

L-Leucin - Dehydrogenase

L-Leucin : NAD⁺ oxidoreductase, Leu-DH
EC 1.4.1.9

Beschreibung: L-Leucin - Dehydrogenase katalysiert die oxidative Desaminierung von L-Leucin, L-Valin und L-Isoleucin sowie von Aminosäuren mit unverzweigter, aliphatischer Kohlenstoffkette. Dabei wurde bei Aminosäuren mit verzweigter Kohlenstoffkette eine höhere Reaktivität beobachtet als mit denen mit unverzweigter.

Durch die Umkehrreaktion wird eine Vielfalt von 2-Ketosäuren, insbesondere 2-Isocapronat, 2-Ketoisovalerat und 2-Keto-3-methylvalerat mit 0,9 M Ammonium zu der entsprechenden L-Aminosäure reaktiv aminiert. [1]

Herkunft: *Bacillus cereus*

Verwendung:

- Synthese von L-Leucin sowie einer Vielzahl anderer Aminosäuren mit unverzweigter und verzweigter Kohlenstoffkette, wie z.B. L-tert-Leucin und L-Methionin
- Aminierung von 2-Ketosäuren unter kontinuierlichen Bedingungen im Enzym-Membran-Reaktor unter Verwendung von Formiat-Dehydrogenase zur Regeneration des Coenzym
- Synthese radioaktiv markierter Aminosäuren

Molekulargewicht: 310 000 (± 10 000) Da [1]

Struktur: Das Enzym besitzt sechs identische Untereinheiten mit einem Molekulargewicht von jeweils 39 000 D. [1]

Isoelektrischer Punkt: pH 5,75 (natives Enzym)
pH 4,0 (Untereinheiten) [2]

Aktivität: > 50 U/ml (Methode: ASA Spezialenzyme GmbH)

Spezifische Aktivität: > 20 U/mg

Definition Unit: Eine internationale Einheit (Unit) ist definiert als die Menge L-Leucindehydrogenase, welche die Produktion von 1 μmol NADH pro Minute unter Standardbedingungen katalysiert. [1]

Reaktionsparameter: pH-Optima:
oxidative Desaminierung: 10,7 (in Glycin/NaCl/NaOH-Puffer mit L-Leucin, L-Valin und L-Isoleucin als Substrat)
reduktive Aminierung: 9,0 – 9,5 (mit 2-Ketoisocapronat, 2-Ketomethionin als Substrat)
8,5 (mit 2-Ketovalerat als Substrat) [1]
Temperaturoptimum: 60°C (oxidative Desaminierung) [1]

Michaelis-Konstanten:

oxidative Desaminierung:		reduktive Aminierung:	
Substrat	K_M [mM]	Substrat	K_M [mM]
NAD ⁺	0,34	NADH	0,034
L- α -Aminobutyrat	22,0	2-Ketobutyrat	1,5
L-Norvalin	2,9	2-Ketovalerat	0,4
L-Norleucin	1,5	2-Ketocapronat	1,2
L-Valin	2,5	2-Ketoisovalerat	2,1
L-Leucin	1,5	2-Ketoisocapronat	0,45
L-Isoleucin	1,0	2-Keto-3-methylvalerat	0,9
L-Methionin	23,0	2-Keto-4-mercaptobutyrat	2,1

Bestell-Nr.: 1410

Lieferform: Suspension in 50% Glycerin

Lagerung: -20°C

Stabilität: kein Aktivitätsverlust in 50% Glycerin bei -20°C pro Jahr
Aktivitätsverlust <12% in 24 Stunden bei 25°C

Literatur: [1] Schütte H., Hummel W., Tsai H., Kula M.R.:
Appl. Microbiol. Biotechnol., **22**, 306 – 317 (1985)
[2] Kärst U., Schütte H., Baydoun H., Tsai H.
Proc. 4th European Congress on Biotechnology, Vol.2 (1987)