

## ПОИСК И РАЦИОНАЛЬНЫЙ ДИЗАЙН БИОКАТАЛИЗАТОРОВ ДЛЯ ХИРАЛЬНОГО И ТОНКОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Тишков В.И.<sup>а,б,в</sup>, Атрошенко Д.Л.<sup>а,б</sup>, Юрченко Т.С.<sup>а,б</sup>, Шеломов М.Д.<sup>а,б</sup>, Ковалевский Р.П.<sup>а,б</sup>, Шапошников Л.А.<sup>а,б</sup>, Жгун А.А.<sup>в</sup>, Эльдаров М.А.<sup>в</sup>, Чубарь Т.А.<sup>а,б</sup>, Пометун А.А.<sup>а,б,в</sup>, Савин С.С.<sup>а,б</sup>

<sup>а</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет,  
119991 Москва, Ленинские горы, 1, стр.3,

e-mail: vitishkov@gmail.com

<sup>б</sup>ООО «Инновации и высокие технологии МГУ», 109559 Москва, Цимлянская ул., 16, оф. 96.

<sup>в</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, 117234 Москва, Ленинский просп., 33, корп.2.

Ферменты являются уникальными биокатализаторами, позволяющие реализовывать процессы синтеза сложных соединений с выходами до 99-100% без образования побочных продуктов. Каждый процесс требует ферментов с определенными свойствами. Нами проводятся систематические исследования по поиску и созданию биокатализаторов с заданными свойствами. На первом этапе проводится анализ геномов на наличие определенного гена (genome mining)/ Далее интересующий ген клонируется и создается система его суперэкспрессии в клетках E.coli. После выделения очистки исследуются свойства нового фермента и при положительном результате получают кристаллы и определяют трехмерную структуру методом РСА. На основе структурных данных выбирают положения для направленного мутагенеза с помощью которого улучшают необходимые параметры. Лучшие замены объединяют в многоточечные мутанты. С помощью такого подхода нами получены новые формиатдегидрогеназы из бактерий *Staphylococcus aureus*, термотолерантных дрожжей *Ogataea parapolymorpha*, мха *Physcomitrella patens* (используется в процессах хирального синтеза с помощью оксидоредуктаз) с повышенной каталитической активностью, температурной и химической стабильностью. Из генома дрожжей *Hansenula polymorpha* клонированы три гена новых оксидаз D-аминокислот (DAAO) и один ген D-аспартат оксидазы. Выделенные DAAO отличались узким спектром субстратной специфичности и проявляли самую высокую активность с D-аланином среди всех известных ферментов. В случае DAAO из дрожжей *Trigonopsis variabilis* (промышленный процесс получение 7-аминоцефалоспориновой кислоты из цефалоспорина C) получены многоточечные мутанты фермента с улучшенными свойствами, превосходящие в несколько раз исходную DAAO как по активности, так и стабильности.

Работа поддержана грантами РФФИ 17-04-01469, 17-04-01487, 17-04-01662, 18-34-20098,