

## Allgemeine Zusammenfassung

In dieser Arbeit ist der Fokus auf Unspezifische Peroxygenasen (UPOs) gerichtet, eine Gruppe von extrazellulären Pilzproteinen, die erstmals 2004 entdeckt wurden [1, 2]. Diese Enzyme zeichnen sich durch ihre breite katalytische Anwendungsfähigkeit aus und gelten als vielversprechende Werkzeuge für industrielle Anwendungen, insbesondere in der Pharmaindustrie zur Synthese von Arzneimitteln und in der Umwelttechnologie [1, 3, 4]. Trotz ihres enormen Potenzials stellen die Herstellung und Charakterisierung von UPOs bedeutende Herausforderungen dar. Bislang wurden nur wenige UPO-Vertreter experimentell untersucht, wobei die Komplexität der korrekten Proteinfaltung und Schwierigkeiten wie der Einbau von Häm und posttranslationale Modifikationen im Mittelpunkt stehen [3, 5].

Die vorliegende Arbeit präsentiert Ansätze zur Optimierung der Herstellung von UPOs. Die zellfreie Proteinsynthese wurde erfolgreich als Herstellungsmethode für UPOs genutzt. Thermotolerante UPOs wie *Tst1UPO* und *MytUPO* zeigten vielversprechende Aktivitäten, während Herausforderungen wie Proteinaggregation durch den Einsatz spezifischer Chaperon-Lysate, insbesondere dem GroEL/GroES-System, effektiv bewältigt wurden. Die Übertragung der Ergebnisse der zellfreien Proteinsynthese auf ein zellbasiertes System wurde ebenfalls realisiert. Durch die Auswahl geeigneter Zelllinien und die Optimierung von Faktoren wie IPTG-Konzentration und Kultivierungstemperatur konnte die Volumenaktivität von *PanUPO* erheblich gesteigert werden. Die Arctic-Express-Zelllinie erwies sich als äußerst effizientes zelluläres System, welches in Verbindung mit dem TB-Medium zu der höchsten Volumenaktivität führte. Diese Arbeit liefert nicht nur wichtige Erkenntnisse zur Herstellung und Expression von *PanUPO*, sondern präsentiert auch innovative Möglichkeiten zur Überwindung bisheriger Herausforderungen bei der Herstellung von UPOs. Die Ergebnisse werden dazu beitragen, das volle Potenzial von UPOs für industrielle Anwendungen zu erschließen und neue Perspektiven für die zukünftige Forschung auf diesem Gebiet zu eröffnen.