

Enzymologie

Nichtribosomale Peptidsynthetasen (NRPS) sind Ketten von enzymatischen Domänen, die im organisierten Zusammenspiel Peptide aus Aminosäurebausteinen zusammensetzen. Wenn Enzym-Designer Domänen austauschen oder die Bevorzugung bestimmter Aminosäurebausteine modifizieren, können Proteinstrukturen Schaden nehmen oder einzelne Syntheseschritte verlangsamen sich, so dass die Peptidsynthese zum Erliegen kommt. Wir analysieren modifizierte NRPS, um kinetische Engpässe aufzuspüren und um aus Fehlern zu lernen. Zu diesem Zweck setzen wir spektrophotometrische Untersuchungen und UPLC-MS ein, mit denen wir Reaktionsprodukte, Nebenprodukte und am Enzym-gebundene Intermediate detektieren können. Zur Aufnahme von Substratprofilen haben wir den HAMA Assay entwickelt (Abbildung), der parallel für dutzende Substrate die Präferenz bestimmen kann. Kinetische Profile werden vor dem Hintergrund von strukturellen Modellen analysiert. Im nächsten Schritt wird es vielleicht möglich sein, kinetische Engpässe durch das Einführen von zielgerichteten Mutationen zu entfernen um effizientere Designer-NRPS zu erschaffen.

