

Der Einfluss von Proteindynamik auf die Vorhersage von Enzymstabilität



Diplomand Cornel Niederhauser

Korrektor/-in ZHAW Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Peter Stockinger

Der Kunststoff Polyethylenterephthalat (PET) macht ca. 12 % des weltweiten jährlichen Aufkommens an festen Abfällen aus. Da PET nicht biologisch abbaubar ist, kann seine Verwendung mit erheblichen Umweltproblemen verbunden sein. Ein effizientes PET-Recycling ist daher unverzichtbar für eine Kreislaufwirtschaft, die Abfall vermeidet und Ressourcen schont. Das 2016 entdeckte Enzym PETase aus dem Organismus *Ideonella sakaiensis* (IsPETase) zeigt Potenzial für das enzymatische Recycling von PET. Eine Erhöhung der Thermostabilität des Enzyms ist jedoch wichtig, um den wirtschaftlichen Einsatz interessant zu machen. Höhere Temperaturen reduzieren die Kristallinität von PET und verbessern den enzymatischen Abbau.

In dieser Arbeit wurde eine bioinformatische Methode zur Vorhersage von Proteinthermostabilität auf Basis publizierter und interner Daten von IsPETase-Varianten entwickelt und validiert. Die Methode basiert auf molekulardynamischen Simulationen und Stabilitätsprädiktoren, die zusammen eine verbesserte Analyse der Faktoren ermöglichen, die für die Vorhersage von Proteinthermostabilität wichtig sind. Um die entwickelte Methode an einem externen Datensatz überprüfen zu können, wurden des Weiteren IsPETase-Varianten mithilfe einer Konservierungsanalyse entworfen und anhand der vorhergesagten Schmelztemperaturen bewertet.

Ausgewählte IsPETase-Varianten wurden anschliessend im Labor kloniert, exprimiert und auf ihre Schmelztemperatur und Aktivität untersucht. Das Ergebnis der Arbeit war die Identifizierung einer IsPETase-Variante mit einer um 4,5 °C erhöhten Schmelztemperatur und einer gesteigerten Substratumsetzung bei 60 °C im Vergleich zur ursprünglichen Variante. Die Validierung der Methode mit dem neuen, externen Datensatz ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,92 ($R^2 = 0,84$) und einen p-Wert von $8,4 \cdot 10^{-6}$. Die hier entwickelte Methode stellt somit einen aussichtsreichen Ansatz dar, um die Schmelztemperatur von Proteinen *in silico* bestimmen zu können.

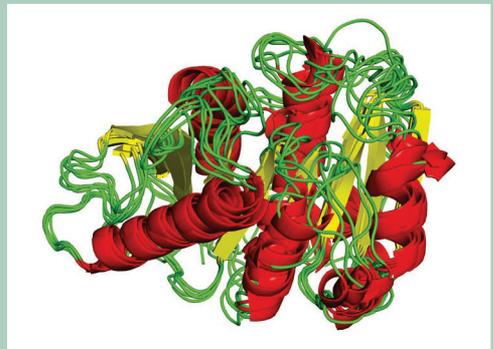


Abb. 1: Struktur der IsPETase, dargestellt in verschiedenen Konformationen