

BIOSYNTHESE

Erster Syntheseschritt zur 22. Aminosäure

Die Aminosäure Pyrrolysin wurde vor zehn Jahren erstmals beschrieben. Sie ist die 22. natürliche Aminosäure, wird allerdings nur von Archaeobakterien und Bakterien synthetisiert. Den ersten Schritt ihrer Biosynthese entschlüsselte nun ein Team von Wissenschaftlern um Michael Groll an der TU München [1].

Als Produzent wählte das Forscherteam Archaeobakterien der Familie Methanossarcinaceae. Pyrrolysin wird in drei Proteine eingebaut, die im katabolen Methylaminstoffwechsel aktiv sind. Das sogenannte Amber-Codon (UAG) der mRNA codiert für Pyrrolysin. Gilt es bei Eukaryoten als Stopp-Signal, ist es in einigen Bakterien der Code für Pyrrolysin. Einige Vertebraten bauen auf dieses Signal hin die 21. Aminosäure Selenocystein in Peptide ein.

Beim Ablesen der DNA werden die Triplets in Codons auf der mRNA übersetzt. Ein Codon induziert bei der Translation am Ribosom den Einbau einer Aminosäure. Diese wird durch tRNA aus dem Cytosol herangebracht und in das entstehende Peptid eingebaut [2].

Für die Biosynthese von Pyrrolysin und ihrer tRNA wird ein Operon aktiviert. Dabei bilden fünf Gene auf der mRNA eine Funktionseinheit. Benannt nach ihrem Produkt, abgekürzt zu Pyl, werden die Gene „durchnummeriert“: pylBCDST. Die Enzyme der Biosynthese codieren pylB, pylC und pylD. Die tRNA steuert pylT bei und

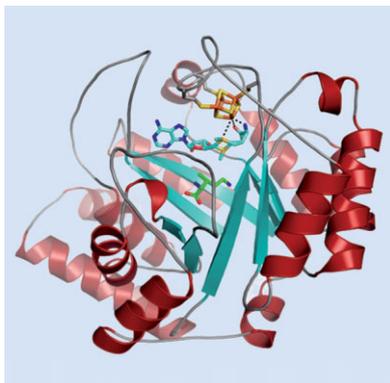


Abb. 2 Bändermodell von PylB mit Zwischenprodukt und Cofaktor im aktiven Zentrum

pylS die nötige Aminoacyl-tRNA-Synthase.

Ziel der Untersuchung war das Enzym PylB. Um genug Material für eine Kristallstrukturanalyse von PylB zu erhalten, wurde das Operon aus *Methanosarcina barkeri* rekombinant in *E. coli* eingebaut. Die Röntgenstruktur zeigte ein monomeres Protein. PylB bildet ein einziges strukturelles Motiv, eine modifizierte TIM-Barrel-Faltung. Sie entspricht einem Donut, dessen Innenseite acht parallele β -Stränge bilden und die Außenseite acht α -Helices. Die Enden werden durch weitere Helices geschlossen. Funktionelle Gruppen ragen in das Innere hinein und bilden so das aktive Zentrum des PylB-Proteins. Hier befindet sich der [4Fe-4S]-Schwefel-Cluster. Während der Aufnahme der Röntgenstruktur befand sich sogar Produkt im aktiven Zentrum. Es war koordiniert mit Wassermolekülen und dem Cofaktor des Eisen-Schwefel-Enzyms. Bei letzterem handelt es sich um S-Adenosylmethionin, welches das Substrat methyliert und selbst zu Adenosin hydrolysiert.

In der Biosynthese kondensiert Lysin im zweiten Schritt mit dem ersten Zwischenprodukt unter Einwirkung von PylC. Ein Amid entsteht und wird, katalysiert durch PylD, oxidiert und cyclisiert.

In vitro blieben die weiteren Prozessschritte bei *E. coli* jedoch aus. Zudem ist noch unklar, wie das Zwischenprodukt freigesetzt wird. PylB katalysiert nur eine Umsetzung und muss eventuell abgebaut werden, damit PylC und PylD aktiv werden können.

Um einen Mechanismus für die Methylierung vorschlagen zu kön-

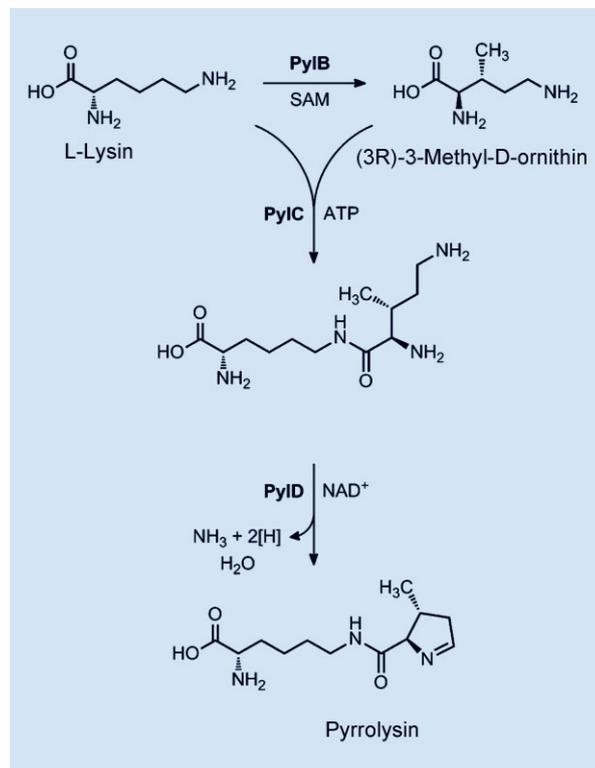


Abb. 1 Die Biosynthese der 22. Aminosäure Pyrrolysin beginnt mit einer durch PylB katalysierten Isomersetzung von Lysin zu Methylornithin.

nen, gingen die Wissenschaftler retrosynthetisch vor. Das Produkt in der Reaktionskammer war durch die Elektronendichte identifiziert und das Ausgangssubstrat Lysin bekannt. Rechnerisch wurden Lysine in die Struktur der Reaktionskammer modelliert und daraus ein Mechanismus entwickelt.

Die Reaktion zeigt eine elegante Methylierung einer natürlichen Aminosäure. Archaeobakterien nutzen zusätzliche Aminosäuren im Aufbau der Proteine, um die chemische Steuerung von Prozessen zu beeinflussen. Im Gegensatz zur synthetischen Biologie benötigen sie dazu jedoch keine Gentechnik. Biotechnologisch interessant ist der Zugang zu unnatürlichen Aminosäuren über die Einbau entsprechend zugeführter Vorstufen.

[1] F. Quitterer, A. List, W. Eisenreich, A. Bacher, M. Groll *Angewandte* 2011, DOI 10.1002/ange.201106765, 1–5

[2] M.-D. Weitze *ChiuZ* 2011, 45, 316–323.

Sylvia Feil, Burgdorf

