

# Vergleich der enzymatischen Aktivitäten der Enoatreduktasen Old Yellow Enzyme 1 (OYE1) und Chromat Reduktase (CrS)



Diplomand	Sean Hüppi
Korrektorin ZHAW	Dr. Rebecca Buller
Korrektor extern	Dr. Andreas Taglieber, Firmenich SA

Enoatreduktasen gehören zu einer grossen Gruppe von Redox-Biokatalysatoren, welche Flavinmononukleotid (FMN) enthalten und von NAD(P)H abhängig sind. Die enzymatisch katalysierte Reaktion ist die Reduktion von aktivierten Alkenen, wodurch bis zu zwei neue Stereozentren ausgebildet werden. Dies bietet eine Alternative zur organisch-chemischen Reduktion via chiralen Rhodium- oder Ruthenium-Phosphinen (Knowles and Noyori, Chemie-Nobelpreis 2001). Der katalytische Kreislauf der Enoatreduktasen umfasst zwei Halbreaktionen: Die Reduktion des aktivierten Alkens mittels FMN, das durch die Oxidation eines NAD(P)H-Moleküls regeneriert werden muss. Diese Schritte werden im Rahmen eines bi-bi ping pong Mechanismus durchgeführt<sup>1</sup>.

Als Substrat können aktivierte  $\alpha$ ,  $\beta$ -ungesättigte Verbindungen verwendet werden. Zu den aktivierenden Gruppen zählen zum Beispiel Aldehyde, Ketone, Lactone oder Carbonsäuren. Eine der bekanntesten Anwendungen für Eno-

atreduktasen ist die Produktion von (R)-Levodione ausgehend von Ketoisophoron. Dabei können Ausbeuten von über 80% erreicht werden<sup>2</sup>. Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Enoatreduktase Chromat Reduktase (CrS) stammt aus *Thermus scotoductus* SA-01, der aus einer afrikanischen Goldmine in 3,2 km Tiefe isoliert wurde. Der Organismus ist in der Lage, eine Vielzahl von Schwermetallen zu reduzieren, darunter auch Cr(VI)<sup>3</sup>. Dieses Enzym wurde bereits detailliert charakterisiert und in die Gruppe der Thermophilen-ähnlichen Enoatreduktasen eingeordnet<sup>2</sup>. Durch ihre Hitzebeständigkeit und höchste Aktivität bei 65 °C ist die CrS eine interessante Alternative zu den klassischen Enoatreduktasen<sup>3</sup>. In dieser Arbeit wurde die Aktivität von CrS mit Old Yellow Enzyme 1, einer klassischen Enoatreduktase, verglichen. Dabei wurden spezifische Geschmacks- und Aromastoffe als Substrate verwendet.

1 Kohli, R. et al., J. Biol. Chem. 1998, 273, 32763-32770

2 Toogood, H. et al., ChemCatChem. 2010, 2, 892-914

3 Opperman, D. et al., J. Bacteriol. 2008, 190, 3076-3082

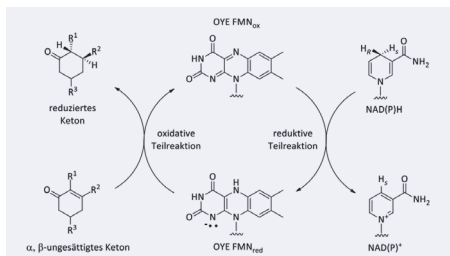


Abb. 1: Schematische Darstellung der Gesamtreaktion der Enoatreduktasen

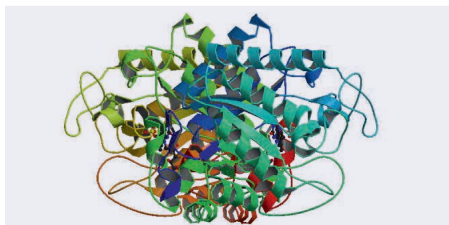


Abb.2: 3D-Struktur der CrS von *Thermus scotoductus* SA-01