



Doctoral Thesis

Ueber eine e-Oxydoreduktase aus *Mucor javanicus*

Author(s):

Kis, Zoltàn

Publication Date:

1965

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000122818> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Prom. Nr. 3682

Über eine e-Oxydoreduktase aus *Mucor javanicus*

Von der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von

ZOLTÁN KIS

dipl. Chemiker, Universität Budapest
Ungarischer Staatsangehöriger

Referent: Herr Prof. Dr. V. Prelog
Korreferent: Herr Prof. Dr. D. Arigoni

Juris-Verlag Zürich
1965

ZUSAMMENFASSUNG

1. Bei der mikrobiologischen Umsetzung von *Mucor javanicus* mit (⁺)-trans-De-kalindion-(1,4) wurde an Hand der erhaltenen Reduktionsprodukte festgestellt, dass der Mikroorganismus ein Enzym enthält, welches eine von der aus *Curvularia falcata* isolierten α -Oxydoreduktase verschiedene Produkt-Stereospezifizität aufweist.
2. Diese in *Mucor javanicus* gefundene Oxydoreduktase wurde isoliert und in einer mehrstufigen Reinigungsoperation zweitausendfach angereichert.
3. Durch Denaturierungsversuche und disk-elektrophoretische Untersuchungen demonstrierte man die Einheitlichkeit des Enzyms.
4. Durch Gelchromatographie an Sephadex G-100 und Sephadex G-200 wurde für die Oxydoreduktase ein Molekulargewicht von etwa 100,000 gefunden.
5. Die Aktivierungsenergie der Denaturierung, die Beständigkeit bei verschiedenen pH, die Abhängigkeit der Aktivität vom pH und der Temperaturkoeffizient der enzymatischen Reduktion wurden bestimmt.
6. Die Produkt-Stereospezifizität der α -Oxydoreduktase wurde durch präparative Umsetzungen mit fünf Substraten untersucht. Dabei fand man, dass das neu gebildete Chiralitätszentrum immer die (R)-Konfiguration besitzt.
7. Durch präparative Umsetzung mit (4S)-NADPD stellte man fest, dass der B-Wasserstoff des Coenzym übertragen wird.
8. Die Spezifität und Stereospezifizität, in bezug auf die Substrate, wurde mit verschiedenen mono- und bicyclischen Ketonen und Alkoholen durch Messung der relativen Reaktionsgeschwindigkeiten untersucht.
9. Für mehrere gut reagierende Substrate und für die Coenzyme NADP, NADPH und 3-Acetylpyridin-NADP wurden die Michaelis-Konstanten (K_m) und die maximalen Geschwindigkeiten (V) bestimmt.
10. Durch Inhibitionsversuche stellte man fest, dass das schneller reagierende Enantiomer durch das langsamere Enantiomer kompetitiv gehemmt wird. Dieses Verhalten zweier enantiomerer Substrate wurde dahin gedeutet, dass bei der axialen und äquatorialen Wasserstoffübertragung die gleiche aktive Stelle des Enzyms beteiligt ist.

11. Die Produkt-Stereospezifität und die Stereospezifität in bezug auf das Coenzym der hier beschriebenen und der früher untersuchten NADP-abhängigen Oxydoreduktasen wurden verglichen. Unter der Annahme einer abstossenden Wechselwirkung zwischen der Carboxyamid-Gruppe des Coenzym und dem raumbeanspruchenden Substituenten in unmittelbarer Nachbarschaft des reagierenden C-Atoms, ergibt sich für die e-Oxydoreduktase aus Schweineleber und a-Oxydoreduktase aus *Curvularia falcata* eine syn-Anordnung und für die e-Oxydoreduktase aus *Mucor javanicus* eine anti-Anordnung des Coenzym und des Substrates im Uebergangszustand der Wasserstoffübertragung.