ETH zürich

ETH Library

Study of Enzymes Confined in Lipidic Mesophases

Doctoral Thesis

Author(s):
Zhou, Tao

Publication date:
2020

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-b-000457207

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.

DISS. ETH NO. 27061

Study of Enzymes Confined in Lipidic Mesophases

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

Tao Zhou

MSc. in Physical Chemistry, Shandong University, China

BSc. in Applied Chemistry, Northeastern University, China

Born on 04.11.1991

Citizen of P. R. China

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Raffaele Mezzenga

Prof. Dr. Peter Johann Walde

2020

Abstract (English)

This PhD thesis aimed at studying enzymes confined in lipidic mesophases, including enzymatic synthesis, enzyme-assisted self-assembly and cryo-enzymology. Enzymes are fragile biologic catalysts, yet with high efficiency and selectivity. Their activity and stability show high dependence on their hosts and related environments. As biomimetic materials, lipidic mesophases simulate cell environments and are promising matrices to fulfill the excellent properties of enzymes *in vitro*. A comprehensive research on enzymes confined in lipidic mesophases would broaden the applications of enzymes in fields of chemical synthesis, biochemistry, materials and so on.

The first chapter of this thesis gives a brief overview on enzymes, with focus on biosynthesis, enzyme-assisted self-assembly and cryo-enzymology. Afterwards, the self-assembly behavior of lipids in water is introduced. Of special interests are lipidic cubic mesophases (LCMs) and lipidic lamellar mesophases (Lα), due to their membrane-biomimetic structures. The following is a brief overview on current states of enzymes in lipidic mesophases and this chapter concludes with an outline of the aim of this PhD action.

The second chapter presents efficient asymmetric synthesis of carbohydrates by aldolase D-fructose-6-phosphate aldolase from *E. coli* (FSA) confined in lipidic cubic mesophases from hydrophilic reactants. This improved in-meso performance is referred to be achieved by optimal location of the FSA at the interface between the lipid bilayer and water in the LCMs. The continuous interface in LCMs ensures increased accessibility of the catalytic reaction center to substrates and high activity.

The third chapter shows the nanoconfined environment provided by the LCMs plays a key role in the development of supramolecular chirality and subsequent crystallization. (R)-Benzoin generated in situ from benzaldehyde in a reaction catalyzed by the enzyme benzaldehyde lyase (BAL), exhibits -when confined within LCMs- enhanced chirality compared to (R)-benzoin in solution or (R)-benzoin doped in LCMs. We infer that a metastable state is formed under kinetic control that displays enhanced supramolecular chirality. As they age, these metastable structures can further grow into thermodynamically stable crystals.

In the fourth chapter, a novel unfrozen lipidic mesophase is developed based on commercial available lipid phytantriol. The dynamics of water confined inside is investigated in detail. Remarkably, the water can keep its liquid state down to -120 ℃ when the water content is below 10 wt%. The integration of subzero liquid water with lipidic mesophase provides the potential of studying enzymatic reactions at subzero temperatures. A model

oxidization and a cascade reaction are successfully constructed in this lipidic mesophases at 25 ℃, 4 ℃ and -20 ℃. All these reactions at -20 ℃ outperforms those at 25 ℃ and 4 ℃. The reason behind is the low temperature helps to stabilize the free radical product.

Zusammenfassung (Deutsch)

Diese Doktorarbeit hat zum Ziel, Enzyme zu untersuchen, welche in lipidische Mesophasen eingearbeitet werden, einschliesslich enzymatische Synthesen in solchen Systemen, enzymunterstützte Selbstorganisation und Kryoenzymologie. Enzyme sind empfindliche biologische Katalysatoren mit hoher Effizienz und Selektivität. Ihre Aktivität und Stabilität zeigen eine hohe Abhängigkeit von der physiko-chemischen Umgebung, in welcher sie eingesetzt werden. Lipidische Mesophasen können als biomimetische Materialien die Zellumgebung simulieren und sind vielversprechende Träger, um die hervorragenden Eigenschaften von Enzymen in vitro zu entfalten. Eine gründliche Erforschung von Enzymen, die in lipidischen Mesophasen eingearbeitet werden, könnte die Anwendung von Enzymen in den Bereichen chemische Synthese, Biochemie, Materialien usw. erweitern.

Das erste Kapitel dieser Arbeit gibt einen kurzen Überblick über Enzyme mit dem Fokus auf Biosynthese, enzymunterstützte Selbstorganisation und Kryoenzymologie. Anschließend wird das Selbstorganisationsverhalten von Lipiden in Wasser vorgestellt. Von besonderem Interesse sind lipidische kubische Mesophasen (LCMs) und lipidische lamellare Mesophasen (Lα) aufgrund ihrer membranbiomimetischen Strukturen. Anschliessend folgt eine kurze Übersicht über den aktuellen Forschungsstand von Enzymen in lipidischen Mesophasen. Dieses Kapitel schließt mit einem Überblick über das Ziel dieser Doktorarbeit.

Das zweite Kapitel präsentiert eine effiziente asymmetrische Synthese von Kohlenhydraten durch die D-Fructose-6-phosphat-Aldolase aus *E. coli* (FSA), die in kubischen Lipidmesophasen zusammen mit den hydrophilen Reaktanten eingeschlossen ist. Die hohe Effizienz dieser in-meso Reaktion wird durch die optimale Position der FSA an der Grenzfläche zwischen Lipiddoppelschicht und Wasser in den LCMs erreicht. Die kontinuierliche Grenzfläche in LCMs gewährleistet, dass die Substrate eine verbesserte Zugänglichkeit an die katalytischen Reaktionszentren haben und eine hohe Enzymaktivität bewirken.

Das dritte Kapitel zeigt, dass die von den LCMs bereitgestellte räumlich eingeschränkte Reaktionsumgebung eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung der supramolekularen Chiralität und der anschließenden Kristallisation spielt. (R)-Benzoin, das in situ aus einer durch das Enzym Benzaldehydlyase (BAL) katalysierten Reaktion aus Benzaldehyd erzeugt wird, zeigt - wenn das Enzym in LCMs eingeschlossen ist - eine erhöhte Chiralität im Vergleich zu (R)-Benzoin in Lösung oder (R) - Benzoin, das in LCMs eingearbeitet ist. Wir schließen daraus, dass unter kinetischer Kontrolle des beschriebenen in-situ Ansatzes ein metastabiler Zustand des Produktes gebildet wird, der eine erhöhte supramolekulare Chiralität zeigt. Während der Alterung können aus diesen metastabilen Strukturen dann thermodynamisch stabile Kristalle wachsen.

Im vierten Kapitel wird die Entwicklung einer neuartige Lipidmesophase beschrieben, die auf dem im Handel erhältlichen Lipid Phytantriol basiert und bei tiefen Temperaturen nicht kristallisiert.

Die Dynamik des darin eingeschlossenen Wassers wird im Detail untersucht. Bemerkenswerterweise bleibt das Wasser bis auf -120 °C im flüssigen Zustand, wenn der Wassergehalt unter 10 Gew.-% liegt. Die Integration von flüssigem Wasser unter null Grad in eine Lipidmesophase bietet das Potenzial, enzymatische Reaktionen bei Temperaturen unter Null zu untersuchen. Eine Modelloxidation und eine Kaskadenreaktion bei 25 °C, 4 °C und -20 °C werden in diesen lipidischen Mesophasen erfolgreich durchgeführt. Die Effizienz all dieser Reaktionen bei -20 °C übertreffen den Wirkungsgrad, der bei 25 °C und 4 °C erreicht wird. Der Grund dafür ist, dass die niedrige Temperatur zur Stabilisierung des Radikalprodukts beiträgt.