



# Különböző társoldószerek és felületaktív anyagok hatásának vizsgálata az (S)-szelektív *Pseudomonas psychrotolerans* (PpS-TA) transzamináz termostabilitása és aktivitása esetén

VÉGH Márk

Dr. Habil. Prof. PAIZS Csaba, Drd. BARABÁS Laura-Edit

Enzimológia és Alkalmazott Biokatalízis Kutatóközpont, Kémia és Vegyészmérnöki Kar, Babeş-Bolyai Tudományegyetem, Arany János utca 11, Kolozsvár  
E-mail: mark.vegh@stud.ubbcluj.ro

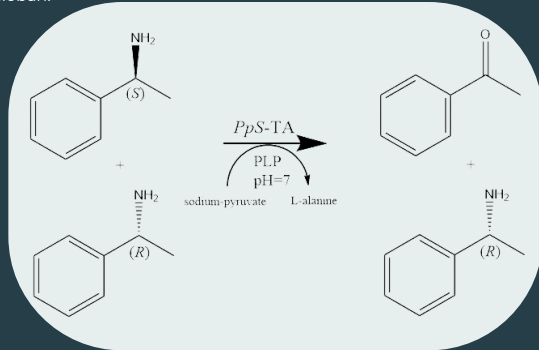
## Bevezető

A biokatalízisnek számos előnye van a kémiai katalízissel szemben. Az egyik legfontosabb jellemző a magas szelektivitás, az enyhébb körülmények (pH, nyomás, hőmérséklet) és sok esetben a katalizátor újrahasznosítása egyszerűbb folyamatot jelent.

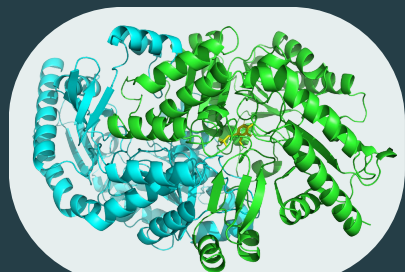
A legtöbb enzimátikus reakcióban vizet használnak oldószerként, de a legtöbb esetben kis mennyiségű szerves társoldószerre is szükség

van a szubsztrátok megfelelő szolubilizációjának biztosításához. Problémát jelent azonban, hogy ezek a szerves társoldószerek befolyásolhatják az enzim aktivitását és termostabilitását. Tanulmányunkban egy újonnan felfedezett (S)-szelektív ω-transzamináz enzim aktivitását és stabilitását vizsgáltuk különböző társoldószerek jelenlétében. [1] A transzaminázok fontos szerepet játszanak a gyógyszerhatóanyagok előállításában, mivel a jelenleg forgalomban lévő gyógyszerek 40%-a tartalmaz legalább egy aminocsoportot. [2] Hasznosságukat azonban negatívan befolyásolja, hogy a PpS-TA enzim aktivitása jelentősen csökken, ha az egyik leggyakrabban használt szerves társoldószer, a DMSO nagy koncentrációban kerül alkalmazásra.

Ezért kutatásunk célja többféle társoldószer tesztelése és az enzimaktivásra gyakorolt hatásuknak a vizsgálata volt. A különböző társoldószerek hatását a (±)-1-feniletilamin kinetikus rezolválási reakciójában vizsgáltuk, piruvátot használva szubsztrátként, amely aminoaceptorként vett részt a reakcióban.

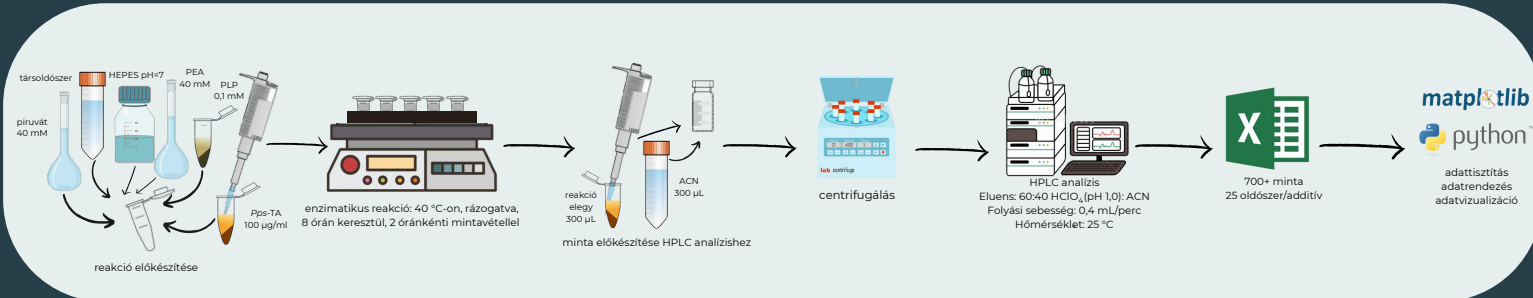


(±)-1-feniletilamin kinetikus rezolválása



Homológia modellje a PpS-TA enzimnek

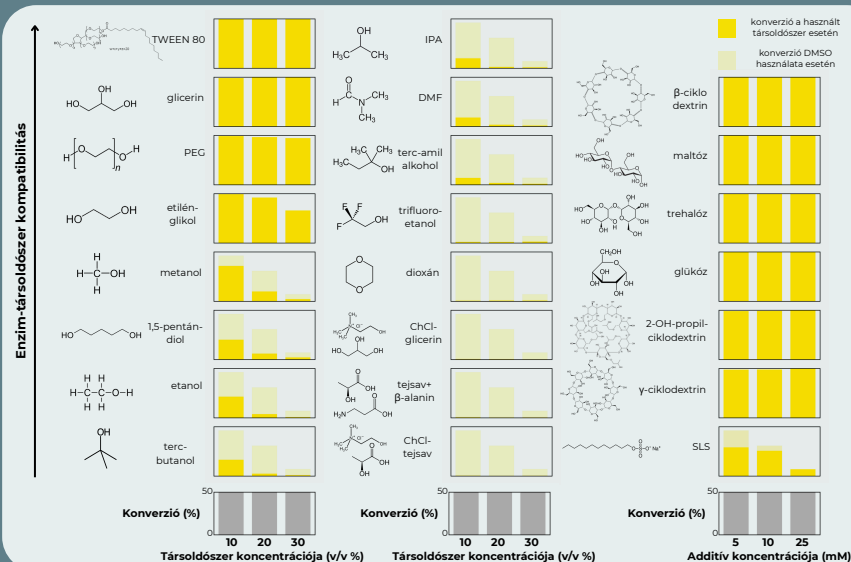
## Kísérleti rész



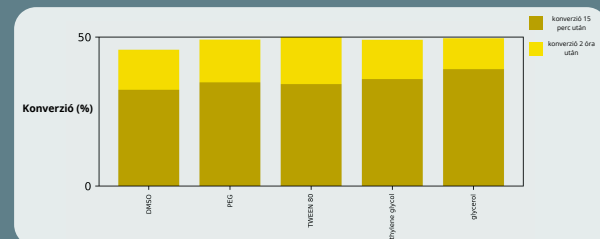
## Eredmények

### A katalitikus kísérletek menete - Katalízis tisztított PpS-TA-val:

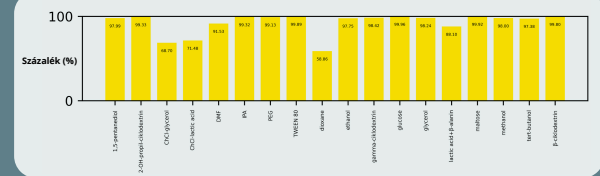
Társoldószerek (0-30 %) - HEPES (50 mM, pH 7,0) keverékében oldottuk a reakciókomponenseket, a szubsztrátot (40 mM (±)-1-feniletilamin), a szubsztrátot (40 mM piruvát) és a biokatalizátor kofaktorát (0,1 mM PLP). Az enzimátikus reakciókat a tisztított és oldható PpS-TA (100 µg mL<sup>-1</sup>) hozzáadásával indítottuk el. A reakciók 1,5 ml-es Eppendorf csövekben mentek végbe, amelyeket az enzim optimális hőmérsékletén (40 °C) és 600 rpm fordulatszámon orbitális rázógépre helyeztünk.



Kinetikus rezolválás konverziója 2 óra után a használt társoldószer és a DMSO esetén 2 óra reakcióidő után



15 perces és 2 óras konverzió értékek a legjobb társoldószerek és DMSO használata esetén



2 óra reakcióidő után elért hányada a végső konverzióknak

### Következtetések

- A kísérlet során találtunk a DMSO-nál jobb hatású társoldószereket, például: TWEEN 80, glicerín, PEG és etilén-glikol.
- A tanulmány sikeresen talált kiváló adalékanyagokat, különösen cukrokat, amelyek felülmúlják a DMSO-t, és közel 50%-os konverziót eredményeznek.
- A vizsgált eutektikus oldószerek az enzim teljes inaktíválását okozták.
- A többszörös hidroxi-csoportot tartalmazó társoldószerek bizonyultak a leghatékonyabb társoldószereknek.

### Jövőbeli tervek

- Kétfázisú oldószer-rendszerek tanulmányozása
- Jó hatású társoldószerek más enzimek esetén való kipróbálása

[1] Gal C., Barabás L., Varga A., Csuka P., Bencze L., Toşa M., Poppe L., Paizs C., Mol. Catal., 2022, 531, 112660

[2] Kelly S., Pohle S., Wharry S., Mix S., Allen C., Moody T., Gilmore B., Chem. Rev. 2018, 118, 1, 349-367