



Universidad
Nacional
de Rosario



Introducción a la Biocatálisis Aplicada

Dra. Daniela V. Rial

Área Biología Molecular, Departamento de Ciencias Biológicas
Grupo de investigación: Ingeniería de Enzimas, Biocatálisis y Biotransformaciones
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
Universidad Nacional de Rosario

2023

ENZIMAS

Biocatálisis aplicada

Síntesis de
compuestos de
química fina

Materiales
Polímeros

Diagnóstico

Fabricación de
quesos

Detergentes

Aromas

Biosensores

Principios activos
de medicamentos

Elaboración de
productos lácteos

Industria papelera

Biorremediación

Biocombustibles

Uso terapéutico

Industria de la
carne Panificación

Industria textil

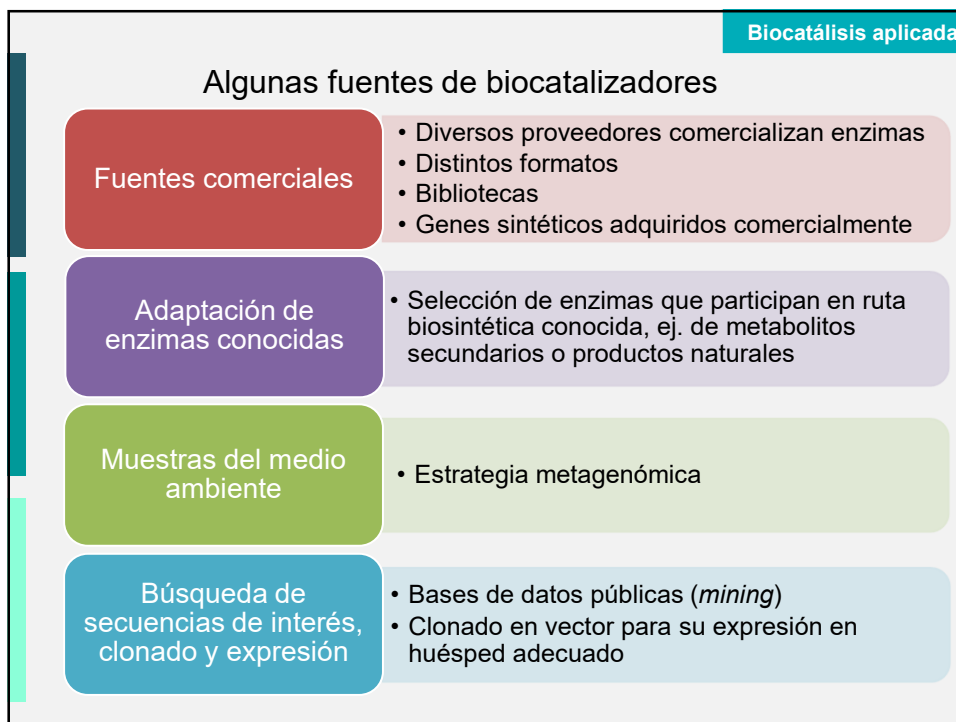
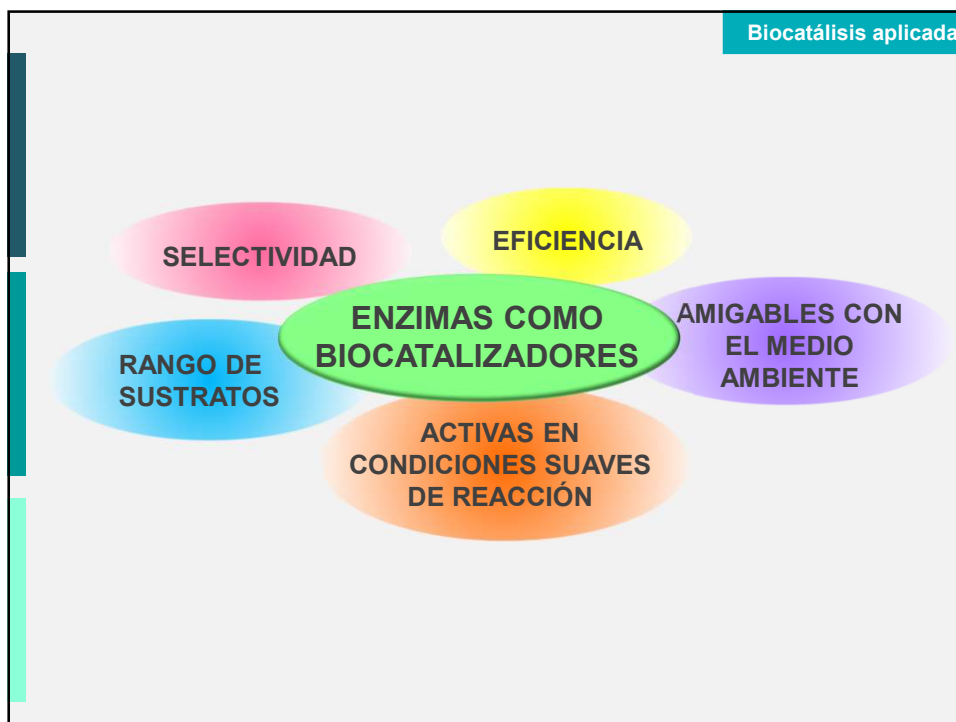
Síntesis de
moléculas
quirales

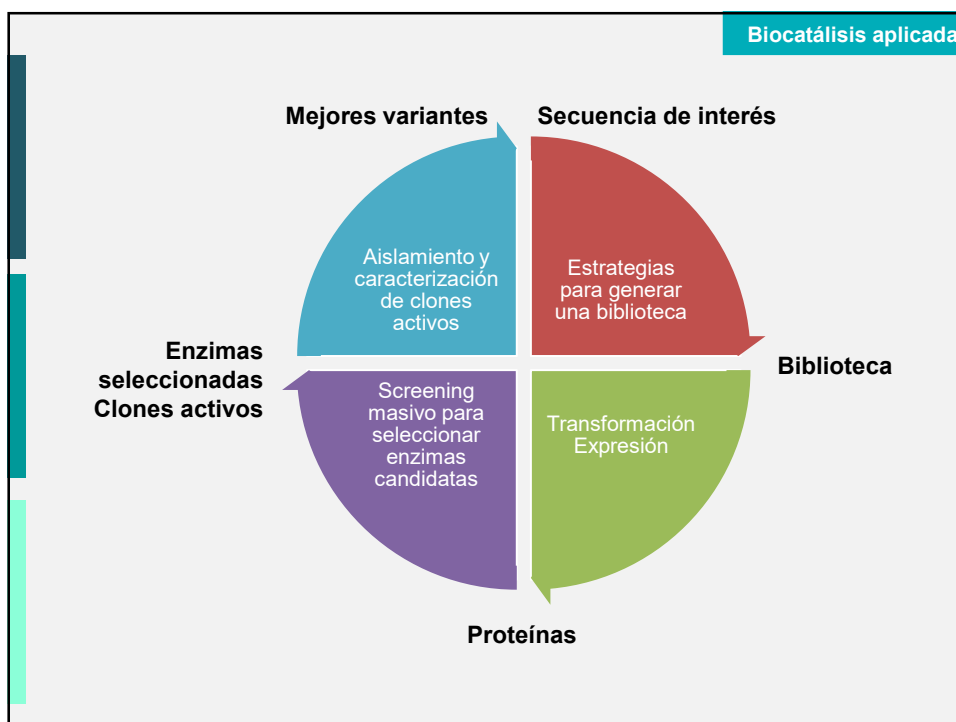
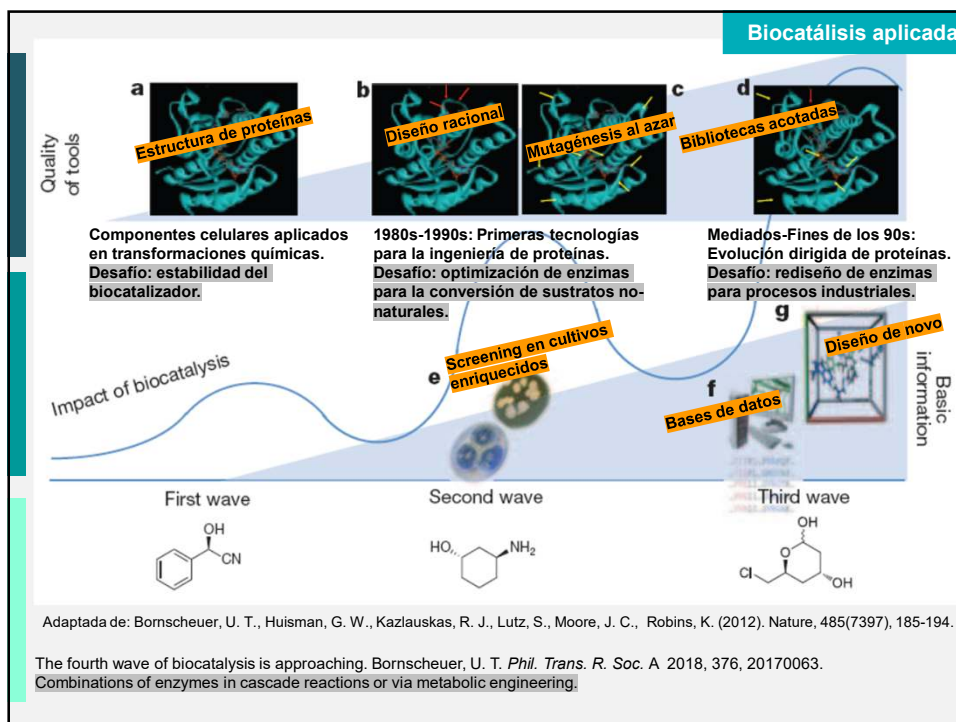
Herbicidas
Insecticidas

Investigación

Aditivos para
alimentos
Suplementos

Productos de
limpieza



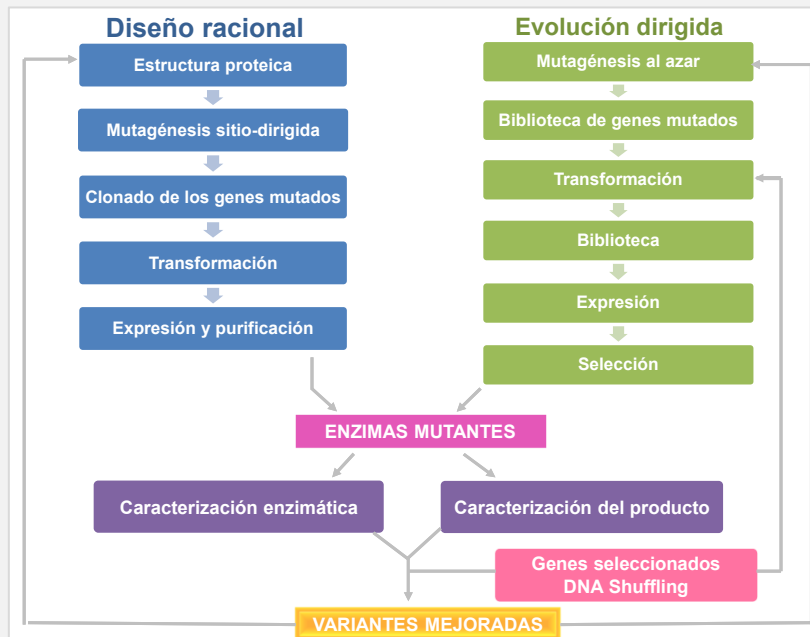


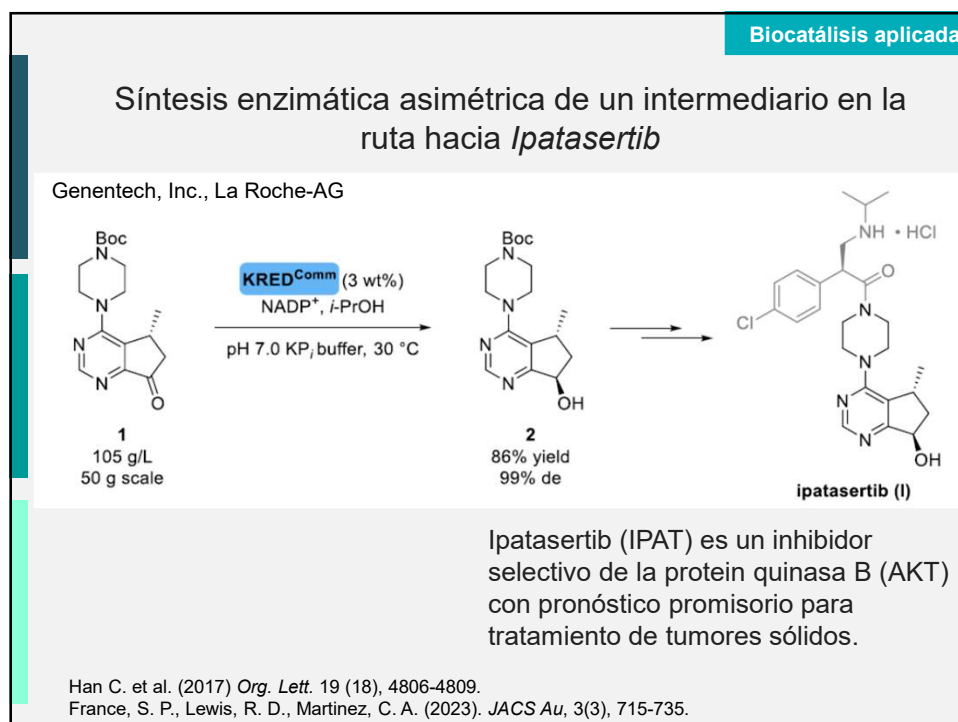
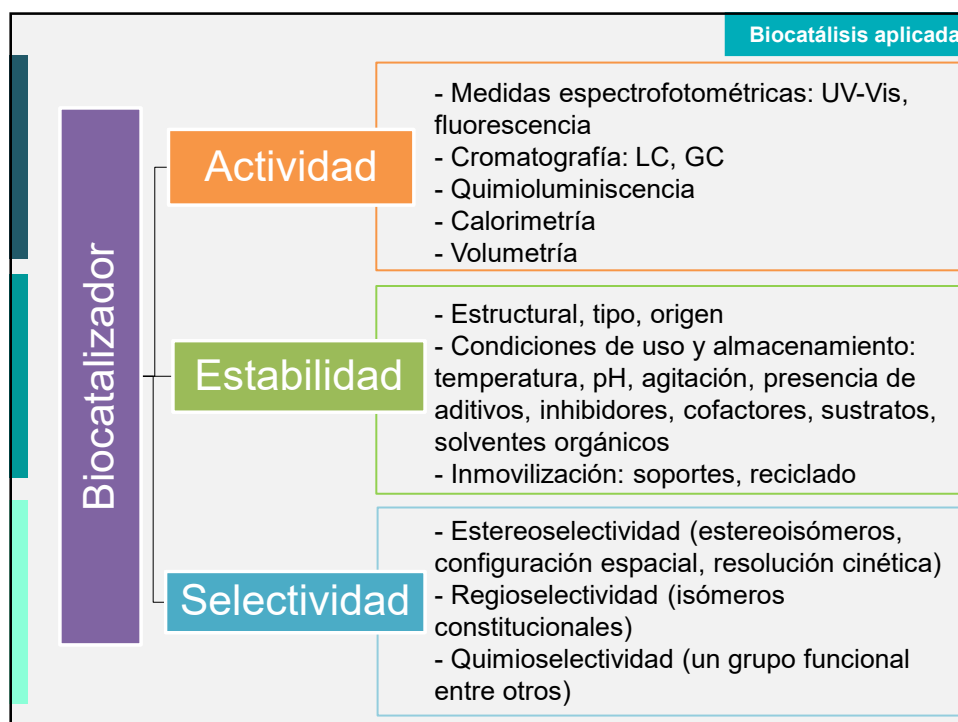
Una limitación para poder aplicar una estrategia de evolución dirigida es disponer de un ensayo *high-throughput* para llevar a cabo el *screening*.

Herramientas bioinformáticas nos permiten descubrir qué modificaciones introducir y así guiar o facilitar el desarrollo experimental.

Remodelar el sitio activo de la enzima, optimizar el ensamblado de la enzima, estabilidad, velocidad de reacción, modificar la especificidad de sustrato, selectividad.

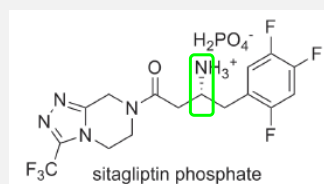
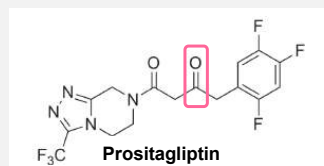
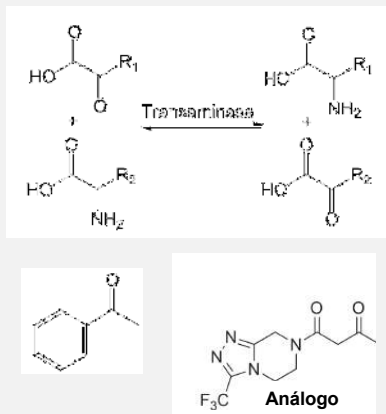
Bell, E. L. et al. *Nature Reviews Methods Primers* 2021, 1(1), 1-21.





Elaboración biocatalítica de *Sitagliptin*

Transaminasa (*R*)-selectiva ATA-117



Savile, C. K. *et al. Science* 2010, 329(5989), 305-309.

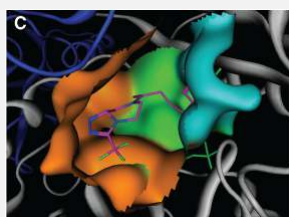
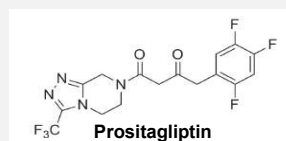
SSM de bolsillo grande del SA de ATA-117



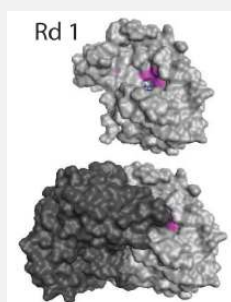
S223 → P223: Actividad: 11x

SSM y CL, bibliotecas enfocadas

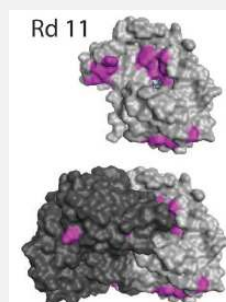
Mutante con 4 mutaciones que presentaba actividad sobre el sustrato de interés.



Savile, C. K. *et al. Science* 2010, 329(5989), 305-309.



27 mutaciones acumuladas.
Actividad incrementada 4
órdenes de magnitud.



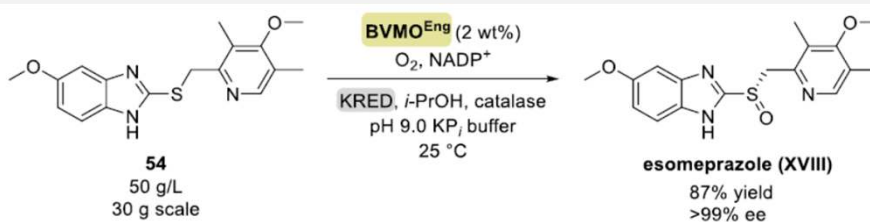
La mejor variante convirtió
200 g/l prositagliptin a
sitagliptin con >99.95 %
e.e. en favor del
enantiómero deseado.

Proceso biocatalítico
10-13 % > rendimiento,
53 % > productividad,
19 % > reducción de desechos
que el proceso químico.

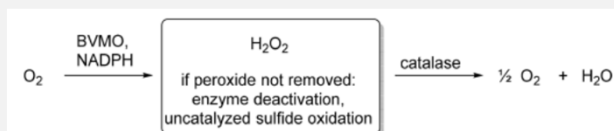
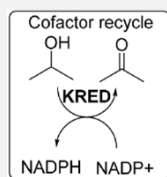
Savile, C. K. *et al. Science* 2010, 329(5989), 305-309.

Síntesis enzimática de *Esomeprazole*

Codexis



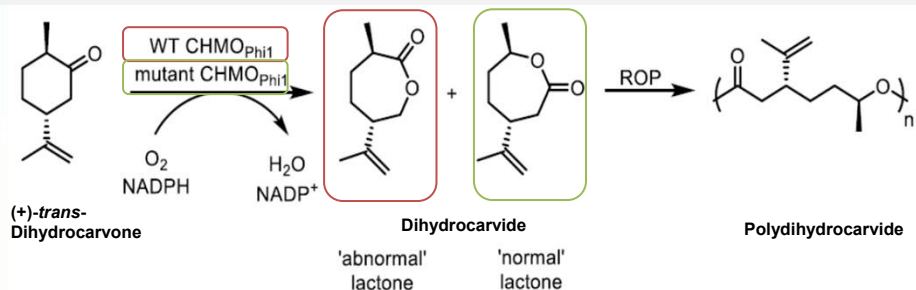
Esomeprazole es un inhibidor de la bomba de protones que se usa para el tratamiento de los síntomas de la enfermedad de reflujo gastroesofágico.



Bong, Y. K. *et al.* (2018). *J. Org. Chem.* 83, 7453-7458.

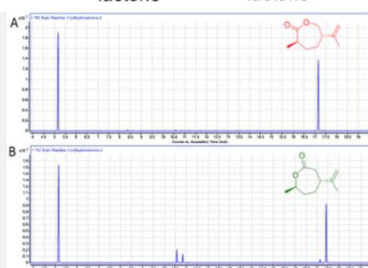
France, S. P., Lewis, R. D., Martinez, C. A. (2023). *JACS Au*, 3(3), 715-735.

Síntesis quimioenzimática de Polydihydrocarvide



a polymer used as thermoplastic elastomer

Mutant CHMO_{Phi11}:
F249A F280A F435A

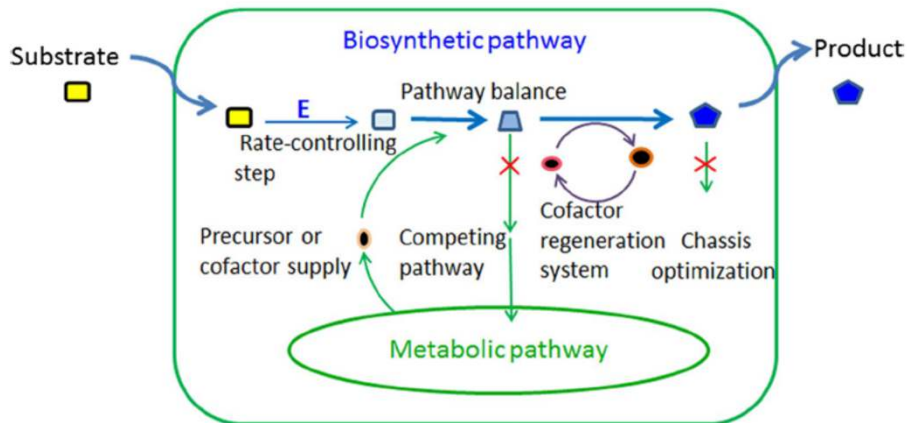


Adaptado de Messiha, H. L. *et al.* (2018). *Biochemistry*, 57(13), 1997-2008.

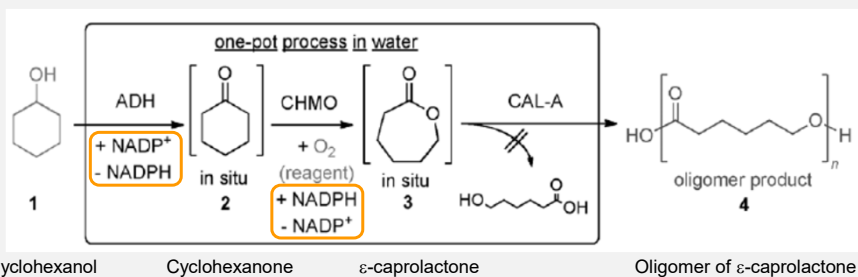
Ventajas de la biocatálisis en células enteras



Whole cell biocatalyst by design



Lin, B., Tao, Y. (2017) *Microb. Cell Fact.* 16, 106.



Cyclohexanol Cyclohexanone ϵ -caprolactone Oligomer of ϵ -caprolactone

Alcohol
dehydrogenase
(ADH) from
Lactobacillus
kefir DSM 20587
(whole cell)

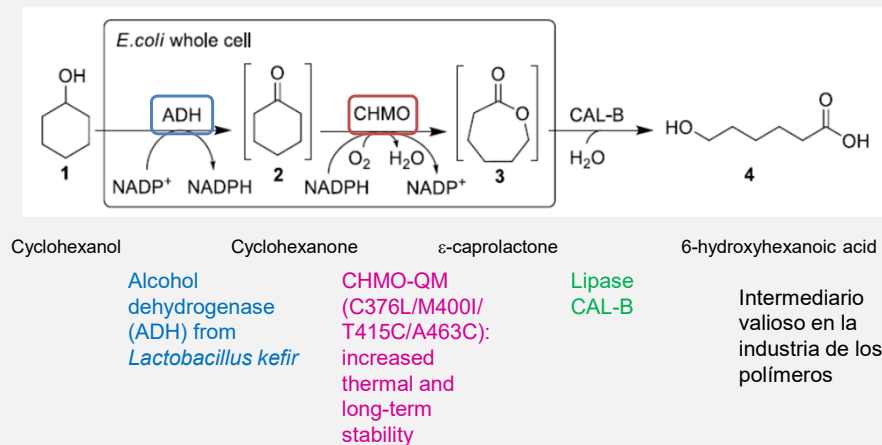
Cyclohexanone
monooxygenase
(CHMO) from
Acinetobacter
calcoaceticus
(whole cell)

Lipase CAL-A:
acyltransferase
activity

- Cofactor recycling
- Mass transfer
- Expression levels

Poly- ϵ -caprolactone es un polímero de ϵ -caprolactona con numerosas aplicaciones por su alta biodegradabilidad.

Schmidt S. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 2784–2787



Kohl, A., Srinivasamurthy, V., Böttcher, D., Kabisch, J., Bornscheuer, U. T. (2018). *Enzyme Microb. Technol.*, 108, 53-58.
 Srinivasamurthy, V. S., Böttcher, D., Bornscheuer, U. T., Z. *Naturforsch. C* 2019, 74, 71-76.



Universidad
Nacional
de Rosario

Bibliografía sugerida



- Bell, E. L. *et al. Nature Reviews Methods Primers* 2021, 1(1), 1-21.
- Savile, C. K. *et al. Science* 2010, 329(5989), 305-309.
- Bornscheuer, U. T., Pohl, M. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2001, 5(2), 137-143.
- Bornscheuer, U. T., Huisman, G. W., Kazlauskas, R. J., Lutz, S., Moore, J. C., Robins, K. *Nature* 2012, 485(7397), 185-194.
- Bornscheuer, U. T. *Phil. Trans. R. Soc. A* 2018, 376, 20170063.
- Han C. *et al. Org. Lett.* 2017, 19 (18), 4806-4809.
- France, S. P., Lewis, R. D., Martinez, C. A. *JACS Au* 2023, 3(3), 715-735.
- Bong, Y. K. *et al. J. Org. Chem.* 2018, 83, 7453-7458.
- Messiha, H. L. *et al. Biochemistry* 2018, 57(13), 1997-2008.
- Lin, B., Tao, Y. *Microb. Cell Fact.* 2017, 16, 106.
- Schmidt S. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 2784 -2787
- Kohl, A., Srinivasamurthy, V., Böttcher, D., Kabisch, J., Bornscheuer, U. T. (). *Enzyme Microb. Technol.* 2018, 108, 53-58.
- Srinivasamurthy, V. S., Böttcher, D., Bornscheuer, U. T., Z. *Naturforsch. C* 2019, 74, 71-76.

Muchas gracias