



# SÍNTESIS DE AMINOÁCIDOS NO CANÓNICOS

## Fenilalanina amonio-liasa

### INTRODUCCIÓN

El interés despertado durante las últimas décadas en catalizadores de tipo enzimático es debido a sus múltiples ventajas:

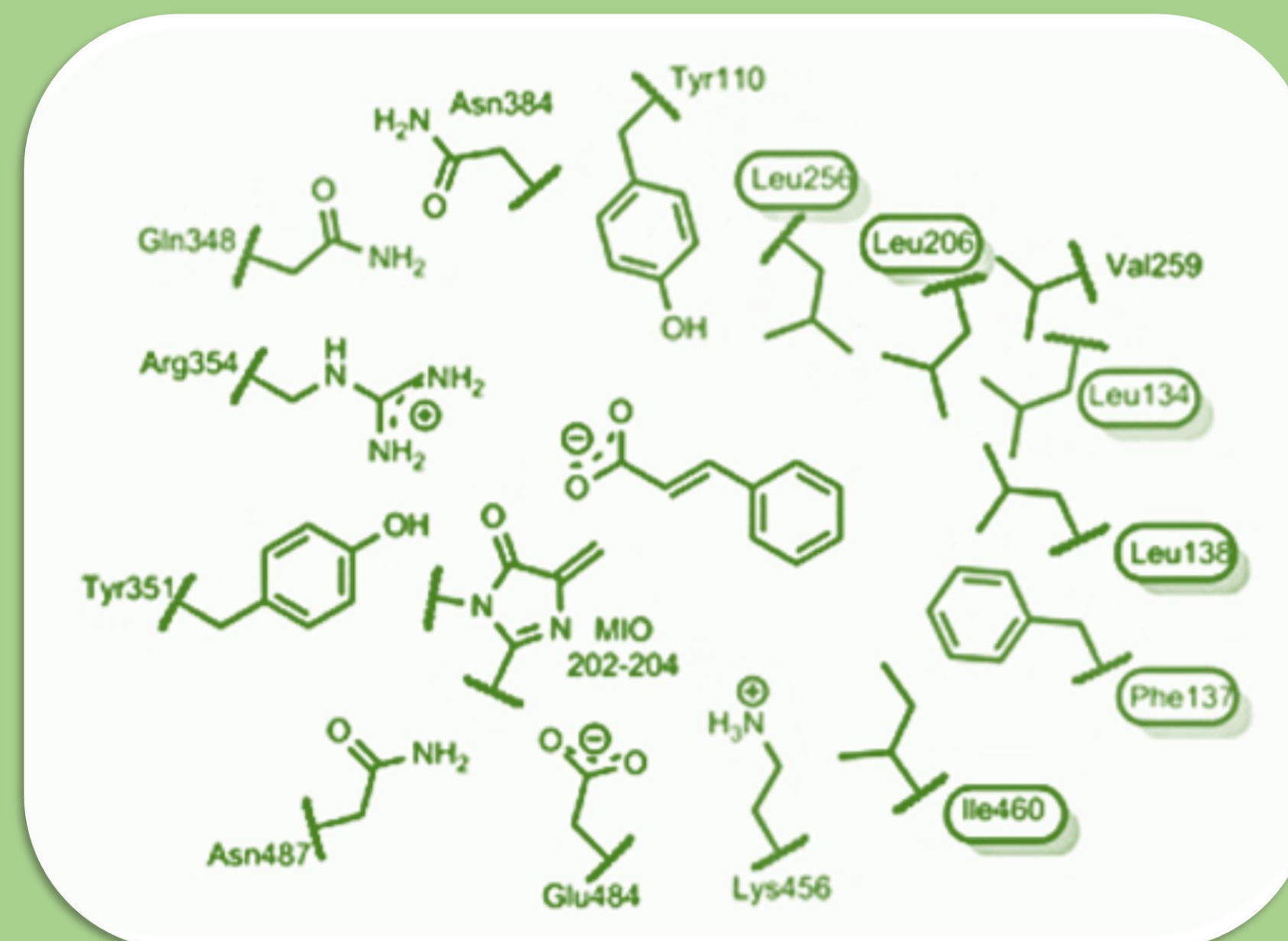
- Alta especificidad de reacción
- Pequeña cantidad de desechos generados
- Condiciones de reacción moderadas

Para mejorar el rendimiento enzimático se han desarrollado diferentes procesos biotecnológicos, como son: la ingeniería enzimática y la inmovilización de enzimas.

#### FENILALANINA AMONIO-LIASA (PAL)

Las fenilalanina amonio-liasas (PAL) se encuentran entre los biocatalizadores más estudiados para la producción de análogos ópticamente puros de D y L-fenilalanina.

En plantas, hongos y en algunas bacterias, la PAL tiene un papel fundamental siendo la primera enzima en la ruta de degradación de fenilalanina, catalizando la eliminación no oxidativa de amonio del aminoácido.



Esquema del centro activo de la enzima salvaje PcPAL.

#### MUTAGÉNESIS

**Racional:** basada en la modificación justificada de residuos concretos de la estructura de la enzima.

**Evolución dirigida:** se realizan mutaciones de forma aleatoria generando una genoteca de mutantes.

#### INMOVILIZACIÓN ENZIMÁTICA

**Retención física:** principalmente se produce por adsorción, atrapamiento de enzimas en soportes porosos o confinamiento de enzimas en membranas semipermeables.

**Unión química:** los métodos más destacados son la unión covalente de la enzima al soporte y el entrecruzamiento.

### OBJETIVOS

- Demostrar que la síntesis enzimática de aminoácidos no canónicos presenta una serie de ventajas frente a la síntesis química.
- Describir diferentes métodos que ayudan a mejorar el rendimiento de estos procesos, así como estrategias para su máximo aprovechamiento.
- Exponer diferentes ejemplos de las aplicaciones clínicas que poseen productos generados por PAL.

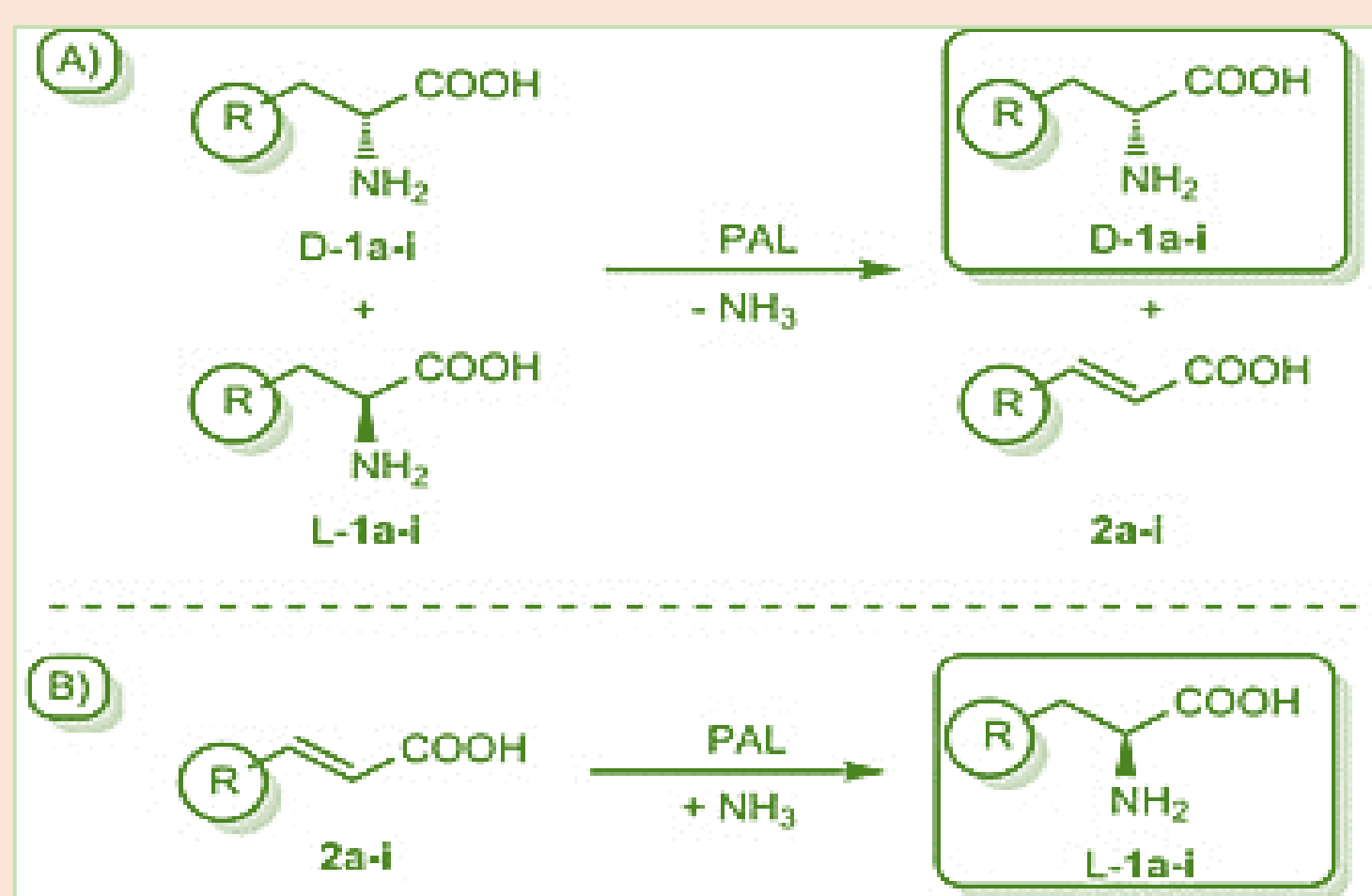
### MATERIAL Y MÉTODOS



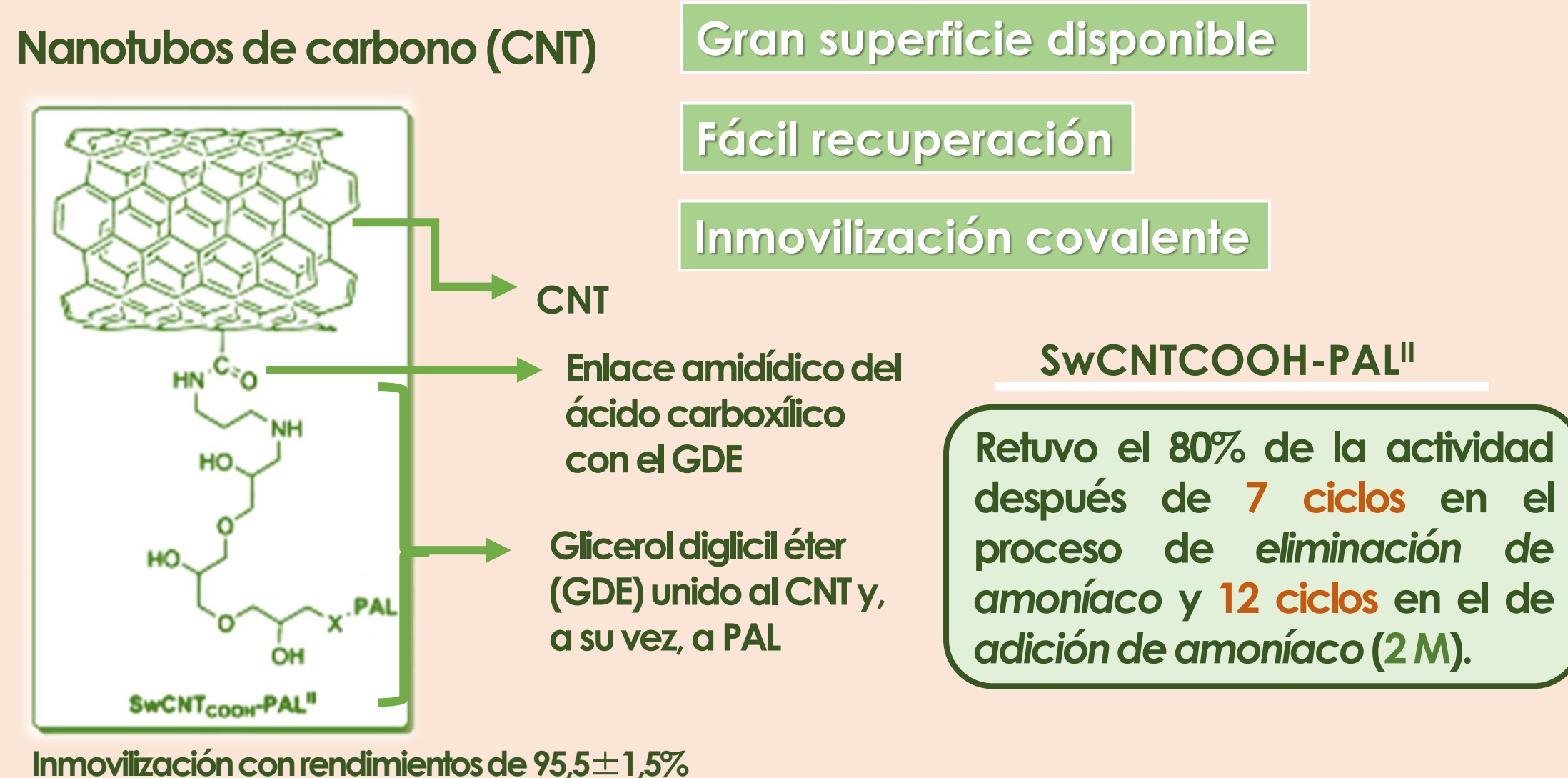
Con el fin de entender la evolución a lo largo del tiempo de los conocimientos acerca de PAL, se han escogido artículos publicados entre 1970 y la actualidad.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### MECANISMO DE ACCIÓN



#### INMOVILIZACIÓN DE PcPAL EN NANOTUBOS DE CARBONO



#### MUTAGÉNESIS DIRIGIDA AL SITIO EN PcPAL

**ENFOQUE:** selección de distintos mutantes que consiguen reducir los problemas de impedimento estérico en el centro activo de PcPAL.

La biblioteca PcPAL de un solo mutante generada fue probada con los diferentes sustratos a los que se quería dirigir la eliminación y la adición de amonio.

**Resultados de la eliminación de amonio:** Las mutaciones de los residuos F137 y I460 por valina o alanina incrementaban significativamente la actividad para casi todos los sustratos.

**Resultados de la adición de amonio:** Las mutaciones de los residuos F137 y I460 solo mostraron mejoría en 2 sustratos, mientras que en aquellos más voluminosos la reacción no se vio favorecida.

**¿Cómo se consiguió favorecer la adición de amonio?**  
Generando mutantes dobles de F137 e I460.

### CONCLUSIONES

- Las PALs presentan muchas ventajas: no requieren la utilización de enzimas adicionales, no necesitan reciclar el cofactor y presentan un rendimiento teórico del 100%.
- Las técnicas de ingeniería enzimática e inmovilización en soportes aumentan la efectividad y eficacia de los biocatalizadores.
- La síntesis enzimática de aminoácidos no canónicos se presenta como una alternativa innovadora y ecológica frente a la síntesis química.

#### APLICACIONES

#### MECANISMO DE ACCIÓN

#### USO EN CLÍNICA

L-m-(trifluorometil)fenilalanina	Inhibidor de la proteína KIFC1	Varios tipos de cáncer
D-p-metilfenilalanina	Inhibidor de la enzima Pin1	Varios tipos de cáncer
L-p-metoxifenilalanina	Intermedio en la síntesis de tamsulosina	Hiperplasia benigna de próstata
L-m-metoxifenilalanina	Intermedio en la síntesis de inhibidores de la proteasa de VIH	VIH
rAvPAL-PEG	Degradación de fenilalanina en concentraciones elevadas	Fenilcetonuria

### BIBLIOGRAFÍA

