

Molekularna karakterizacija i usmjerena evolucija L-cistein sulfinat dekarboksilaze izdvojene iz metagenoma

Sažetak

L-cistein sulfinat dekarboksilaza (EC 4.1.1.29) je enzim koji određuje brzinu biosinteze taurina, te katalizira dekarboksilaciju L-cistein sulfinske kiseline u hipotaurin. Identifikacija nove L-cistein sulfinat dekarboksilaze koja bi mogla poboljšati biosintetičku učinkovitost taurina vrlo je bitna. Još neistraženi gen za dekarboksilazu, *undec1A*, identificiran je u prethodnom radu probirom sekvencija DNA iz neuzgojenih mikroorganizama iz tla. U proteinu Undec1A primjenjena je nasumična mutageneza pomoću sekvencijalne lančane reakcije polimeraze s pogreškama. Mutirani protein Undec1A-1180, izdvojen iz zbirke tako dobivenih različitih mutiranih proteina, imao je 5,62 puta veću specifičnu aktivnost od ishodnog proteina Undec1A pri temperaturi od 35 °C i pH=7,0. Rezultati molekulskog uklapanja potvrđuju da aminokiselinski ostaci Ala235, Val237, Asp239, Ile267, Ala268 i Lys298 u proteinu Undec1A-1180 pomažu pri prepoznavanju i katalizi molekula L-cistein sulfinske kiseline. Ovi bi rezultati mogli poslužiti kao osnova za definiranje svojstava proteina Undec1A-1180. Tehnologija usmjerene evolucije prikladna je za unapređenje biotehnološke primjene gena dobivenih iz metagenoma.

Ključne riječi: taurin, L-cistein sulfinat dekarboksilaza, zbirka metagenoma, sekvencijalna lančana reakcija polimeraze s pogreškama