

# Nutzung neuartiger, regioselektiver Halogenasen für Biotransformationen

14262 BG/1+2

Halogenierte Verbindungen spielen sowohl als Zwischen- als auch als Endprodukte eine bedeutende Rolle in chemischen Prozessen. Bei der Synthese dieser Verbindungen werden zunehmend halogenierende Enzyme eingesetzt. Die Halogenasen spielen dafür besondere Rolle, da sie in Biotransformationen eine selektive und spezifische Halogenierung eines Substrats ermöglichen und somit eine günstige Perspektive für Prozesse der industriellen Biotechnologie bieten. Sie könnten beispielsweise die klassischen aber sehr toxischen Halogenierungsagentien Thionylhalogenid oder Sulfurylhalogenid ersetzen.

Diese Prozesse sind nicht nur für die pharmazeutischen Industrie interessant, da halogenierte Naturstoffe oftmals eine höhere Aktivität als die nicht halogenierten besitzen, sondern auch für die Synthesechemie, da auf diesem Wege reaktive Zwischenprodukte hergestellt werden können.

In dem Forschungsprojekt wurde als "proof of concept" die enzymatische Synthese des in Position 5 und 6 halogenierten Tryptophans untersucht. Die rekombinant exprimierten Tryptophan-5- und Tryptophan-6-Halogenasen wurden zunächst in hoher Reinheit durch Metallionen-Affinitätschromatographie gewonnen. Aufgrund der FADH<sub>2</sub>- Abhängigkeit der Halogenasen musste zusätzlich für die Durchführung der Halogenierungsreaktion eine Flavinreduktase (FLR) bereitgestellt werden, welche unter NADH-Verbrauch FAD zum FADH<sub>2</sub> reduzierte. Die FLR konnte erfolgreich aus einem rekombinanten E. coli-Organismus isoliert und in einer für die Halogenierungsreaktion ausreichenden Qualität zur Verfügung gestellt werden.

Für eine wirtschaftliche Gestaltung des halogenierenden Schritts ist es unerlässlich die notwendigen Enzyme in immobilisierter Form im Prozess einzusetzen, damit sie recycelt werden können und die Standzeit erhöht werden kann. Dazu wurden zunächst die Standzeiten sowie die Kinetik der nativen Enzyme untersucht bzw. optimiert und auf immobilisierte Systeme (Trp-5-Halogenase) übertragen. Daraus resultierte eine deutliche Verbesserung der Standzeit. Des Weiteren konnte erfolgreich ein Co-Substrat-Recycling etabliert werden, welches die Voraussetzung für eine nachhaltige Gestaltung des Halogenierungsprozesses ist. Im Rahmen des Projektes wurden auch erste Voruntersuchungen zum Aufbau eines kontinuierlichen Halogenierungsprozesses durchgeführt, um eine höhere Raum- Zeit-Ausbeute als im Batch-Prozess zu erreichen.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema von 7/2005 bis 6/2008 an der **Technischen Universität Dresden, Fachrichtung Chemie und Lebensmittelchemie, Professur für Allgemeine Biochemie** (01062 Dresden, Tel. 0351/46334494) unter der Leitung von Prof. Dr. K.-H. van Pée (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. K.-H. van Pée) und an der Technischen **Universität Kaiserslautern, Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik, Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik** (Gottlieb-Daimler-Straße, 67663 Kaiserslautern, Tel.: 0631/2054043) unter Leitung von Prof. Dr. R. Ulber (Leiter der Forschungsstelle Prof. Dr. R. Ulber).

[--> TIB](#)

Gefördert durch:



Das IGF-Vorhaben Nr. 14262 BG/1+2 der Forschungsvereinigung DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages