

Bochum – Bioenergie

Wasserstoff aus der Alge



Thomas Happe (mit grünem Schal) und seine *Chlamydomonas*-Arbeitsgruppe

■ Grünalgen können nicht nur Photosynthese, manche sind auch Experten im Umgang mit Wasserstoff. Wie und warum *Chlamydomonas reinhardtii* das Gas produziert, untersucht das Team von Thomas Happe von der Ruhr-Uni in Bochum.

Chlamydomonas reinhardtii ist eine Überlebenskünstlerin – und das ist es, was Thomas Happe so fasziniert an der einzelligen, begeißelten Grünalge, die man in jeder Pflanze findet. Sie kann autotroph oder heterotroph leben und dabei Energie über verschiedene Wege gewinnen. Sie kann dabei nicht nur Sauerstoff bilden, sondern auch Wasserstoff. Der gilt als ein möglicher klimafreundlicher Energieträger.

Könnten wir also irgendwann total ökomäßig mit „Wasserstoff aus Photosynthese“ Auto fahren? „Nee, das geht wohl eher nicht“, sagt Happe. Angesichts der Vorstellung von grünem Algensprit grinst er breit unter seinem Schnauzbart. „Die Algen produzieren erstens zu wenig Wasserstoff und zweitens stoppen sie die Wasserstoffproduktion, sowie sie mit Sauerstoff in Berührung kommen.“

Dennoch fasziniert die kleine Alge den Leiter der Arbeitsgruppe Photobiotechnologie an der Ruhr-Universität in Bochum seit Jahren. Schon während seiner Doktorarbeit beschäftigte er sich mit dem Einzeller. „Die Produktion von Wasserstoff ist für die Alge eigentlich eine Art Notlösung“, sagt Happe. Die Notlösung bescherte dem Mann aus dem Ruhrgebiet viele Publikationen, allein im Jahr 2009 waren es 10 Artikel.

Damit die Alge genug Futter für Publikationen hergibt, muss Happe sie auf Diät setzen. Dann tut sie, was der Forscher untersuchen will: Wasserstoff produzieren. „Sie braucht dann den Wasserstoff, um die Elektronen, die sie mit der Photosynthese produziert, loszuwerden“, erklärt Happe. Normalerweise wird die Reduktionskraft genutzt, um NADPH zu bilden, das wiederum im Calvin-Zyklus für die CO₂-Fixierung benötigt wird. Unter Schwefelmangel wird der Calvin-Zyklus aber abgeschaltet und es würde zu einem Elektronenstau kommen. In diesem Fall wirkt eine Hydrogenase wie eine Art Ablassventil, um die überschüssigen Elektronen los zu werden.

H₂ nur bei Mangel

Okay, die Vorlesung zur Photosynthese ist vielleicht schon ein Weilchen her, deshalb schauen wir uns das jetzt nochmal an. Die Lichtenergie setzen die Grünalgen während der Photosynthese in die Produktion energiereicher Elektronen um, womit sie letztlich NADP⁺ zu NADPH reduzieren und ADP zu ATP phosphorylieren. Beides brauchen sie, um aus CO₂ und Wasser Zucker zu bauen. Fehlen ihr Nährstoffe, um Zucker zu bilden, bleibt *C. reinhardtii* auf ihren Elektronen sitzen. Um sie loszuwer-

den und den Energiehaushalt im Gleichgewicht zu halten – denn die Photosynthese kann sie im Licht nicht einfach abschalten – schwenkt die Alge um auf Wasserstoffsynthese.

Diese Eigenschaft des Einzellers ist schon lange bekannt: 1940 hat der Photosynthese-Experte Hans Gaffron entdeckt, dass die Grünalge manchmal von Sauerstoff- auf Wasserstoffproduktion umschaltet. Anatasios Melis fand vor zehn Jahren heraus, dass Schwefelmangel diese Umstellung auslösen kann. Happe identifizierte schließlich während seiner Doktorarbeit bei Dirk Naber eine Hydrogenase als Wasserstoffproduzenten und isolierte sie 1993. Es stellte sich heraus, dass das Enzym für eine Hydrogenase nicht nur außergewöhnlich klein – ein Monomer –, sondern außerdem ein Fe-Fe-Enzym ist.

Verwandtschaftsaufklärung

Dies sorgte für Diskussion unter den Fachleuten. Denn *C. reinhardtii* sollte nach damaliger Theorie die Fähigkeit zur Photosynthese durch eine Symbiose mit Cyanobakterien erlangt haben. Diese Bakterien aber haben ausschließlich Ni-Fe-Hydrogenasen. „Das passte nicht ins Konzept und deshalb hat nicht jeder meine Ergebnisse wahrhaben und akzeptieren wollen“, erinnert sich Happe.

Er aber war sich seiner Sache sicher und nahm an, dass das Enzym ursprünglich von Protobakterien stammt. Bei den Kollegen legte sich die Skepsis aber erst, als Happe 2001 das Gen für das Enzym aus der Grünalge *Scenedesmus obliquus*, dann auch aus *C. reinhardtii* isolierte. „Damit war die Diskussion beendet“, stellt Happe fest. Aber die Forschung ging nun erst richtig los.

Das Gen war für die weiteren Experimente wichtig.



Chlamydomonas reinhardtii – Algen als Energielieferanten der Zukunft?

Happes Gruppe konnte damit ein transgenes Expressionssystem entwickeln, in dem sich das Gen gezielt mutieren lässt. Als neuen Wirt verwendeten sie *Clostridium acetobutylicum*. Diese Bakterien stinken zwar erbärmlich und gebärden sich im Labor als Sensibelchen, aber sie produzieren bis zu 2-3 Milligramm Enzym pro Liter Bakterienlösung. Das ist 1000 mal mehr als Algen in Kultur herstellen.

Damit waren biophysikalische und biochemische Messungen möglich. Beispielsweise untersucht Happes Doktorand Sven Stripp, warum die Hydrogenase so empfindlich auf Sauerstoff reagiert. Dass es so ist, findet Happe logisch, denn schließlich sei das Enzym entstanden, als es auf der Erde noch keinen Sauerstoff gab.

Mit Unterstützung aus Oxford und Berlin machte Stripp Strukturanalysen und bioelektronische Untersuchungen an dem Enzym. Er stellte fest, dass der Sauerstoff sich, wie der Wasserstoff auch, an ein Cluster aus zwei Eisen- und zwei Schwefelatomen des Enzyms anlagert. Die Sauerstoffmoleküle nehmen dort Elektronen auf und werden zu Radikalen. Diese zerstören irreversibel einen weiteren Eisen-Schwefel-Cluster aus jeweils vier Eisen- und Schwefelatomen – ja, auf dem gleichen Enzym.

Licht an und los

Wie der Elektronentransport genau funktioniert, wie die Hydrogenase die aus der Photosynthese gewonnenen Elektronen auf die Protonen transferiert, untersuchte Martin Winkler im Rahmen seiner Doktorarbeit. Dafür kopierte er in Zusammenarbeit mit Kollegen der Universität Münster die Wasserstoffproduktion im Reagenzglas. Die Forscher isolierten die einzelnen Komponenten der Produktionskette – Photosynthesekomplex I, den Elektronenvermittler Ferredoxin (PetF) und die Hydrogenase HydA1 – steckten alles ins Reagenzglas, Licht drauf, und schon nach wenigen Minuten konnten sie Wasserstoff messen.

„Dieses System erzeugt sechsmal so viel Wasserstoff wie eines, über das amerikanische Kollegen erst kürzlich berichtet haben“, sagt Winkler. Um den Elektronentransport aufzuklären, kreierte sie Mutanten der Hydrogenase und von PetF und identifizierten damit diejenigen Stellen, an denen die Enzyme miteinander in Kontakt treten.

Mit diesem Wissen suchen die Forscher nun nach Möglichkeiten, die Hydrogenase so zu verändern, dass sie unempfindlich(er) gegenüber Luftsauer-

stoff ist. „Wir nutzen dabei die Methoden der gerichteten Evolution“, erklärt Happe, denn *C. reinhardtii* lässt sich genetisch gut manipulieren, eine Voraussetzung für diese Experimente.

Diese Arbeiten wird Martin Winkler weiterführen. „Die dafür nötigen Apparate, allen voran ein Roboter für das Screenen von Mutanten, für die automatisierte Aufzucht und so weiter stehen schon im Labor und warten darauf, in das Zelt zu kommen“, sagt Winkler. In das Zelt? In der Tat, weil sich die Hydrogenasen so mimosenhaft benehmen, wenn sie mit ein paar Molekülen Sauerstoff in Berührung kommen, müssen die Forscher sämtliche Experimente in sauerstofffreien Zelten durchführen. Alle Geräte müssen in diese Zelte eingeschleust, alle Puffer zuvor entgast werden. Ziemlich mühselig. Man lerne, sich und die Experimente gut zu organisieren, meinen die Forscher.

Noch von einer anderen Seite nähern sich die Forscher dem Enzym. Die Postdoktorandin Anja Hemschemeier entdeckte, dass Mutanten, die keine aktive Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase mehr herstellen, mithin also kein CO₂ fixieren können, Wasserstoff auch in Anwesenheit von Schwefel bilden können.

Energielieferantin Alge

Ziel aller Untersuchungen ist nicht nur das Streben nach Wissen – auch wenn sich Happe als eherner Grundlagenforscher versteht. Er arbeite mit Ingenieuren und Biotechnologen zusammen, erklärt er, um zu testen, ob und wie sich die Alge oder deren Enzyme als Wasserstoffquelle nutzen ließen.

Das Enzym immerhin ist extrem produktiv. Ein Mol Hydrogenase – das entspricht 40 Kilogramm Protein – könne in 10 Sekunden einen Zeppelin mit Wasserstoff füllen, so schnell arbeiteten die Enzyme, sagt Happe. Diese hohe Umsatzrate aber ist nur eine Rechenübung, im Fermenter oder Reaktionstank begrenzen Nährstoffe, Licht und Sauerstoff die Ausbeute.

Daher will man eine „biologische Designzelle“ entwickeln, die mehr Wasserstoff produziert als die Alge *C. reinhardtii*. Für dieses Projekt, an dem außer der AG Photobiotechnologie sieben weitere Gruppen arbeiten, lässt das BMBF 4,3 Millionen Euro springen. Dieses nach Ministeriumsangaben größte Verbundprojekt zur Wasserstoffproduktion wird ihm Rahmen des Förderprogramms „Grundlagenforschung Energie 2020+“ finanziert.

KARIN HOLLRICHER