

Biochemische Charakterisierung von bioinformatisch identifizierten Kettoreduktasen



Diplomandin

Kevin Mohammad Yar

Korrektorinnen ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Sumire Honda Malca

Die asymmetrische Reduktion von Ketonen zu sekundären Alkoholen ermöglicht die Herstellung von wichtigen Synthons in der pharmazeutischen Industrie. Aufgrund nachhaltiger und wirtschaftlicher Aspekte der Prozessgestaltung besteht ein erhöhtes Interesse an Kettoreduktasen (KREDs), die unter milden Bedingungen und ohne den Einsatz von Schwermetallen eingesetzt werden können. Durch die zunehmende Menge an genomischen Daten können aus einem Start-Enzym, wie z. B. einer Kettoreduktase, mit interessanten katalytischen Eigenschaften, phylogenetisch verwandte, sogenannte orthologe Enzyme identifiziert werden. Das Ziel besteht nun darin, neue, unbeschriebene Enzyme mit höherer Aktivität, Selektivität und/oder Stabilität zu finden.

In dieser Arbeit wurde mit molekularbiologischen Methoden eine Enzymbibliothek aus den Sequenzen von 48 Enzymen aufgebaut, welche ortholog zu einer Start-KRED sind. Diese 48 Enzyme wurden auf ihre Aktivität für vier pharmazeutisch interessante Synthons charakterisiert. Die Aktivitätsverhalten der untersuchten Enzyme zeigten grundsätzlich einen Zusammenhang mit der phylogenetischen Verwandtschaft. Es konnte so gezeigt werden, dass die bioinformatische Analyse zur Bestimmung von orthologen Enzymen eine sehr effiziente Methode ist, um biokatalytisch interessante KREDs zu finden.

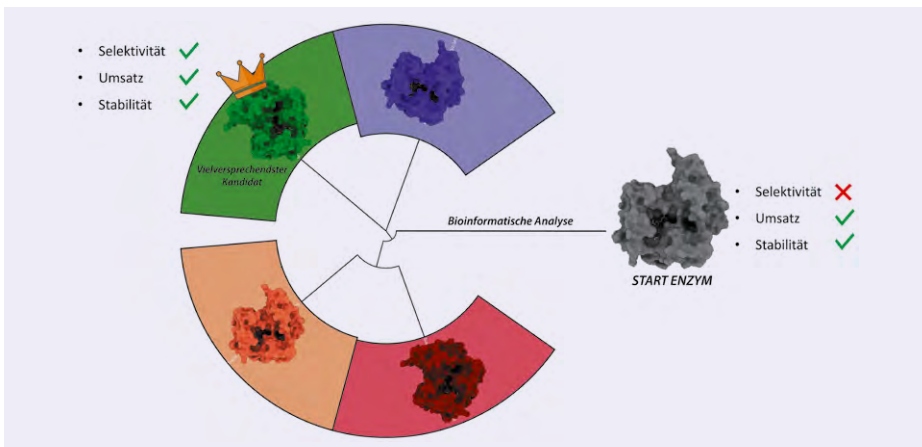


Abb. 1: Schema zur Vorgehensweise zum Aufbau einer Enzymbibliothek und der Analyse von orthologen Enzymen