

## GRÜNER KRAFTSTOFF

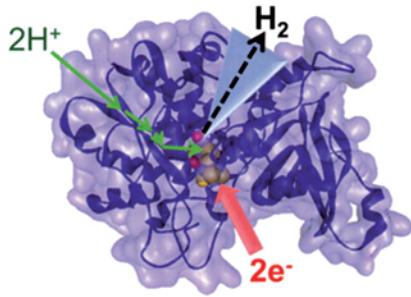
Photobiologische H<sub>2</sub>-Produktion durch Mikroalgen

Abb. 1: Molekulares Hydrogenase-Modell mit Proteinrückgrat (blau) und katalytischem Zentrum (Kugelmodell) [Abb.1+2; Quelle: Ruhr-Universität Bochum]

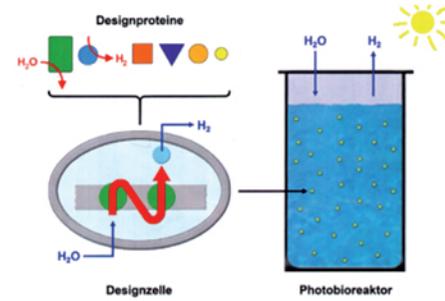


Abb. 2: Illustration der Projektstrategie: Optimierte Proteine werden in einen Design-Organismus überführt, der aus Wasser in einem optimierten Photobioreaktor Wasserstoff erzeugt

**BIO-KATALYSATOR HYDROGENASE** Die zentralen Bausteine, die für eine photobiologische H<sub>2</sub>-Produktion notwendig sind, sind die so genannten Hydrogenasen (Abb. 1). Dies sind biologische Katalysatoren (Enzyme), die die chemische Reaktion überhaupert erst ermöglichen: die Übertragung von Elektronen (e<sup>-</sup>) auf Protonen (H<sup>+</sup>). Über einen einzigartigen heterolytischen Mechanismus bildet sich dabei molekularer Wasserstoff (H<sub>2</sub>):



Die leistungsfähigsten Enzyme können dabei bis zu 9.000 Moleküle Wasserstoff pro Sekunde produzieren.

Aus biotechnologischer Sicht sind Hydrogenasen sowohl für die H<sub>2</sub>-Erzeugung in einem (semi-)artificialen System als auch für die H<sub>2</sub>-Oxidation in (Bio-) Brennstoffzellen interessant, beispielsweise als Ersatz für das teure und seltene Platin. Die Enzyme sind auf Graphit- oder Goldelektroden aktiv und können Elektronen mit ihnen austauschen. Außerdem sind Hydrogenasen sehr stabil und können über mehrere Wochen verlässlich als Katalysator arbeiten. Das vorrangigste Problem bei der Nutzung dieser natürlichen Katalysatoren ist allerdings ihre Sensitivität gegenüber molekularem Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und Kohlenmonoxid (CO). Für den Einsatz der Enzyme zur (groß-)industriellen H<sub>2</sub>-Erzeugung muss diese O<sub>2</sub>-Empfindlichkeit demnach besonders berücksichtigt werden, da sie die kostengünstige Herstellung großer Mengen Hydrogenase einschränkt.

Erfreulicherweise gelang hier vor kurzem der AG Photobiotechnologie in Bochum ein Durchbruch: Die Wissenschaftler kamen dem Mechanismus der Inaktivierung von Hydrogenasen auf atomarer Ebene auf die Spur. Offensichtlich bindet das Sauerstoffmolekül genau wie das eigentliche Substrat, der Wasserstoff, an das aktive Zentrum der Hydrogenase. Auf diese Weise entstehen anscheinend aggressive „reaktive“ Sauerstoffvarianten (reactive oxygen species: ROS), indem eine Übertragung von Elektronen auf den gebundenen Sauerstoff

stattfindet. Dies hat zur Folge, dass diese ROS in einer zweiten Reaktion Teile des katalytischen Zentrums der Hydrogenase attackieren. Mit diesem neuen Wissen kann nun eine gezielte Modifikation der Hydrogenase hinsichtlich einer höheren Toleranz gegenüber Luftsauerstoff angegangen werden.

**ANAEROBE H<sub>2</sub>-PRODUKTION** Einige Arten von einzelligen Grünalgen (z. B. *Chlamydomonas reinhardtii*) sind schon jetzt in der Lage, H<sub>2</sub> mit Hilfe der photobiologischen Wasserspaltung zu bilden. In ihnen ist die zunächst paradox anmutende Kopplung einer extrem O<sub>2</sub>-empfindlichen Hydrogenase an die O<sub>2</sub>-produzierende photosynthetische Elektronentransportkette möglich, weil die H<sub>2</sub>-Produktion durch Schwefelmangel ausgelöst wird und unter Luftabschluss erfolgt. Durch das Fehlen des Nährstoffes Schwefel ändert sich der Zellstoffwechsel drastisch. Die Photosyntheserate sinkt auf unter 10 % der ursprünglichen Aktivität, während die Zellatmung, bei der Sauerstoff verbraucht wird, gleich bleibt. Dadurch stellen sich anaerobe zelluläre Bedingungen ein, und der Katalysator Hydrogenase wird gebildet. Dieser Zustand kann für eine gewisse Zeit (10 bis 14 Tage) aufrechterhalten werden. Trotz dieser Einschränkungen handelt es sich bei diesem System um das bisher leistungsfähigste zur biologischen H<sub>2</sub>-Erzeugung. Man kann hiermit bis zu 5 ml H<sub>2</sub> pro Liter Algensuspension und Stunde erreichen.

Berechnungen innerhalb des BMBF-Vorhabenprojektes H<sub>2</sub>-Designzellen haben jedoch ergeben, dass mindestens die hundertfache Menge H<sub>2</sub> pro Stunde erzeugt werden müsste, um Biowasserstoff in Anbetracht des gegenwärtigen H<sub>2</sub>-Weltmarktpreises konkurrenzfähig zu machen (AG Wagner, RUB). Um einen solch hohen Wert erreichen zu können, müssten zahlreiche Verfahrensschritte optimiert werden, die sowohl biologische (Design einer neuen Zelle, die auf H<sub>2</sub>-Produktion optimiert ist) als auch technische Parameter (Optimierung der Effizienz unter gleichzeitiger drastischer Senkung der Produktionskosten von Photobioreaktoren) umfassen.

Um das gesamte Potential der Photosynthese für die biologische H<sub>2</sub>-Produktion tatsächlich auszunutzen zu können, müssen folgende Maßnahmen verfolgt werden:

- 1) Die Hydrogenase muss so modifiziert werden, dass sie auch unter atmosphärischen Bedingungen (21 % Sauerstoff) optimal funktioniert.
- 2) Die Kopplung der Hydrogenase an die Photosynthese muss so optimiert werden, dass ein Großteil der Elektronen aus der photosynthetischen Wasserspaltung direkt auf die Hydrogenase übertragen wird, anstatt für die Produktion von Biomasse (CO<sub>2</sub>-Fixierung zum Aufbau von Zellbestandteilen und zur Vermehrung) verwendet zu werden.
- 3) Man muss die zentralen biologischen Komponenten der photosynthetischen Wasserstoffherzeugung in einer möglichst einfach aufgabenden und leicht zu modifizierenden „Designzelle“ vereinen, die sowohl robust und anpassungsfähig gegenüber äußeren Faktoren ist, als auch leicht in (späterer) Massenkultivierung zu halten ist.
- 4) Es müssen sehr kostengünstige Photobioreaktoren aus Standardmaterialien entwickelt werden, welche niedrig im Preis, modular aufgebaut und für den Lichteintrag optimiert sind, um möglichst hohe Zelldichten (direkt korreliert mit hoher H<sub>2</sub>-Produktion pro Volumen) zu erreichen.

**H<sub>2</sub>-DESIGNZELLE IN PHOTOBIOREAKTOR** Am Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen wird im Rahmen des H<sub>2</sub>-Designzellen-Projekts intensiv an der Optimierung einer derartigen Design-

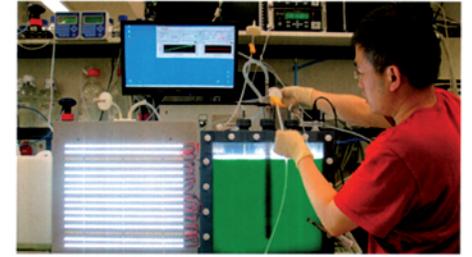


Abb. 3: Entwickler Flachbett-Photobioreaktor (m.) [Quelle: Ruhr-Universität Bochum]

zelle gearbeitet, da allein durch sie der Faktor 100 ermöglicht werden kann. Wir verwenden hierfür die cyanobakterielle Modellzelle *Synechocystis 6803*, da sie sehr gut charakterisiert ist, leicht genetisch verändert werden kann und hinreichend robust ist. Allerdings besitzt sie keine leistungsfähige Hydrogenase, so dass diese – nach Erreichen der O<sub>2</sub>-Toleranz – von Grünalgen importiert werden muss. Die Existenz O<sub>2</sub>-toleranter Hydrogenasen in anderen Bakterien – allerdings mit deutlich geringerer Aktivität – zeigt, dass dieses Ziel realistisch ist.

Eine deutliche (ca. 10-fache) Erhöhung der zellulären Wasserspaltungsaktivität konnte bereits durch Eingriffe in den photosynthetischen Elektronentransport erreicht werden. Dies geht insbesondere auf die Erzeugung und Verwendung von Mutanten mit deutlich reduzierten lichtabsorbierenden Antennen zurück. Die AG Rögner konnte zeigen, dass diese Reduktion zusätzlich eine wesentlich höhere Wachstumsdichte der Zellen im Photobioreaktor ermöglicht, da der Effekt der gegenseitigen Beschattung der Zellen minimiert wird. Im folgenden Schritt müssen nun die Elektronen auf die importierte Hydrogenase „umgeleitet“ werden, so dass die neue Designzelle hauptsächlich als lebender „Biokatalysator“ und weniger als Biomasserzeugener fungiert.

Auf Seite des Photobioreaktors konnte bereits durch die Entwicklung eines modularen Flachbettreaktors aus Standardmaterialien gemeinsam mit der Firma KSD (s. Abb. 3) ein wesentliches Ziel erreicht werden: Die Reduktion der Herstellungskosten auf unter 10 % herkömmlicher Reaktoren. Gegenwärtig wird der optimierte Lichteintrag mit der Etablierung kontinuierlicher Kulturbedingungen kombiniert. Hierbei können die Kulturen über Monate bei konstanten Bedingungen gehalten werden, was wiederum eine konstante zukünftige H<sub>2</sub>-Produktion der Zellen gewährleisten soll. ||



Autoren

Prof. Dr. Matthias Rögner  
Lehrstuhl für Biochemie der  
Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum  
→ matthias.roegner@rub.de



Prof. Dr. Thomas Happe  
Lehrstuhl für Biochemie der  
Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum  
→ thomas.happe@rub.de