Verfahren zur zellfreien Herstellung von unspezifischen Peroxygenasen und deren Verwendung

Angebot Nr.	21-12
Stand	August 2026

Hintergrund

Unspezifische Peroxygenasen (UPOs) sind hochinteressante Biokatalysatoren für die chemische und pharmazeutische Industrie, da sie selektiv Sauerstoff auf organische Moleküle übertragen können. Bisherige Herstellungsverfahren stoßen jedoch an enge Grenzen: Die klassische Synthese in lebenden Zellen (homolog oder heterolog) liefert oft nur sehr geringe Ausbeuten, schränkt die molekulare Vielfalt stark ein und erfordert oft jahrelange Entwicklungszeiten zur Anpassung der Zellsysteme. Zudem blockiert die Toxizität mancher Zielproteine deren Herstellung in Produktionsorganismen. Ein zuverlässiges, zellfreies System zur maßgeschneiderten und schnellen Gewinnung dieser neuartigen Enzyme existierte im Stand der Technik bislang nicht.

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein biotechnologisches Verfahren sowie ein entsprechendes Reaktionssystem zur zellfreien Herstellung von Häm-Thiolat Enzymen mit Peroxidase- und Peroxygenase-Aktivität (UPOs). Der verfahrenstechnische Inhalt umfasst im ersten Schritt die Gewinnung eukaryontischer Zellextrakte, die vorzugsweise aus filamentösen Pilzen wie *Aspergillus niger* oder *Neurospora crassa* mittels mechanischen Hochdruckzellaufschlusses isoliert werden. Um die endogene mRNA zu entfernen, wird das Rohlysat mit einer Nuklease behandelt. Parallel dazu wird eine lineare oder zirkuläre Nukleinsäurematrize bereitgestellt, welche die genetische Information für das gewünschte UPO-Gen – optional inklusive gezielter Mutationen oder Tags – codiert. Als apparative Systemumgebung dient ein abgeschlossenes Batch- oder ein kontinuierliches Dialysesystem. In diesem Reaktionsansatz werden der aufbereitete Zellextrakt, die Nukleinsäurematrize und alle für die in-vitro-Translation notwendigen niedermolekularen Komponenten, wie Aminosäuren, energiereiche Triphosphate (ATP, GTP) sowie stabilisierende Zusätze wie Hämin, zusammengeführt. Die Synthese erfolgt typischerweise in einer gepufferten, wässrigen Lösung bei kontrollierten pH-Werten und Temperaturen. Schließlich werden die so im zellfreien System translatierten Proteine direkt im Gesamtreaktionsansatz belassen oder mittels proteinchemischer Verfahren gereinigt, um sie für die oxidative Umsetzung von organischen Substraten bereitzustellen.

Referat Patente und Lizenzen
Zentralcampus Cottbus: +49 (0) 355 69 3535
www.b-tu.de/transfer/patente-lizenzen
patente@b-tu.de

Details / Vorteile

Höhere Herstellungsgeschwindigkeit
Keine Zelltoxizität
Einfache Optimierung (Protein Engineering)
Verzicht auf teure Cofaktoren
Geringer apparativer Aufwand

Anwendungsfälle

Herstellung von Pharmazeutika
Synthese von Feinchemikalien
Neue Sensortechnologien
Entwicklung von Agrochemikalien

Schutzrecht

DE102021214582.5

Entwicklungsstand

Machbarkeitsnachweis

Angebote

- Ausgründung
- FuE-Kooperation
- Lizenzierung

Kontakt

Mike König
Platz der Deutschen Einheit 1
03046 Cottbus
Hauptgebäude, Zentralcampus
Raum HG 2.39

T +49 (0) 355 69-3535
E patente@b-tu.de