

Bakterien für den Klimaschutz

Alltagstaugliche Wasserstoffspeicherung und die Aussicht auf den Abbau von Kohlendioxid

Diese Entdeckung war fast zu schön, um wahr zu sein: Mitglieder der Arbeitsgruppe von Volker Müller, Leiter der Abteilung Molekulare „Mikrobiologie und Bioenergetik“ an der Goethe-Universität, fanden 2013 ein bemerkenswertes Enzym: die „wasserstoffabhängige CO₂-Reduktase“ – nach den Anfangsbuchstaben (der englischen Bezeichnung) auch als HDCR bezeichnet. Als einziges bekanntes Enzym verarbeitet HDCR nichts anderes als die Gase Wasserstoff (H₂) und Kohlendioxid (CO₂) und bewirkt, dass aus ihnen Ameisensäure entsteht. Oder anders ausgedrückt: HDCR speichert den Wasserstoff in Form von Ameisensäure – diese hat eine ausgesprochen praktische Eigenschaft: Sie ist flüssig. Wasserstoff kann auf diese Weise also sehr viel einfacher und risikoärmer gespeichert, transportiert und zur Energieerzeugung eingesetzt werden, als das mit dem äußerst explosiven Gas H₂ möglich wäre. Erst dadurch sollte es realistisch sein, auch im Alltag Wasserstoff als CO₂-neutralen Energieträger der Zukunft zu nutzen.

Das Wort „Reduktase“ im Namen des Enzyms weist dabei darauf hin, dass sich bei der Herstellung von Ameisensäure aus H₂ und CO₂ die elektronische Struktur der beteiligten Atome/Moleküle ändert: Der Wasserstoff gibt Elektronen an ein CO₂-Molekül weiter, und an dieser Elektronen-Transaktion sind keine weiteren Überträger-Moleküle beteiligt. Noch zwei andere Eigenschaften zeichnen das Enzym HDCR aus: Zum einen ist der Prozess der Ameisensäureherstellung vollständig umkehrbar – der so gespeicherte Wasserstoff kann letztlich wieder freigesetzt werden und steht damit wieder als Energieträger zur Verfügung.

Zum anderen beschleunigt das Enzym HDCR die Ameisensäureherstellung äußerst effizient: „Die Raten, mit denen CO₂ und H₂ unter HDCR-Einfluss zu Ameisensäure und zurück reagieren, sind die höchsten je gemessenen“, berichtet Müller, „sie sind um ein Vielfaches größer als bei anderen biologischen oder chemischen Katalysatoren.“ Und anders als beim Einsatz chemischer Katalysatoren komme die Ameisensäureherstellung mittels HDCR ohne teure Edelmetall-Katalysatoren und ohne Extrembedingungen wie hohe Drücke und große Hitze aus, fügt er hinzu.

Unscheinbar, aber entscheidend

Das Enzym HDCR kommt im Zytoplasma verschiedener Bakterien vor: so etwa in dem hitzliebenden Bakterium *Thermoanaerobacter kivui* (*T. kivui*), das unter Luftabschluss beispielsweise im Schlamm des ostafrikanischen Kivu-Sees lebt, ebenso wie in *Acetobacterium woodii* (*A. woodii*), das gemäßigte Temperaturen bevorzugt. Als Müller und Mitglieder seiner Arbeitsgruppe vor zehn Jahren begannen, die HDCR im Labor zu untersuchen, stellten sie allerdings fest, dass ihrem Einsatz in der praktischen Ameisensäureproduktion (und damit der Speicherung von Wasserstoff) ein auf den ersten Blick unscheinbares, tatsächlich aber entscheidendes Detail im Weg stand: HDCR ist extrem sauerstoffempfindlich, schon winzigste Mengen an Sauerstoff bewirken, dass das Enzym seine Aufgabe bei der Herstellung von Ameisensäure nicht mehr erfüllen kann.

Der Bioreaktor, den Fabian Schwarz jetzt während seiner Doktorarbeit in Müllers

Arbeitsgruppe entwickelt hat, umgeht dieses Problem auf ebenso einfache wie elegante Weise: In diesem Bioreaktor wird das Enzym HDCR gar nicht erst aus den Bakterien isoliert, sondern in seiner „natürlichen Umgebung“, dem Zytoplasma der Bakterien, belassen. „Wir stellen unseren Bioreaktor in ‚Joule‘ vor, einem angesehenen Fachmagazin für chemische und physikalische Verfahrenstechnik“, sagt Müller, „und wir demonstrieren, wie er für mehr als zwei Wochen sehr stabil gelaufen ist.“ Dass das Paper der Frankfurter Mikrobiologen in „Joule“ zur Veröffentlichung angenommen wurde, belege die Alltagstauglichkeit des Verfahrens.

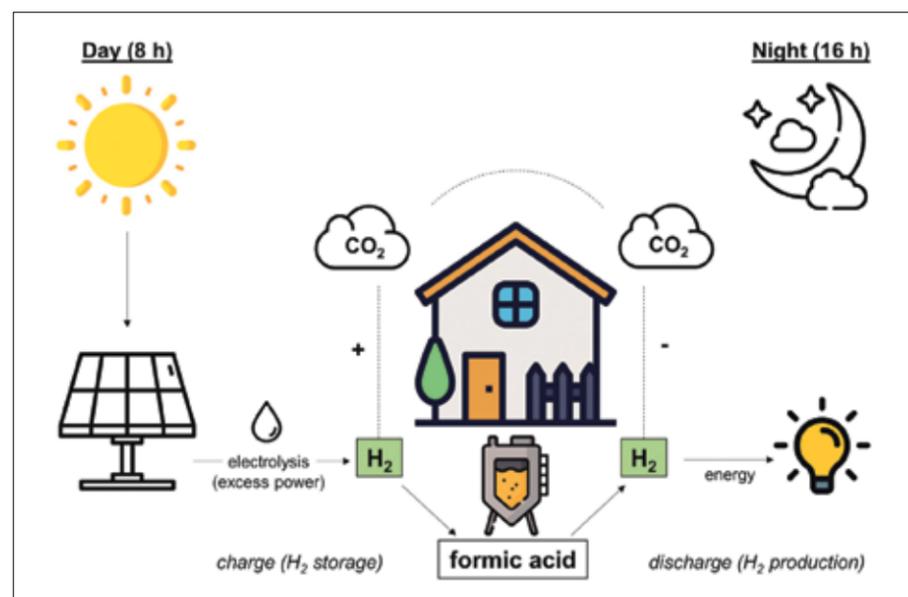
Zu diesem Verfahren gehört, dass die Bakterien des Bioreaktors während einer achtstündigen „Tagphase“ mit Wasserstoff und

ung verloren gehen; um das zu vermeiden, haben die Forschenden den Bioreaktor mit genetisch veränderten *A. woodii*-Bakterien betrieben, in denen die Essigsäurebildung unterdrückt ist.

Charakteristisch für den von Schwarz und Müller entwickelten Bioreaktor ist, dass beide Reaktionsrichtungen, sowohl die Bildung von Ameisensäure als auch die Freisetzung von Wasserstoff, in ein und derselben Anlage ablaufen – insbesondere das ist sinnvoll, wenn kommunale Energieversorger und sogar Privathaushalte das Verfahren „auf dem heimischen Balkon“ nutzen wollen. Theoretisch wird dabei während der Tagphase sogar Kohlendioxid aus der Luft entfernt – allerdings wird dieses im Verlauf des Bioreaktorbetriebs (während der Nacht-

wir: Sie müssen es sein, die bei der Ameisensäureherstellung Elektronen von einem Teil des Enzyms zum anderen leiten“, sagt Müller, „hier passiert also die Elektronen-Transaktion, die für die Enzym-Aktivität der Reduktase HDCR entscheidend ist.“ Müller, seine Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter sowie Forscher aus Marburg und Basel griffen allerdings noch tief in die Trickkiste, um das zu beweisen – dafür wurden sie jetzt mit einer Veröffentlichung im hoch angesehenen Wissenschaftsmagazin „Nature“ belohnt; indem sie die Struktur von HDCR atomgenau aufklärten, fanden die Forscher heraus, wie die Bildung von Ameisensäure im Einzelnen abläuft. Sie ermittelten, wie die Speicherung von Wasserstoff in Form von (flüssiger) Ameisensäure funktioniert und warum sie so effizient abläuft, dass dieser Mechanismus sich als Funktionsprinzip eines alltagstauglichen Bioreaktors eignet.

Nachdem sie die Bakterien und ihre HDCR zunächst noch mit einem konventionellen Elektronenmikroskop betrachtet hatten, untersuchten sie diese nämlich jetzt mittels Kryo-Elektronenmikroskopie: Das ist zwar „einfach“ Elektronenmikroskopie, bei der das Untersuchungsobjekt beispielsweise von flüssigem Stickstoff (-196°C) oder flüssigem Helium (-269°C) gekühlt wird. Aber weil erstens bei diesem Verfahren leistungsfähigere Kameras eingesetzt werden, weil zweitens die Aufnahmen bei tiefen Temperaturen weniger durch die Eigenbewegungen der Atome und Moleküle „verwackeln“ und weil drittens die Mikroskopaufnahmen durch aufwendige Berechnungen ergänzt werden, liefert Kryo-Elektronenmikroskopie Bilder mit atomarer Auflösung.



Schematic cycle of future bi-directional H₂ storage via direct hydrogenation of CO₂ to formate using a single bioreactor. Schwarz et al., *Joule* 6, 1304–1319 June 15, 2022.

Kohlendioxid versorgt werden, so dass sie daraus mit Hilfe des Enzyms HDCR Ameisensäure bilden, mit anderen Worten: so dass sie den Wasserstoff in Form von Ameisensäure speichern. Während der folgenden 16-stündigen „Nachtphase“ werden die Bakterien von der Wasserstoffzufuhr abgeschnitten und setzen den Wasserstoff daraufhin vollständig wieder frei.

Wasserstoff aus regenerativen Quellen

Dabei deuten die Bezeichnungen „Tag“ und „Nacht“ schon an, dass dieser nicht mit irgendwelchem Wasserstoff betrieben werden soll, sondern mit nachhaltig produziertem, also „grünem“ Wasserstoff. H₂ wird nämlich durch Elektrolyse aus Wasser (H₂O) gewonnen: indem man das Wasser „unter Strom setzt“, und dieser Strom stammt im Fall von grünem Wasserstoff aus regenerativen Quellen, wird also typischerweise von Solarzellen in Photovoltaikanlagen erzeugt. Das heißt, der Wasserstoff steht am Tag zur Verfügung – „eben wenn die Sonne scheint“, kommentiert Müller.

Von alleine bleibt es allerdings nicht dabei, dass Ameisensäure entsteht: Normalerweise reagiert Ameisensäure weiter zu Essigsäure – und die Essigsäure kann (anders als Ameisensäure) nicht einfach wieder in die gasförmigen Ausgangsprodukte Wasserstoff (H₂) und Kohlendioxid (CO₂) zurückverwandelt werden. Durch die Folgereaktion zu Essigsäure würde also ein Teil des gespeicherten Wasserstoffs für die Energieerzeugung

wieder freigesetzt, so dass der CO₂-Gehalt der Atmosphäre insgesamt gleich bleibt.

Per Saldo Kohlendioxid aus der Atmosphäre zu entfernen, erscheint allerdings erst jetzt nicht nur Wunschtraum oder Science-Fiction zu sein – die Voraussetzung dafür sind weitere Erkenntnisse aus Müllers Arbeitsgruppe: Nachdem deren Mitglieder das Enzym HDCR entdeckt und bei ersten Untersuchungen herausgefunden hatten, dass schon kleinste Mengen an (Luft-)Sauerstoff ausreichen, es funktionsunfähig zu machen, wandten sie sich nämlich nicht nur der Entwicklung des Bioreaktors zu, also einer möglichen (wichtigen!) Anwendung, die Probleme durch den Einfluss von Sauerstoff ganz einfach umgeht.

Struktur und Funktionsprinzip

Anhand der HDCR des in Ostafrika entdeckten Bakteriums *T. kivui* untersuchten sie außerdem, wie das Enzym im Einzelnen aufgebaut ist – in der Erwartung, dass seine Struktur ihnen auch etwas über die Funktionsweise verrät. Dabei stellten sie zunächst fest, dass das Enzym HDCR aus vier Modulen besteht: eines, an dem die H₂-Moleküle, aus denen gasförmiger Wasserstoff besteht, aufgespalten werden. Dann zwei kleine Module, die jeweils Eisen und Schwefel enthalten. Und schließlich eines, an dem aus Kohlendioxid Ameisensäure gebildet wird.

„Als wir die kleinen Eisen-Schwefel-Untereinheiten gefunden hatten, wussten

Rätselhafte Filamente

Schon 2016 hatten Mitglieder aus Müllers Arbeitsgruppe beobachtet, dass HDCR lange Fäden (Filamente) bildet – das tun nur sehr wenige Enzyme. Müller berichtet: „Dass diese fädige Struktur wichtig für das Funktionieren des Enzyms war, konnten wir schon erkennen, als wir stattdessen die HDCR von genetisch minimal veränderten Bakterien untersuchten; deren manipulierte HDCR, die keine Filamente bildete, wies folglich eine stark verringerte Enzym-Aktivität auf.“

Welche Rolle die Filamente im Einzelnen spielen, sollte allerdings erst danach mithilfe der Kryo-Elektronenmikroskopie aufgeklärt werden; zusammen mit Wissenschaftlern vom „Zentrum für synthetische Mikrobiologie“ der Philipps-Universität Marburg haben Müller und sein Team festgestellt, dass das Rückgrat der Filamente jeweils aus den beiden kleinen Untereinheiten der HDCR besteht, die Eisen und Schwefel enthalten. „In den Fäden sind also Tausende von elektronenleitenden Eisenatomen zusammengelagert; sie bilden damit eine Art Nanodraht“, berichtet Müller.

Die einzelnen „Momentaufnahmen“ ihrer experimentellen Ergebnisse setzen sich für die Forschenden um Müller damit zu einem „Film“ zusammen, der in acetogenen Bakterien wie beispielsweise *T. kivui* und *A. woodii* abläuft: „Das erste Modul spaltet den Wasserstoff (H₂), dabei werden Elektronen freigesetzt und in den Nanodraht gepumpt“, beschreibt Müller. In dem Draht, der aus dem zweiten und dritten Modul besteht, würden

Frederick W. Alt und David G. Schatz werden mit dem Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preis 2023 ausgezeichnet

Preisträger haben Wissen über die Entwicklung des Immunsystems auf neue Stufe gehoben

Die Immunologen Frederick W. Alt (73) von der Harvard Medical School und David G. Schatz (64) von der Yale Medical School erhalten den Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preis 2023. Das gab der Stiftungsrat der Paul Ehrlich-Stiftung am 20. September bekannt. Die beiden Forscher werden für die Entdeckung von Molekülen und Mechanismen ausgezeichnet, die unser Immunsystem zu der erstaunlichen Leistung befähigen, Milliarden verschiedener Antigene schon beim ersten Kontakt zu erkennen. Die Preise werden am 14. März 2023 um 17 Uhr vom Vorsitzenden des Stiftungsrates der Paul Ehrlich-Stiftung in der Frankfurter Paulskirche verliehen.

Über die Fähigkeit, Antigene abzufangen, verfügen sowohl die von B-Zellen gebildeten Antikörper als auch Strukturen auf der Oberfläche von T-Zellen. Zusammenfassend werden sie als Antigenrezeptoren bezeichnet. Ihre ungeheure Vielfalt ist in erster Linie einer lotterieähnlichen Kombination verschiedener Genbruchstücke zu funktionsfähigen Genen zu verdanken. Das wurde am Beispiel von Antikörpern vor fast 50 Jahren erstmals gezeigt. Die Details dieser somatischen Rekombination blieben aber weitgehend im Dunkeln, bevor Alt und Schatz zunehmend Licht in die Sache brachten. „Das Bild, das wir heute von der Diversifikation von Antigenrezeptoren im Immunsystem von Wirbeltieren haben, ist vor allem den beiden Preisträgern zu verdanken“, erklärt der Vorsitzende des Stiftungsrates, Prof. Dr. Thomas Boehm. „Sie haben unser Wissen über die Entwicklung des Immunsystems auf eine neue Stufe gehoben.“

Antigenrezeptoren sind Proteine, die aus konstanten und variablen Anteilen bestehen. In jedem Antikörper zum Beispiel sind zwei schwere und zwei leichte Ketten zu einem Ypsilon zusammengefügt. Von den variablen Anteilen in den Armen des Ypsilon hängt es ab, welches Antigen der Antikörper erkennen kann. In jeder B-Zelle in unserem Knochenmark reift ein anderer Antikörper heran. Insgesamt kann unser Körper rund zehn Milliarden verschiedene Antikörper bauen, obwohl er nur über rund 20.000 Proteinbaupläne in



Frederick W. Alt ist Charles A. Janeway Professor of Pediatrics und Director of the Program in Cellular and Molecular Medicine am Boston Children's Hospital, Howard Hughes Medical Institute Investigator und Professor of Genetics an der Harvard Medical School.

<https://www.childrenshospital.org/research/labs/alt-laboratory-research>

Form von Genen verfügt. Das gelingt ihm durch Anwendung eines außerordentlich wagemutigen Verfahrens, das das Zerschneiden und Zusammensetzen der Erbinformation DNA auf bestimmten Chromosomen heranreifender Lymphozyten zur Norm macht.

Diese Schnitte vollzieht der von David Schatz und Kollegen entdeckte Enzymkomplex RAG1/2 an vorbestimmten Stellen. Für die Bildung der variablen Anteile schwerer Antikörperketten liegen diese Stellen auf Chromosom 14. Dort flankieren sie relativ weit auseinanderliegende Abschnitte in drei verschiedenen Bereichen, die V (für *variable*), D (für *diversity*) und J (für *joining*) genannt werden. Aus jedem dieser Bereiche schneidet RAG1/2 für jeden Antikörper einen zufälligen Abschnitt heraus. DNA-Reparaturenzyme fügen daraus ein VDJ-Gen für die variable Region einer schweren Kette zusammen. Frederick Alt entdeckte die Reparaturenzyme, deren Zusammenwirken zur Verknüpfung der ausgeschnittenen Abschnitte führt. Im nächsten Schritt der B-Zell-Reifung werden auf vergleichbare Art die leichten Ketten gebildet, allerdings kommt es in diesem Fall nur zu einer VJ-Rekombination.

Die RAG-Enzyme wandern jedoch nicht ziellos durch den Zellkern unreifer Lymphozyten. Im Gegenteil, sie führen die Chroma-



David G. Schatz ist Professor of Molecular Biophysics and Biochemistry an der Yale University and Chairperson of the Department of Immunobiology an der Yale School of Medicine.

https://medicine.yale.edu/profile/david_schatz

tinfiläden, in denen die DNA platzsparend aufgewickelt ist, vorübergehend immer wieder zu V(D)J-Rekombinationszentren zusammen. Dort nehmen sie ein Chromatin-Scanning vor. Dabei zieht eine Chromatinschleife, die mehr als eine Million DNA-Buchstaben lang sein kann, durch das Rekombinationszentrum, so dass weit auseinanderliegende Textabschnitte sicher miteinander verknüpft werden können. Der von Frederick Alt beschriebene loop extrusion-Mechanismus der V(D)J-Rekombination erklärt in eleganter Weise, wie diese Schlaufen entstehen und durch das Rekombinationszentrum hindurchgezogen werden.

Frederick Alt hat weitere entscheidende Beiträge zum Verständnis der Antigenrezeptordiversität geleistet. So gelang es ihm zu zeigen, dass die kombinatorische Vielfalt durch das enzymatische Einfügen sehr kurzer zufälliger DNA-Sequenzen, N-Nukleotide genannt, an den Schnittstellen der zu verknüpfenden Gensegmente um ein Vielfaches gesteigert wird. In B-Zellen wird die Antikörper-Vielfalt durch das Phänomen der somatischen Hypermutation weiter potenziert. Dabei wird die normale Rate von Mutationen, die nur einen DNA-Buchstaben betreffen, in den Regionen der V-Segmente durch ein Enzym millionenfach erhöht. Alt, Schatz und andere zeigten auf, wie das Enzym

seine Arbeit zielgenau verrichtet. Damit schufen sie einen Rahmen zur Lösung der Frage, wie sich B-Zellen die enorme Mutationsfähigkeit von AID für die Antikörperreifung zunutze machen können, ohne Gefahr zu laufen, dabei tumorauslösende Mutationen zu erleiden.

Ohne den Rekombinations-aktivierenden Enzymkomplex RAG1/2 ist die Diversifikation von Antigenrezeptoren unmöglich, die Reifung der Lymphozyten gestört und ein schwerer Immundefekt die Folge. Umso bemerkenswerter ist es, dass RAG1/2 ursprünglich offenbar ein springendes Gen war – ein Transposon. Das sind eigennützige DNA-Parasiten, die sich irgendwann in unser Genom eingeschlichen haben und dort von einer Stelle zu einer anderen gelangen können. Aufgrund ihrer unkontrollierten Verteilung können sie in die Entstehung von Krankheiten involviert sein. RAG1/2 stammt nach den Erkenntnissen von David Schatz von einem Transposon ab, das alle kiefertragenden Wirbeltiere, zu denen wir Menschen gehören, sehr früh in der Evolution zu ihren eigenen Zwecken gezähmt haben. Damit es nicht weiterspringen kann, mussten sie es fixieren. Welche biochemischen Mechanismen sie dafür anwandten, hat Schatz gezeigt. Außerdem konnte er in strukturellen Studien den Akt der Transposition über mehrere Stufen nachvollziehen. Damit eröffnet er der Wissenschaft einen faszinierenden Blick zurück auf einen revolutionären Vorgang am Beginn der Wirbeltier-Evolution: die Ausbildung des adaptiven Immunsystems zusätzlich zu der schon bestehenden angeborenen Immunität. An diesen Blick der Grundlagenforschung anknüpfend, wird die translationale Forschung neue therapeutische Perspektiven für Krankheiten erschließen können, bei denen unser Immunsystem eine entscheidende Rolle spielt. **Joachim Pietzsch**

Fortsetzung von Seite 12

die Elektronen dann zum nächstgelegenen CO₂-Molekül transportiert und an dieses weitergegeben. Unter dem Einfluss des vierten Moduls entstehe daraus schließlich Ameisensäure (HCOOH).

„Die beiden Teilreaktionen, die an dem ersten und an dem vierten Modul ablaufen, werden also entkoppelt. Sie müssen nicht mehr gleichzeitig stattfinden, weil die Elektronen in dem Nanodraht gewissermaßen zwischengespeichert werden“, erläutert Müller. Das entspreche gerade der Situation, die acetogene Bakterien in den Natur vorfinden: Wenn sie auf eine Blase mit Wasserstoff trafen, könnten sie diesen „verdauen“ und

die freigesetzten Elektronen so lange in dem Faden zwischenspeichern, bis ein CO₂-Molekül verfügbar sei – genau das sei aber nicht ständig der Fall, sagt Müller; der Draht stelle also einen ökologischen Vorteil dar, weil die Bakterien mit seiner Hilfe ihre Stoffwechselprozesse (H₂-Spaltung, Ameisensäurebildung) an die herrschenden Umweltbedingungen anpassen könnten.

Bündel von Enzym-Fäden

Zusammen mit Zellstruktur-Biologen aus Basel habe sein Team außerdem herausgefunden, sagt Müller, dass Hunderte der Filamente umeinander gewunden sind und eine

ringförmige Struktur bilden, die in der Membran der Bakterienzellen verankert ist. „Die Bildung der Filamente und darüber hinaus ihre Bündelung erhöhen ihre Konzentration in der Bakterienzelle ganz beträchtlich“, erläutert er, „damit sind die Bakterien noch besser an geringe oder schwankende Wasserstoffkonzentrationen in ihrer Umgebung angepasst.“

Weil sie inzwischen herausgefunden haben, wie die Bildung von Ameisensäure durch die HDCR abläuft (wenn auch noch nicht in allen Details), können die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler um Volker Müller daran gehen, diesen Prozess zu opti-

mieren. „Zum Beispiel, indem wir die HDCR-Module austauschen, so dass sich die Bakterien nicht mehr von Wasserstoff, sondern zum Beispiel von Kohlenmonoxid ernähren“, sagt er. „Oder indem wir versuchen, das HDCR stabiler zu machen – weniger empfindlich gegenüber Sauerstoff. Oder indem wir einen synthetischen Nanodraht herstellen, mit dem wir Kohlendioxid aus der Atmosphäre einfangen können.“ Mit dem Bioreaktor, den sein (ehemaliger) Doktorand entwickelt hat, ist das, wie gesagt, noch nicht möglich. **Stefanie Hense**