

# Az *Ureibacillus thermosphaericus*-ból származó d-aminosav dehidrogenáz (Utd-AADH) enzim immobilizálásának optimalizálása

## Optimizing the immobilization of d-amino acid dehydrogenase enzyme derived from *Ureibacillus thermosphaericus* (Utd-AADH)

ISZLAI András-Ernő\*,  
Drd. BOROS Krisztina, Dr. BENCZE László-Csaba

Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Kémia és Vegyészmérnöki Kar, Enzimológia és Alkalmazott  
Biokatalízis Kutató-Központ, Arany János utca 11. szám, Kolozsvár, 400028, Románia

\*andras.iszlai@stud.ubbcluj.ro  
+40774628784

### ABSTRACT

Aromatic D-amino acids (D-AAs) have gained increasing attention in both industrial and pharmaceutical fields. However, their industrial production is currently limited due to high manufacturing costs. Utilizing engineered D-amino acid dehydrogenase derived from *Ureibacillus thermosphaericus* (Utd-AADH) as catalyst could offer a cost-effective solution to this problem. D-AADH enzymes catalyze the reductive amination of  $\alpha$ -keto acids to D-amino acids, however their functioning requires the presence of the reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH<sup>+</sup>) cofactor, which needs to be regenerated using another enzyme.

Enzyme immobilization enables the recovery of the biocatalyst after the completion of the reaction and its recycling in a new catalytic cycle. The aim of the present study is to develop an optimal immobilization methodology for D-AADH enzyme by screening several support and linker materials and testing different types of immobilizations, such as ionic interaction-based fixation, covalent non-specific and site-specific linkage.

**Keywords:** D-amino acid, site-specific immobilization, D-amino acid dehydrogenase, reductive amination, site-specific mutagenesis.

### ÖSSZEFOGLALÓ

A D-aminosavak növekvő fontosságú szerepet töltenek be napjaink vegyipari gyártási folyamataiban, emellett több különböző gyógyszerkészítmény prekursorai is, viszont magas előállítási költségeik miatt ipari gyártásuk egyelőre korlátozott. Az irányított evolúcióval kifejlesztett, *Ureibacillus thermosphaericus*-ból származó D-aminosav dehidrogenáz (Utd-AADH) katalizátorként való felhasználása egy költséghatékony módszer keretein belül megoldást jelenthet az említett problémára. A D-AADH enzimek az  $\alpha$ -ketosavak D-aminosavakká történő redukzív aminálását katalizálják, működésükhöz azonban elengedhetetlen a redukált nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát (NADPH<sup>+</sup>) kofaktor, melynek regenerálása megoldható egy másik enzim segítségével.

Ahhoz, hogy a biokatalizátor a reakció befejezése után könnyen visszanyerhető és újra felhasználható legyen, érdemes az enzimet szilárd hordozóra rögzíteni. A jelen kutatás célja egy optimális immobilizálási folyamat kidolgozása a Utd-AADH enzim esetében, tesztelve különböző hordozókat és távtartókat, illetve több immobilizálási módszert is, mint az ionos kölcsönhatáson alapuló rögzítést, a nem-specifikus és hely-specifikus kovalens immobilizálást.

**Kulcsszavak:** D-aminosav, hely-specifikus immobilizálás, D-aminosav dehidrogenáz, redukzív aminálás, hely-specifikus mutagenézis.