach neuen Antibiotika ist ein Weg, um dieser Gefährdung entgegenzutreten. In diesem Zusammenhang stellen antimikrobielle Peptide (AMPs) mögliche neue Therapeutika dar. Eine Herausforderung in ihrer Entwicklung ist jedoch, dass Peptide schnell durch körpereigene Proteasen abgebaut werden. Durch die Modifikation der Peptide, zum Beispiel durch die Installation von D-Aminosäuren, könnte dieser Abbau verlangsamt und so der Anwendungsbereich von AMPs stark ausgeweitet werden.

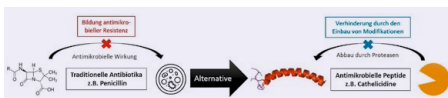


Abb. 1: Antimikrobielle Peptide als mögliche Alternative zu traditionellen Antibiotika.

rSAM abhängige Epimerasen sind Enzyme, welche anspruchsvolle posttranslationale Epimerisierungen von Aminosäuren in Peptiden durchführen. Seit ihrer Entdeckung zu Beginn des 21. Jahrhunderts wurden mehrere Studien zur Aufklärung ihres Wirkmechanismus sowie der Substratspezifität unternommen. Zum heutigen Zeitpunkt konnte jedoch noch keine Proteinstruktur dieser Enzyme aufgeklärt werden. Mit dem Ziel, Epimerasen mechanistisch besser zu verstehen und für die Erkennung potenter AMPs zur Optimierung, sind

strukturelle und biochemische Informationen jedoch sehr wichtig.

Um eine röntgenkristallographische Untersuchung der Struktur von rSAM abhängigen Epimerasen zu ermöglichen, wurden Kristallisationsplatten mit insgesamt 960 verschiedenen Pufferbedingungen angesetzt. Nach 25 Tagen konnte noch keine Kristallbildung beobachtet werden, jedoch waren bei einigen Bedingungen lokale Präzipitationen zu erkennen. Diese Bedingungen werden als Startpunkt für weitere Kristallisationsversuche dienen.

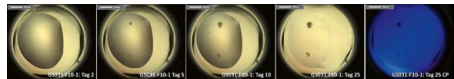


Abb. 2: Entwicklung von lokalen Präzipitationen bei einer Kristallisationsbedingung über den Zeitraum von 25 Tagen.

Mittels *in vitro* Biokatalysen wurden die Substratspezifitäten von zwei neu beschriebenen Epimerasen analysiert. Die durchgeführten Experimente zeigten die Empfindlichkeit von rSAM abhängigen Epimerasen auf: In Abhängigkeit der verwendeten Peptidpräparation konnten enzymatische Aktivitäten festgestellt werden. Die Resultate weisen auf eine Inhibition oder Aktivierung der Epimerasen durch eine noch nicht identifizierte Komponente der Reaktionsmischung hin.