

Spesifisitas substrat kanj dioksigenase dan kank dehidrogenase yang berperan dalam tahap akhir biosintesis kanamysin = Substrate specificity of an alpha ketoglutarate dependent dioxygenase kanj and an nadph dependent dehydrogenase kank involved in the last step of kanamycin biosynthesis

Diana Ayu Nindita, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20331946&lokasi=lokal>

Abstrak

Kanamysin adalah antibiotik aminoglikosida yang diproduksi oleh *Streptomyces kanamyceticus* dan dikenal sebagai agen antituberkulosis. Kanamysin mengandung aminosiklitol 2-deoksistreptamin (DOS) yang dilengkapi dengan gugus kanosamin pada C-6 dan aminoglikosida fungsional yang khas (6-amino-6-deoksi-D-glukosa untuk kanamysin A) pada C-4. Peran enzim KanJ dioksigenase dan KanK dehidrogenase dalam tahap akhir biosintesis kanamysin telah dikonfirmasi, yaitu mengkonversi kanamysin B menjadi kanamysin A dengan oksidasi dan reduksi pada posisi C-2', yaitu dari gugus amina menjadi gugus hidroksi.

Penelitian ini menganalisis spesifisitas substrat KanJ dan KanK dengan membuat assay enzim secara in vitro yang menggunakan beberapa aminoglikosida sebagai substrat, yaitu neamin, tobramysin, paromamin, paromomysin, ribostamysin, genetisin, neomysin B, dan butirosin A. Hasilnya, analisis HPLC dan LC-MS menunjukkan KanJ dan KanK hanya bereaksi dengan neamin dan tobramysin. Maka, KanJ dan KanK mengenali gugus kanosamin dan secara khusus mengenali gugus amina pada posisi C-6' dalam gugus neosamin C dari kanamysin B untuk mengkatalisis oksidasi.

Selanjutnya, dari hasil isolasi produk reaksi enzimatik KanJ dan KanK dengan neamin, analisis HPLC dan ¹H-NMR memperlihatkan bahwa isolat masih berupa campuran produk dan neamin, sehingga struktur kimia produk belum dapat ditentukan secara akurat, namun dapat diprediksi bahwa produk merupakan 2'-deamino-2'-hidroksineamin.

*Kanamycin is an aminoglycoside antibiotics produced by *Streptomyces kanamyceticus* and widely known as antituberculosis agent. Kanamycin contains 2-deoxystreptamine with kanosamine moiety attached on C-6 and unique aminoglycoside moiety (6-amino- 6-deoxy-D-glucose in kanamycin A) on C-4.*

Functional role of KanJ and KanK in the last step of kanamycin biosynthesis have been confirmed, where they play a vital role to convert kanamycin B to kanamycin A by oxidation and reduction at C-2' position, to replace the amino group by a hydroxyl group.

This study examined the substrate specificity of KanJ and KanK using in vitro enzyme assay with several aminoglycosides as substrates, such as neamine, tobramycin, paromamine, paromomycin, ribostamycin, geneticin, neomycin B, and butirosin A. It was found that KanJ and KanK were active only on neamine and tobramycin. It appears that, KanJ strictly recognizes neosamine C moiety, particularly amino group at C-6' and kanosamine moiety of kanamysin B to catalyze the oxidation.

Furthermore, after product isolation from enzymatic reaction of KanJ and KanK with neamine, HPLC and ¹H-NMR analysis showed that the isolate was the mixture of product and substrate, so the precise chemical structure of the KanJ-KanK reaction product from neamine has not been determined yet, but could be predicted that it was 2'-deamino-2'- dehydroxyneamine.