



### Raoul G. Rosenthal

Jahrgang 1988. 2007–2010 Bachelor Life Science and Technology, Universität Leiden und TU Delft, Niederlande. 2010–2012 Master Chemical Biology, ETH Zürich, Schweiz. 2012 Forschungsaufenthalt am Weizmann-Institut für Wissenschaften, Israel. 2012–2015 Promotion bei Dr. T. Erb und Prof. Dr. J. Vorholt an der ETH Zürich und am Max-Planck-Institut für Terrestrische Mikrobiologie in Marburg.

DOI: 10.1007/s12268-016-0688-x  
© Springer-Verlag 2016

Redoxreaktionen bilden die Grundlage des Energie- und Biosynthese-Stoffwechsels in Bakterien, Archaeen und Eukaryoten. Die wichtigsten Redoxkofaktoren dabei sind die Nikotinamide NADH und NADPH, die zusammen in fast 20 Prozent aller Enzyme als Elektronenüberträger oder -empfänger dienen. Auch das kürzlich entdeckte Enzym Crotonyl-CoA-Carboxylase/Reduktase (Ccr), das in ca. acht Prozent aller sequenzierten Bakterien vorkommt verwendet NADPH, um Enoyl-Coenzym A (CoA) Ester zu carboxylieren. Ccr ist etwa 50-mal schneller als die Ribulosebisphosphat-Carboxylase und damit das effizienteste CO<sub>2</sub>-fixierende Enzym, das bisher entdeckt wurde.

Da Enzyme sehr effizient darin sind, chemische Reaktionen zu beschleunigen, ist es oft schwierig, ihre Katalyse im Detail zu untersuchen. In unseren Studien an der Ccr kon-

## VAAM-Promotionspreis 2016

# Kovalente Zwischenprodukte in NAD(P)H-abhängigen Oxidoreduktasen

RAOUL G. ROSENTHAL

MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR TERRESTRISCHE MIKROBIOLOGIE, MARBURG

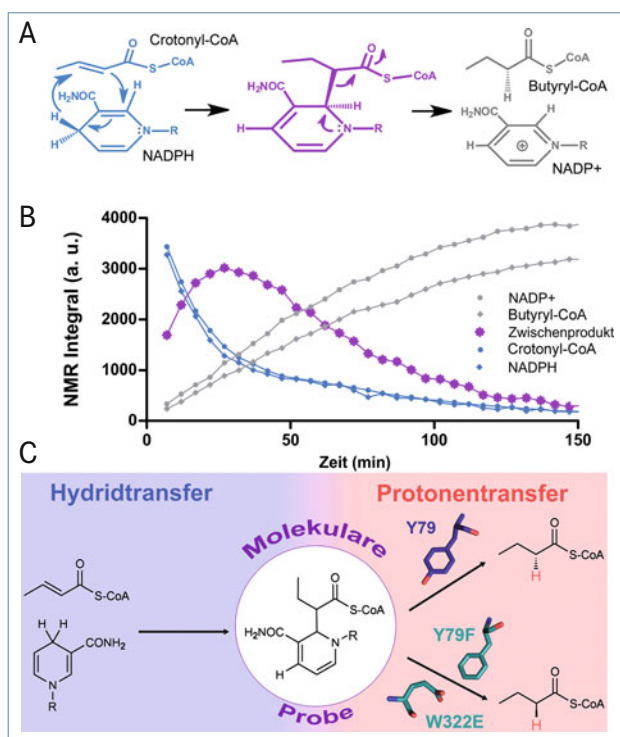
ten wir durch niedrige Temperaturen und unter Ausschluss von CO<sub>2</sub> die Enzymreaktion stark verlangsamen. Dies ermöglichte es uns, die Bildung eines kovalenten Zwischenprodukts zwischen NADPH und Crotonyl-CoA im Verlauf der Katalyse zu beobachten (Abb. 1A, B, [1]). Wir schlussfolgerten, dass die reduktive CO<sub>2</sub>-Fixierungsreaktion schrittweise verläuft: In einem ersten Schritt erfolgt die Reduktionsreaktion, dann die Inkorporation des CO<sub>2</sub>-Moleküls.

In dieser Studie konnten wir einen neuen Mechanismus für NAD(P)H-abhängige Reduktionsreaktionen postulieren, der auf einer über 50 Jahre alten Idee aufbaut. In der von uns vorgeschlagenen En-Reaktion migriert das Hydrid (ein Wasserstoffatom mit zwei Elektronen), ähnlich dem Mechanismus einer Diels-Alder-Reaktion, (teil-)synchron mit sechs Elektronen und nicht als einzelne hochenergetische Hydridspezies, wie bisher angenommen.

Das von uns entdeckte Zwischenprodukt kann als „eingefrorene Enzymreaktion“ ver-

synthese aus Hefe zu studieren. Dabei gelang es uns, den lange gesuchten Protonendonator im aktiven Zentrum von Etr1p zu identifizieren. Durch rationales Design konnten wir anschließend die Stereochemie des Enzyms komplett invertieren (Abb. 1C, [2]). Enoyl-Reduktasen spielen nicht nur in der Fettsäure-, sondern auch in der Polyketidbiosynthese eine wichtige Rolle. Die Stereochemie dieser Enzyme rational dirigieren zu können, bringt uns einen wichtigen Schritt näher, die Kontrolle über die chemische Struktur von Naturstoffen und damit ihre biologischen und pharmakologischen Eigenschaften zu erlangen.

Schließlich konnten wir durch molekulare Proben zeigen, dass gewisse kovalente Zwischenprodukte NAD(P)H-abhängiger Enzyme nicht von diesen verwendet werden können und somit als Hemmstoffe agieren. Auf diese Weise könnten in Zukunft neue Medikamente entstehen, wie beispielsweise zur Bekämpfung von Fettleibigkeit oder Antibiotika gegen multiresistente Bakterien. ■



standen werden, die auf halbem Weg zwischen Substrat und Produkt liegt. Es kann deswegen als „molekulare Probe“ verwendet werden, um Teilschritte des katalytischen Zyklus von NAD(P)H-abhängigen Enzymen zu analysieren. Wir nutzten diese Möglichkeit im Folgenden, um einzelne katalytische Vorgänge in der Enoyl-Reduktase Etr1p der Fettsäure-

## Literatur

- [1] Rosenthal RG, Ebert MO, Kiefer P et al. (2014) Direct evidence for a covalent ene adduct intermediate in NAD(P)H-dependent enzymes. *Nat Chem Biol* 10:50–55  
[2] Rosenthal RG, Vogeli B, Quade N et al. (2015) The use of ene adducts to study and engineer enoyl-thioester reductases. *Nat Chem Biol* 11:398–400

## Korrespondenzadresse:

Dr. Raoul G. Rosenthal  
Max-Planck-Institut für terrestrische Mikrobiologie  
Arbeitsgruppe Tobias Erb  
Karl-von-Frisch-Straße 10  
D-35043 Marburg  
Tel.: 06421-178-448  
raoulrosenthal@gmail.com

Abb. 1: Entdeckung des kovalenten Zwischenprodukts in der durch Crotonyl-CoA Carboxylase/Reduktase (Ccr) katalysierten Reaktion und seine Anwendung. **A**, postulierter En-Mechanismus der Ccr während der Reduktionsreaktion, der über das Zwischenprodukt (violett) verläuft. **B**, zeitaufgelöstes NMR-Spektrum der Ccr-Reaktion in Abwesenheit von CO<sub>2</sub>. Das Spektrum zeigt die Anhäufung eines Zwischenprodukts (violette Kurve). **C**, Das kovalente Zwischenprodukt kann als molekulare Probe eingesetzt werden, um selektiv Protonentransferreaktionen in Enoyl-Reduktasen zu studieren. Wir setzten die Methode ein, um die Stereochemie der Enoyl-Reduktase Etr1p zu ändern.