

## Ressourcenschonende Herstellung von Feinchemikalien

Christoph Mähler,<sup>b</sup> Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz,<sup>b</sup> Prof. Dr. Kathrin Castiglione<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

<sup>b</sup> Technische Universität München, Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

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.

Das Hauptziel dieses Forschungsvorhabens war daher die Steigerung der Aktivität von ERs mit 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.

Im Rahmen der Forschungsarbeiten gelang die Identifikation eines wirkungsvollen Ansatzes zur Steigerung der NADH-Aktivität dieses Biokatalysators. Dabei wurden die flexiblen *Loop*-Regionen der NostocER1, welche an der Bindung des NADH beteiligt sind, durch entsprechende Bereiche ähnlicher ERs mit einer von Natur aus höheren Aktivität mit NADH ersetzt (Abbildung, links). Mit Hilfe dieser Methode konnte eine Vielzahl optimierter NostocER1-Hybride erzeugt werden. Sieben dieser optimierten Enzyme zeigten eine 4- bis 8-fach gesteigerte Aktivität mit NADH relativ zur unveränderten NostocER1 (Abbildung, rechts). Diese Enzyme wurden anschließend erfolgreich im Litermaßstab für die Synthese von (2R,5R)-Dihydrocarvon eingesetzt, einer chiralen Feinchemikalie die für die Produktion von wichtigen Naturstoffen, beispielsweise Anti-Malaria Wirkstoffen, verwendet wird.

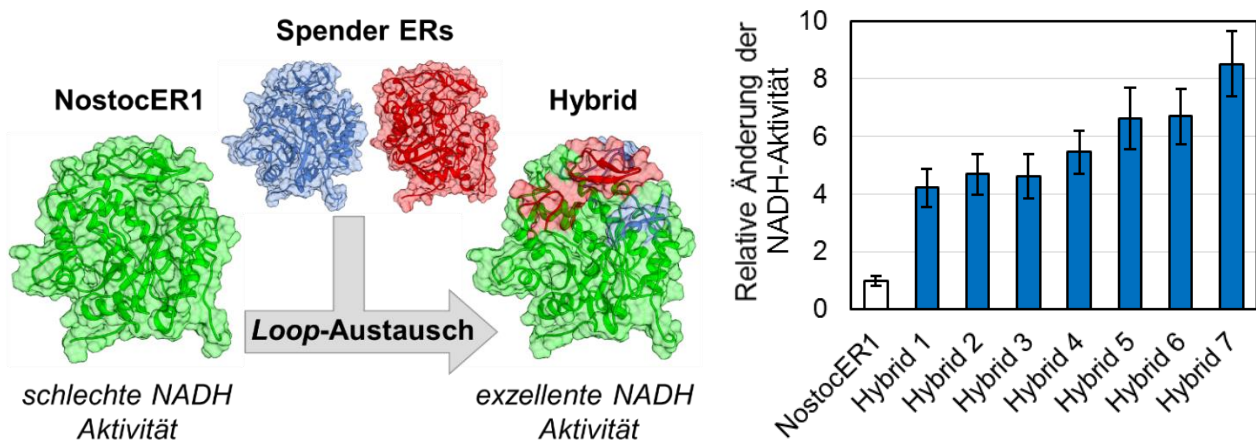


Abbildung: **(links)** Schematische Darstellung der verwendeten Protein Engineering Methode zur Herstellung verschiedener Hybridproteine aus NostocER1 und verschiedenen Spender-ERs. **(rechts)** Änderung der NADH-Aktivität der sieben aussichtsreichsten NostocER1-Hybride (blau) im Vergleich zum Ausgangsenzym NostocER1 (weiß).