

**Abschlussbericht über das Forschungsvorhaben
„Untersuchungen zur Optimierung der sonnenlichtgetriebenen
Wasserstoffproduktion mit Mikroalgen“**

MBFSt Kennziffer 2420

**durch die Stipendiatinnen Franziska Gutthann und Kristina Lorenzen
am Botanischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
in der Abt. Physiologie und Biotechnologie der Pflanzlichen Zelle
unter Leitung von Prof. Dr. Rüdiger Schulz-Friedrich
im Förderzeitraum 01.07.2003 bis 30.06.2005**

1. Hintergrund

Die Energieversorgung der Menschheit wird derzeit zu einem sehr großen Prozentsatz durch nicht erneuerbare Energiequellen wie Erdöl, Erdgas und Kohle gedeckt. Dabei wird nicht nur das Problem der zunehmenden Verknappung der Energievorräte in immer stärkerem Maße auf uns zukommen, sondern auch Umweltschäden werden derzeit z.B. in Form des Treibhauseffektes aufgrund hoher CO₂-Emissionen erkennbar. Immer deutlicher wird, dass es zu einem Umdenkungsprozess in der Energiegewinnung und der Energieverwertung kommen muss. Energieträger müssen in Zukunft immer mehr nach ihrer Umweltverträglichkeit, gefahrlosen Verwendung und Erneuerbarkeit bewertet werden.

Einer der in Zukunft verstärkt in Betracht kommenden Energieträger, der alle diese Anforderungen erfüllt, ist mit Hilfe der Sonnenenergie erzeugter molekularer Wasserstoff. Neben der Wasserstofferzeugung durch elektrolytische Wasserspaltung mit solar erzeugtem Strom gibt es Bestrebungen, biologisch gebildeten Wasserstoff als umweltverträglichen Energieträger verfügbar zu machen. So gebildeter Wasserstoff kann dann unter Energiefreisetzung mit Sauerstoff reagieren (Knallgasreaktion) und es entsteht dabei wieder Wasser. Die Energie kann vielfältig, z.B. zum Antrieb von Motoren oder in Brennstoffzellen, genutzt werden. Solche Wasserstoff verwertenden Geräte sind technisch bereits realisiert.

Vor etwa 70 Jahren entdeckte Hans Gaffron, dass einzellige Grünalgen in der Lage sind, unter bestimmten Bedingungen Wasserstoff zu produzieren. Seitdem wurde viele Jahre als reine Grundlagenforschung untersucht, woher der Wasserstoff stammt und unter welchen Bedingungen er gebildet wird. Dabei zeigte sich, dass die Photosynthese die Schlüsselfunktion der Energieversorgung für den Prozess der Wasserstoffbildung einnimmt und mit Hilfe eines Enzyms, das ursprünglich in Bakterien gefunden wurde und als "Hydrogenase" bezeichnet wird, der molekulare Wasserstoff aus Protonen und Elektronen gebildet wird (**Abb. 1**).

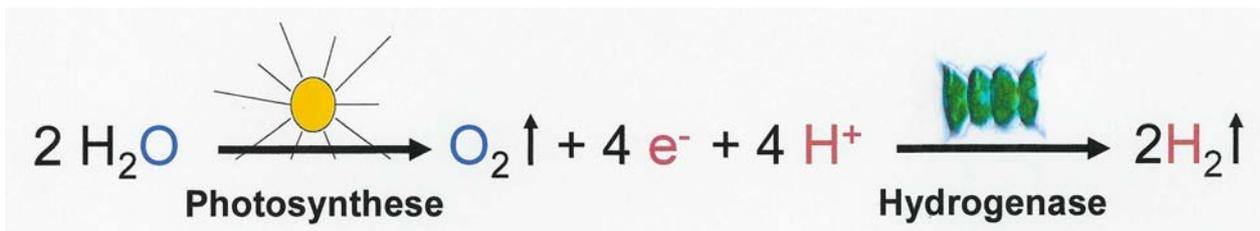


Abb. 1: Wasserstoffbildung durch Mikroalgen mit Hilfe des Sonnenlichtes.

Übergeordnetes Ziel des beantragten Projektes war, die Möglichkeiten zur Produktion des umweltfreundlichen Energieträgers Wasserstoff aus Wasser und Sonnenlicht mit Hilfe der

Photosynthese weiter zu untersuchen und schon vorhandene Möglichkeiten zur Produktion zu optimieren. Während bereits viele Techniken zur Nutzung von Wasserstoff entwickelt sind oder werden, gibt es im Moment noch keine oder nur ineffiziente Möglichkeiten der umweltfreundlichen Gewinnung. Die über Jahrmilliarden in der Evolution entwickelte Photosynthese könnte hier einen wertvollen und bislang unterschätzten Beitrag leisten. Da der Wasserstoff direkt aus Wasser gewonnen würde, entstünde ein echter Kreislauf aus Produktion und Verbrauch (**Abb. 2**).

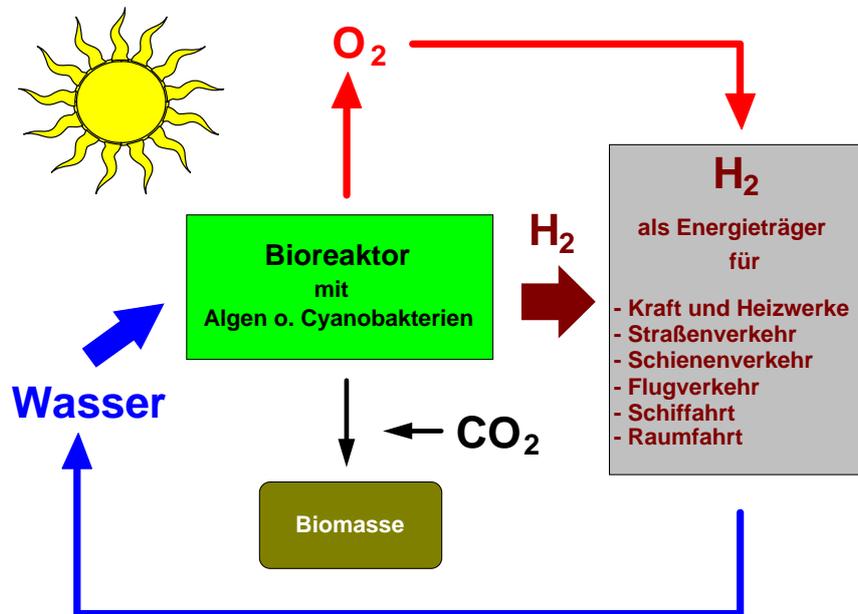


Abb. 2: Denkbare Schema für die Produktion von Wasserstoff mit Hilfe von Algen oder Cyanobakterien und für den Kreislauf aus Produktion und Verbrauch.

Die Fähigkeit von Mikroorganismen, Wasserstoff umzusetzen, hat sich vermutlich zu einem frühen Zeitpunkt der Entwicklungsgeschichte entwickelt, als die Atmosphäre von Kohlendioxid, Stickstoff, Wasserstoff und Methan dominiert wurde. Es wird angenommen, dass die Wasserstoff-Oxidation Teil eines primitiven energieliefernden Reaktionszyklus war.

Noch heute spielt die Wasserstoffumsetzung eine zentrale Rolle im mikrobiellen Metabolismus. Die Reduktion von Protonen zu Wasserstoff wird von zwei Enzymklassen, den Nitrogenasen und den Hydrogenasen katalysiert. Bioreaktoren zur Produktion von Wasserstoff mit Hilfe der Nitrogenase sind mehrfach aufgebaut und betrieben worden (Borodin et al. 2000, Fedorov et al. 2000). Wegen des hohen ATP-Verbrauchs der Reaktion, ist ihr Wirkungsgrad jedoch gering. Eine technische Nutzung der Nitrogenase zur Wasserstoffproduktion wird daher als ineffizient bewertet (Benemann 2000).

Hydrogenasen sind bisher in nahezu allen Linien der Prokaryonten, in Eukaryonten hingegen nur in Algen, Protozoen und Pilzen gefunden worden (Vignais et al. 2001). Im Gegensatz zur Nitrogenase nutzt die Hydrogenase bei Photosynthese betreibenden Organismen die Energie der Elektronen direkt aus der photosynthetischen Lichtreaktion. Da die Wasserstoffproduktion mit Grünalgen immer mit dem Problem umgehen muss, dass das Schlüsselenzym Hydrogenase in den Grünalgen nur unter sauerstofffreien (anaeroben) Bedingungen arbeitet, beschäftigt sich ein Schwerpunkt der Forschungsarbeiten in meiner Arbeitsgruppe mit der gegenüber Sauerstoff stabileren Hydrogenase der Cyanobakterien. Der Modellorganismus *Synechocystis* sp. PCC 6803 ist dabei in den Mittelpunkt unserer Interessen gerückt.

Die bidirektionale NAD(P)⁺-reduzierende NiFe-Hydrogenase, wie sie in dem oben genannten Untersuchungsorganismus vorkommt, katalysiert sowohl die Reduktion von Protonen zu

molekularem H₂, als auch die Oxidation von H₂. Um die Regulation der NiFe-Hydrogenase aufzuklären, eignet sich das einzellige Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 in besonderem Maße, da es sich natürlicherweise transformieren lässt und seine Gesamtsequenz bekannt ist (Kaneko et al. 1996). *Synechocystis* sp. PCC 6803 gehört zu den nicht stickstofffixierenden Cyanobakterien. *Synechocystis* besitzt wie viele Cyanobakterien einen Photosyntheseapparat, der sehr gut an niedrige Lichtintensitäten angepasst ist. Dies ist v.a. für planktische Arten von Vorteil, da sie sich im Wasserkörper gegenseitig beschatten. Durch Wellenbewegungen können Cyanobakterien jedoch innerhalb weniger Minuten aus unteren Regionen der Wassersäule an die Oberfläche gewirbelt werden und dort hohen Lichtintensitäten ausgesetzt sein. Es wird vermutet, dass die cyanobakterielle NiFe-Hydrogenase als Ventil für den photosynthetischen Elektronentransport arbeitet und im beschriebenen Fall überschüssige Elektronen zur Produktion von Wasserstoff verbraucht. Durch diese Ventilfunktion wird eine Schädigung der Photosysteme verhindert. Untermauert wird diese Hypothese durch vergleichende Messungen am Wildtyp des Cyanobakteriums *Synechocystis* sp. PCC 6803 und Mutanten, denen Teile der Elektronentransportkette oder die Hydrogenasen fehlen (Appel et al. 2000 und unveröffentlichte Arbeiten der AG Schulz-Friedrich).

Dass der Hydrogenase tatsächlich eine Funktion als Elektronenventil bei einer Überlastung der Photosysteme zukommt, wird auch durch massenspektrometrische Messungen bestätigt, wonach *Synechocystis* bei einem schnellen Wechsel von Dunkelheit zu Licht für wenige Sekunden Wasserstoff produziert (Abdel-Basset und Bader 1998). Da die NiFe-Hydrogenase in *Synechocystis* bidirektional ist, wird vermutet, dass die im Wasserstoff gespeicherten Elektronen bei einer Änderung des Redoxzustandes der photosynthetischen Membran wieder in die photosynthetische Elektronentransportkette zurückgespeist werden könnten. Die Reaktionsrichtung der NiFe-Hydrogenase wäre damit abhängig von den physiologischen Bedingungen der Zelle.

Es wird vermutet, dass die bidirektionale NiFe-Hydrogenase in *Synechocystis* mit dem Komplex I (NADH-Dehydrogenase-Komplex) der Atmungskette verbunden ist (Appel und Schulz 1996). In Cyanobakterien sind der Enzymapparat der Photosynthese (Photosystem II, Cyt-b₆f-Komplex, Photosystem I) und der Enzymapparat der Atmungskette (Komplex I, Cyt-b₆f-Komplex, Cyt-a/a₃-Komplex) in einer Membran angeordnet. Beide Elektronentransportketten besitzen mit dem Cyt-b₆f-Komplex das gleiche Modul als Mittelteil. Es steht über den Plastochinonpool sowohl mit Photosystem II, als auch mit dem Komplex I in Verbindung. Der Komplex I wird in *E. coli* durch 14 *nuo*-Gene codiert, von denen nur 11 homologe Gene in *Synechocystis* gefunden wurden. Da drei der Gene des Hydrogenaseoperons (*hoxEFU*) starke Homologien zu den fehlenden *nuo*-Genen (*nuoEFG*) aufweisen, wurde die These aufgestellt, dass diese deren Funktion in Cyanobakterien übernehmen (Appel und Schulz 1996, Schmitz und Bothe 1996). Eine unmittelbare Verbindung der Hydrogenase mit dem Komplex I wird auch durch Western-Blot Analysen unterstützt, in denen das an sich lösliche Hydrogenase-Protein als Anreicherung in isolierten Thylakoidmembranen nachgewiesen wurde (Appel et al. 2000).

2. Fragestellung des Forschungsvorhabens

- Eine bereits vorhandene Kollektion von Stoffwechselmutanten und einige neu zu erstellenden Mutanten im einzelligen Cyanobakterium *Synechocystis* spec. PCC 6803 sollten mit Hilfe von molekularbiologischen, biochemischen und physiologischen Methoden weiter charakterisiert werden, um weitere Rückschlüsse über ihr Potential im Hinblick auf die Verwendung bei der Produktion von Biowasserstoff zu gewinnen.

- Mit Untersuchungen zur Enzymaktivität der Hydrogenase soll geklärt werden, ob andere am Elektroentransport beteiligte Komponenten einen Einfluss auf die Enzymmenge haben, um ein

umfassenderes Bild von der Hydrogenase und ihren Aufgaben im photosynthetischen Elektronentransport zu erhalten.

- Abschätzung der technischen Machbarkeit der biologischen Wasserstoffgewinnung in Cyanobakterien

3. Ergebnisse

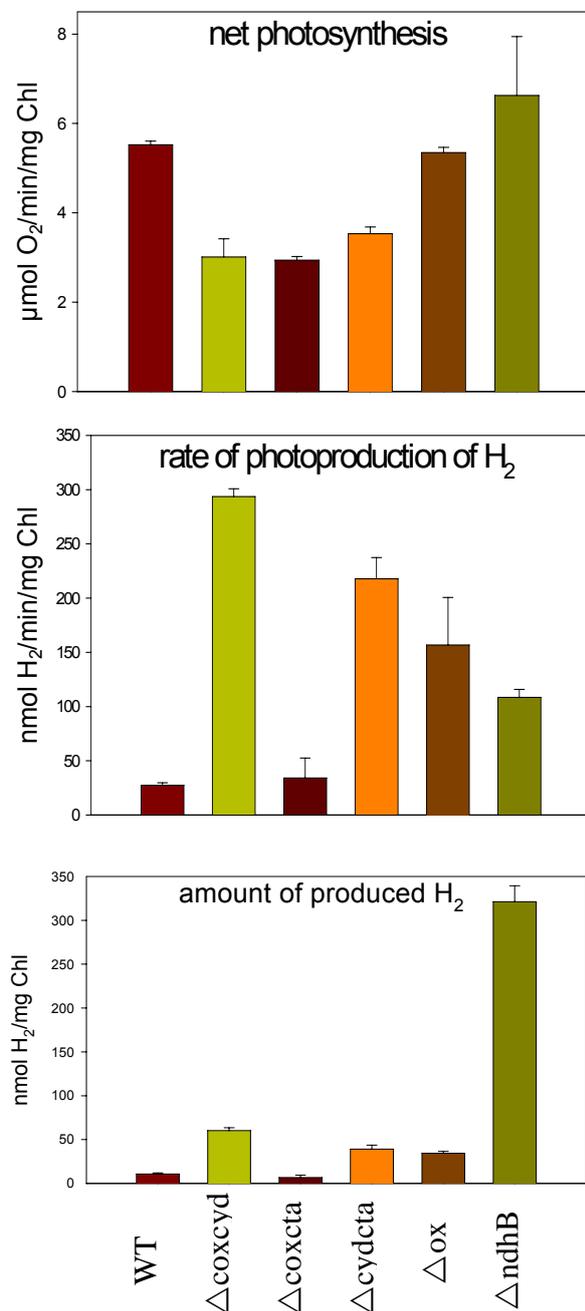


Abb. 3: Vergleichende Messungen der Photosyntheserate und Wasserstoffproduktion an *Synechocystis* sp. PCC 6803. Die Abbildungen von oben nach unten: Photosyntheserate, Rate der Photowasserstoffproduktion, Menge des produzierten Photowasserstoffs. (Weitere Erklärungen im Text.)

Um die Funktion eines Enzyms oder Proteins zu klären eignen sich Mutationsanalysen. Zur Untersuchung der Kopplung der Hydrogenase an den Elektronentransport und der Regulation wurden in unserer Arbeitsgruppe Mutanten des Cyanobakteriums *Synechocystis* sp. PCC 6803 untersucht, denen eine oder mehrere Komponenten (Quinol-Oxidase, Cytochrom-Oxidase I + II, Komplex I) des respiratorischen Elektronentransports fehlen (Pils et al. 1997, Pils und Schmetterer 2001, Howitt und Vermaas 1998, Ogawa 1991). Diese verschiedenen Mutanten wurden auf ihre Kapazität zur Photowasserstoffproduktion und zur Photosyntheserate untersucht. Es zeigte sich, dass einige dieser Mutanten bei einem Dunkel-Licht-Wechsel eine deutlich höhere Photowasserstoffproduktion aufweisen, als der Wildtyp (**Abb. 3**).

Besonders stark ausgeprägt ist diese Photowasserstoffproduktion bei der Mutante ΔndhB . In dieser Mutante wird der Komplex I aus der Elektronentransportkette nicht mehr zusammgebaut und der zyklische Transport der Elektronen ist gestört. Somit können die Elektronen bei Lichtstress nicht mehr schnell genug vom Photosystem I abgeleitet werden. In diesem Fall scheint die Hydrogenase die überschüssigen Elektronen abzuleiten, indem sie Wasserstoff produziert, und verhindert so eine Schädigung der Komplexe in der Kette. Die Messungen zeigen, dass diese Mutante im Vergleich zu anderen Mutanten zwar nicht so schnell Photowasserstoff produziert wie diese, dafür aber über einen längeren Zeitraum hinweg.

Das Ausschalten verschiedener terminaler Oxidasen hat ähnliche Auswirkungen wie das Fehlen des Komplex I (**Abb. 3**). Dabei scheint besonders die Quinoloxidase (Δcyd) eine Rolle zu spielen. Während die Mutanten in denen die Quinoloxidase und jeweils eine andere der Cytochrom Oxidasen (Δcydcta und Δcoxcyd) ausgeschaltet ist gegenüber dem Wildtyp eine

deutlich erhöhte Produktionsrate und Produktionsmenge an Photowasserstoff zeigen, verhält sich die Mutante, in der die beiden Cytochrom Oxidasen ausgeschaltet sind und die Quinoloxidase noch vorhanden ist, wie der Wildtyp. Auch das Ausschalten aller drei Oxidasen (Δox) führt zu einer Steigerung der Photowasserstoffproduktion.

Diese Ergebnisse zeigen die potentielle Eignung dieses Systems zur biologischen Wasserstoffproduktion und zeigen erstmalig Möglichkeiten auf, eine deutliche Steigerung zu erreichen. Es wurden weitere Mutanten angefertigt, denen Untereinheiten des Cytochrom_{b₆f} Komplexes fehlen ($\Delta petC1$, $\Delta petC2$ und $\Delta petC3$). Es wurden drei Gene ausgeschaltet, die für das Rieske Protein kodieren. Das Rieske Protein ist ein Teil des Cytochrom_{b₆f} Komplex und spielt eine wichtige Rolle bei der Weitergabe der Elektronen vom Plastochinonpool and das Plastocyanin. Diese Mutanten sollen nun auf ihre Photowasserstoffproduktion und Photosyntheserate hin untersucht werden. Weiterhin sind Doppelmutanten ($\Delta petC1C2$, $\Delta petC1C3$, $\Delta petC2C3$) und eine Dreifachmutante ($\Delta petC1C2C3$) in Arbeit, auch diese Mutanten sollen in Zukunft hinsichtlich auf ihr Potential zur Biowasserstoffgewinnung untersucht werden.

Western Blots, in denen einzelne Untereinheiten der Hydrogenase detektiert wurden (z.B. HoxF) haben gezeigt, dass es einen Zusammenhang zwischen Hydrogenaseaktivität und der Enzymmenge in der Zelle gibt (**Abb. 4**). Bei der Messung der Aktivität der Hydrogenase handelt es sich in diesem Fall nicht um Photowasserstoffproduktion, sondern um einen Aktivitätstest, der unter anaeroben Bedingungen durchgeführt wird und unabhängig von dem Zustand der Elektronentransportkette ist.

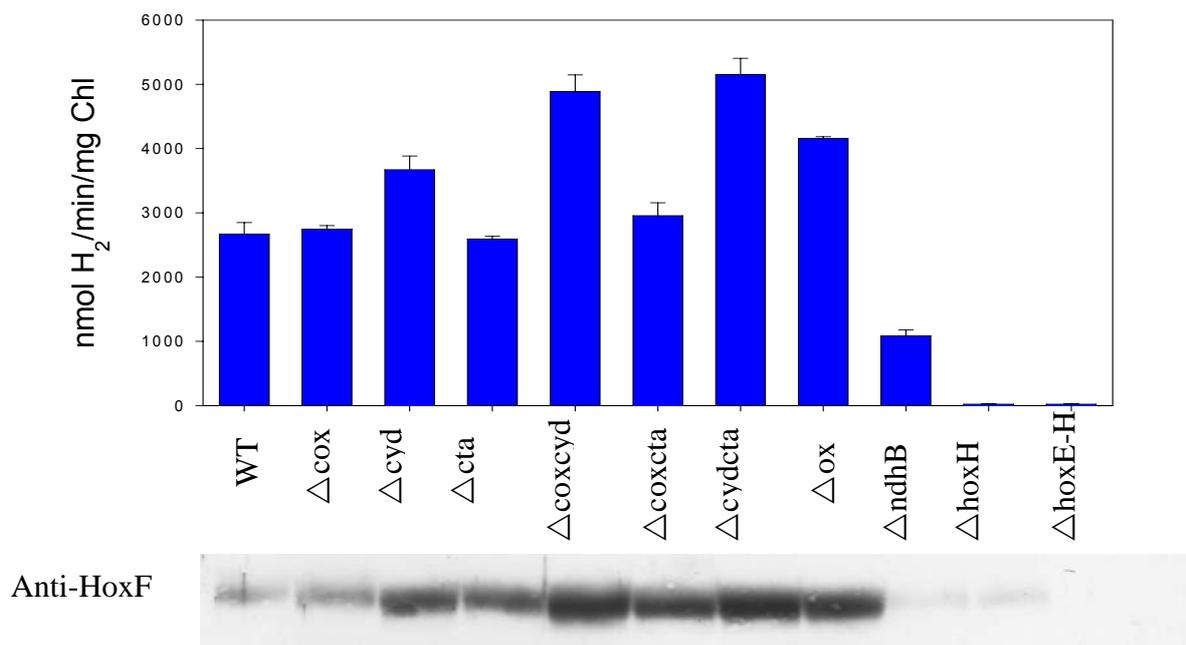


Abb. 4: Zusammenhang zwischen Aktivität und Enzymmenge der Hydrogenase im Wildtyp und verschiedenen Mutanten. (Weitere Erklärungen im Text.)

Diese Untersuchungen und weitere Messungen mit Hemmstoffen gegen bestimmte einzelne Komplexe in der Elektronentransportkette lassen auf folgendes schliessen:

Eine Unterbrechung des zyklischen Elektronentransports durch Verhindern des Zusammenbaus des Komplex I ($\Delta ndhB$) führt zu einer höheren Photowasserstoffproduktion als im Wildtyp. In dieser Mutante ist alles NADP reduziert und der gesamte Plastochinonpool befindet sich in einem oxidierten Zustand. Die Expression der Hydrogenase in dieser Mutante ist geringer als im Wildtyp. Dieses unterstützt die Theorie, dass die Hydrogenase am Komplex I sitzt und dort als

Ventil für überschüssige Elektronen aus der Lichtreaktion fungiert. Schaltet man die Quinol-Oxidase aus, kommt es ebenfalls zu einer Erhöhung der Photowasserstoffproduktion. Die Rate der Wasserstoffproduktion ist hier höher als bei der Mutante mit dem fehlenden Komplex I, aber die Menge des produzierten Photowasserstoffs ist geringer. In dieser Mutante liegt der Plastochinonpool vollständig reduziert vor und die Hydrogenase wird stärker exprimiert. Die unterschiedliche Hydrogenasemenge in den verschiedenen Mutanten mit ihren unterschiedlichen Redoxzuständen lassen den Schluss zu, dass ein reduzierter Plastochinonpool das Signal für eine verstärkte Bildung der Hydrogenase ist.

Zusammenfassend möchten wir auf Grundlage der hier vorgestellten Ergebnisse und anderer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe folgendes Modell vorschlagen (Gutthann, Appel und Schulz-Friedrich, unveröffentlicht) (Abb. 5).

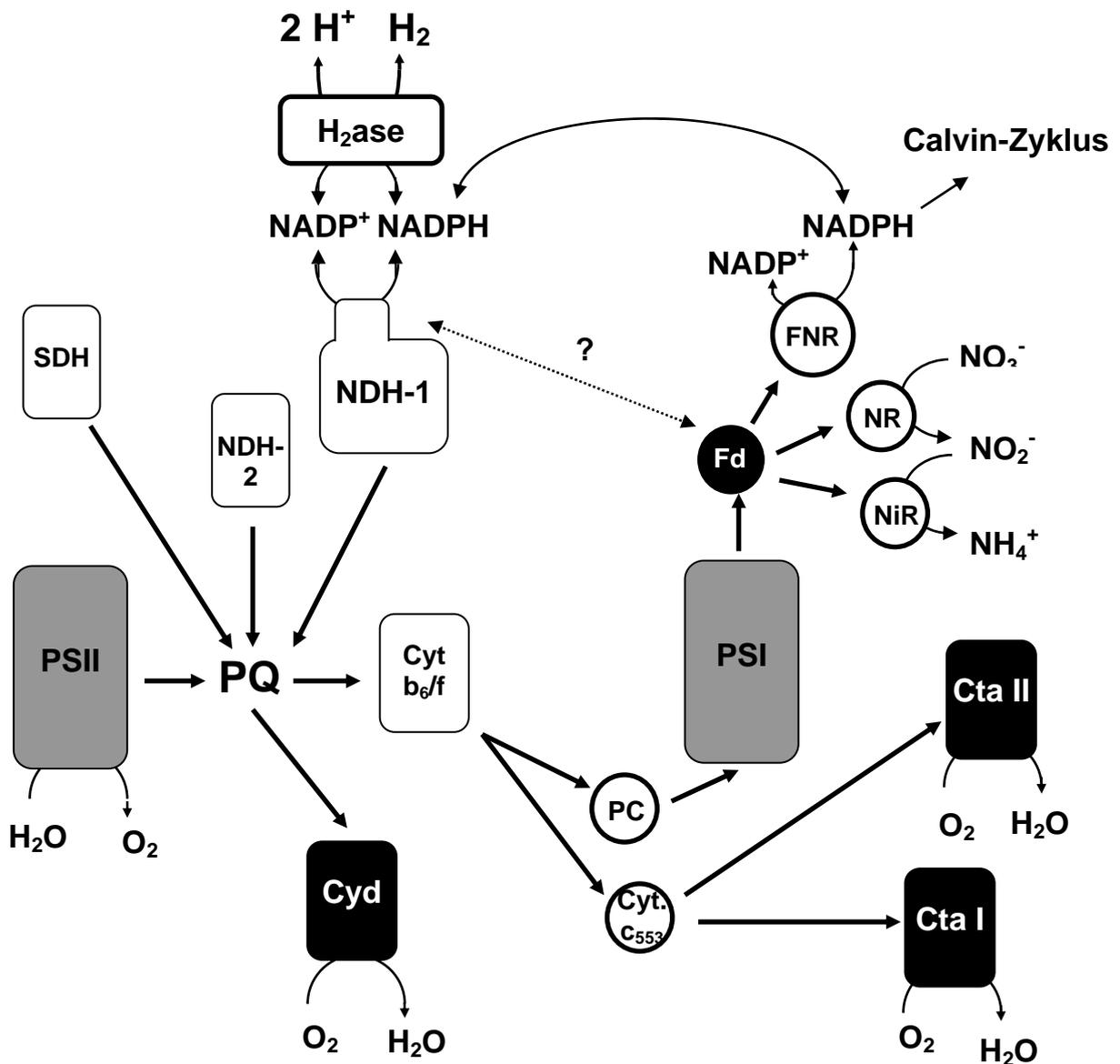


Abb.5: Schematisches und hypothetisches Modell für den Elektronentransport in *Synechocystis*. Bedeutung der Abkürzungen: H2ase: bidirektionale Hydrogenase, NDH-1: NADPH-Dehydrogenase (Komplex I), SDH: Succinat Dehydrogenase, NDH-2: Type 2 NADH-Dehydrogenase, PSII: Photosystem II, PSI: Photosystem I, Cyt b6/f: Cytochrome b6/f Komplex, PQ: Plastochinon, Fd: Ferredoxin, FNR: Ferredoxin:NADP Reductase, PC: Plastocyanin, Cyt. c553: Cytochrome c553, NR: Nitrat Reductase, NiR: Nitrit Reductase, Cyd: Quinoloxidase, CtaI: Cytochrome c Oxidase and CtaII: alternative Cytochrome c Oxidase.

Die Untersuchungen haben einen tieferen Einblick in die Funktion und Arbeitsweise der Hydrogenase gegeben, sie liefern aber noch kein abschließendes Bild. Sie sollen daher fortgesetzt und auf weitere Mutanten, bei denen weitere Teile des photosynthetischen oder respiratorischen Elektronentransports deletiert sind, ausgedehnt werden. Ein Teil dieser Mutanten sind bereits in der Arbeitsgruppe vorhanden, aber es sollen noch weitere angefertigt und untersucht werden. Die einzelnen Mutantenstämme sollen im Hinblick auf ihre Wasserstoffproduktion und -aufnahme (mit Hilfe der Wasserstoffelektrode), Atmungs- und Photosyntheseleistung (mit Hilfe der Sauerstoffelektrode), ihre Fähigkeit zum 'state-change' und das Verhältnis der Photosysteme (mit Hilfe von Tieftemperatur Fluoreszenzmessungen), den Anteil des Cytochrom b_6f -Komplexes (durch Absorptionsmessungen an isolierten Thylakoidmembranen), die Elektronentransportkapazität des Photosystems II und die Oxidations- bzw. Reduktionsgeschwindigkeit des Photosystem I (mit Hilfe des PAM-Fluorimeters) charakterisiert werden.

Diese Messungen werden Einblicke zum Einfluss der jeweiligen Mutation auf den Elektronentransport eröffnen und weitere wertvolle Hinweise liefern, inwieweit die Photosynthese und der Gesamtstoffwechsel beeinflussbar sind, um größere Mengen an Wasserstoff produzieren zu können.

4. Nutzen für die Biotechnologie

Fossile Energieträger decken derzeit 85% des Weltprimärenergiebedarfs (Quaschnig 1999). Das bei ihrer Verbrennung emittierte Kohlendioxid verursacht 60% des anthropogenen Treibhauspotentials (TA-Datenbank 1999). Wegen der daraus resultierenden Klimabedrohung und den begrenzten Vorkommen an Erdöl, Erdgas und Kohle ist es notwendig, neue Energiequellen zu erschließen. Auch die Uranvorkommen der Erde zum Antrieb von Atomkraftwerken sind begrenzt (Quaschnig 1999).

Als ein viel versprechender Energieträger der Zukunft gilt Wasserstoff (H_2). Mit 142 MJ/kg besitzt er den höchsten spezifischen Energiegehalt aller Energieträger und ist damit zur Speicherung und zum Transport in besonderem Maße geeignet. Gebunden in Wasser ist Wasserstoff auf unserem Planeten in nahezu unerschöpflichen Mengen vorhanden. Sowohl in Brennstoffzellen als auch in Verbrennungsmotoren reagiert H_2 unter Energiefreisetzung mit Sauerstoff zu reinem Wasser, was ihn zu einer äußerst umweltverträglichen Energiequelle macht. Brennstoffzellen haben im Vergleich zu Verbrennungsmotoren und anderen Kraftwandlern einen überdurchschnittlich hohen Wirkungsgrad, da die chemische Energie des Brennstoffs direkt in elektrische Energie umgewandelt wird.

Problematisch ist zur Zeit vor allem die Gewinnung von Wasserstoff. Großtechnische Verfahren, wie die Wasserelektrolyse, also die Spaltung von Wasser zu Sauerstoff und Wasserstoff oder das Kvaerner-Verfahren, bei dem Kohlenwasserstoffe in Reinstkohle und Wasserstoff getrennt werden, sind energetisch so aufwendig, dass die Energieausbeute nur gering ist. Die Wasserstoffgewinnung aus fossilen Quellen hat den Nachteil, dass Kohlendioxid emittiert wird. Sowohl energetisch sinnvoll, als auch umweltverträglich ist die biologische Wasserstoffgewinnung. Prinzipiell stehen zwei Verfahren zur Verfügung: H_2 fällt bei der anaeroben Vergärung von Biomasse durch Mikroorganismen an oder wird von einigen Algen und Cyanobakterien unter Ausnutzung von Sonnenenergie als Nebenprodukt der Photosynthese gebildet. Wie bereits angesprochen ist das entsprechende Enzym, bei Grünalgen eine Nur-Eisen Hydrogenase sehr sauerstoffempfindlich (Wünschiers et al. 2001, Florin et al. 2001). Da während der Lichtreaktion der Photosynthese ständig Sauerstoff produziert wird, eignet sich die Grünalgen-Hydrogenase unter natürlichen Bedingungen nur sehr bedingt zur biologischen Wasserstoffgewinnung.

Anders als die Hydrogenase der Algen gehört das cyanobakterielle Enzym zur Gruppe der Nickel-Eisen-Hydrogenasen (Schmitz et al. 1995, Appel und Schulz 1996). Unter allen Kulturbedingungen konnte in dem Cyanobakterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 seine Aktivität nachgewiesen werden und es scheint stabiler gegenüber Sauerstoff zu sein (Appel et al. 2000). Erste Versuche zeigen, dass dieses Enzym in der normalen Atmosphäre isoliert und unter reduzierenden Bedingungen wieder aktiviert werden kann (Appel und Schulz-Friedrich, unveröffentlicht). Die Insensitivität des cyanobakteriellen Enzyms gegen Sauerstoff macht es bisher zum vielversprechendsten Kandidaten für eine direkte biotechnologische Anwendung. Sein aktives Zentrum könnte außerdem Wege aufzeigen, günstige Katalysatoren zur Umsetzung von Wasserstoff zu gewinnen, die sich für den technischen Einsatz z.B. in Brennstoffzellen eignen könnten.

Führt man sich vor Augen, dass die Sonne mit einer jährlich auf die Erdoberfläche eintreffenden Energiemenge von $3,9 \times 10^{25}$ J die weitaus größte regenerative Ressource ist und nur ein Zehntausendstel dieser Energiemenge ausreichen würde, um den Weltprimärenergiebedarf zu decken, erscheint die photobiologische Wasserstoffgewinnung als besonders attraktiv.

Durch die hier beschriebenen Untersuchungen sollte ein erweitertes Bild der Hydrogenasen in Cyanobakterien entstehen, das eine Beurteilung der technischen Machbarkeit der biologischen Wasserstoffgewinnung zulassen sollte.

5. Resümee

Die Forschungsschwerpunkte dieses Promotionsvorhabens bilden einen entscheidenden Schritt hin zu einem Energiemodell der Zukunft. Die Algen oder Cyanobakterien würden mit Hilfe der Sonnenenergie und des Photosyntheseapparates Wasser spalten und die dabei entstandenen Elektronen und Protonen mit Hilfe einer möglichst sauerstoffunempfindlichen Hydrogenase zu Wasserstoff vereinigen. Dieser Wasserstoff könnte dann mit bereits existierenden Methoden aufgefangen, gereinigt, gelagert und transportiert werden. In Verbrennungsmotoren könnte dieser Wasserstoff wieder mit Sauerstoff vereinigt werden. Bei dieser so genannten Knallgasreaktion, die unter sehr leicht zu kontrollierenden Bedingungen ablaufen kann, wird sehr viel Energie frei. Diese Energie könnte z.B. den Motor eines PKWs betreiben oder in Brennstoffzellen Verwendung finden.

Bis zum Erreichen dieses Zieles steht den beteiligten Forschern und Forscherinnen aber noch ein langer Weg und ein großes Stück Arbeit bevor. Die Realisierung des geschilderten Umbaus der Energiegewinnung, nämlich die Energie der Sonne über den Prozess der Photosynthese mit dem Energieträger Wasserstoff verwertbar zu machen, wird sicherlich einschließlich der technischen Umsetzung noch viele Jahre dauern.

6. Literatur

Abdel-Basset R, Bader KP (1998) Physiological analysis of the hydrogen gas exchange in cyanobacteria. *J Photochem Photobiol B: Biol* **43**, 146-151.

Appel J, Schulz R (1996) Sequence analysis of an operon of a NAD(P)-reducing nickel hydrogenase from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 gives additional evidence for direct coupling of the enzyme to NAD(P)H-dehydrogenase (complex I). *Biochim Biophys Acta* **1298**, 141-147.

Appel J, Phunpruch S, Steinmüller K, Schulz R (2000) The bidirectional hydrogenase of *Synechocystis* sp. PCC 6803 works as an electron valve during photosynthesis. *Arch. Microbiol.* **173**, 333-338.

- Benemann JR (2000) Hydrogen production by microalgae. *J. Appl. Phycol.* **12**, 291-300.
- Borodin VB, Tsygankov AA, Rao KK, Hall DO (2000) Hydrogen production by *Anabaena variabilis* PK84 under stimulated outdoor conditions. *Biotechn. Bioeng.* **69**, 478-485.
- Fedorov AS, Tsygankov AA, Rao KK, Hall DO (2000) Production of hydrogen by *Anabaena variabilis* mutant in a photobioreactor under aerobic conditions. *Biohydrogen II*, Elsevier Publishers.
- Florin L, Tsokoglou A, Happe T (2001) A novel type of Fe-hydrogenase in the green alga *Scenedesmus obliquus* is linked to the photosynthetic electron transport chain. *J. Biol. Chem.* **276**, 6125-32.
- Howitt CA, Vermaas WF (1998) Quinol and cytochrome oxidases in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Biochemistry* **37**, 17944-17951.
- Kaneko T, Sato S, Kotani H, Tanaka A, Asamizu E, Nakamura Y, Miyajima N, Hirosawa M, Sugiura M, Sasamoto S, Kimura T, Hosouchi T, Matsuno A, Muraki A, Nakazaki N, Naruo K, Okumura S, Shimpo S, Takeuchi C, Wada T, Watanabe A, Yamada M, Yasuda M, Tabata S (1996) Sequence analysis of the genome of the unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. II. Sequence determination of the entire genome and assignment of potential protein-coding regions. *DNA Res.* **3**, 109-136.
- Ogawa T (1991) Cloning and inactivation of a gene essential to inorganic carbon transport of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Physiol.* **96**, 280-284.
- Pils D, Gregor W, Schmetterer G (1997) Evidence for activity of three distinct respiratory terminal oxidases in the cyanobacterium *Synechocystis* strain sp. PCC 6803. *FEMS Microbiol. Lett.* **152**, 83-88.
- Pils D, Schmetterer G (2001) Characterization of three bioenergetically active respiratory terminal oxidases in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *FEMS Microbiol Lett.* **203**, 217-222.
- Quaschnig, V (1999) *Regenerative Energiesysteme*, Carl Hanser Verlag München, Wien.
- Schmitz O, Bothe H (1996) The diaphorase subunit HoxU of the bidirectional hydrogenase as electron transferring protein in cyanobacterial respiration. *Naturwissenschaften* **83**, 525-527.
- Schmitz O, Boison G, Hilscher R, Hundeshagen B, Zimmer W, Lottspeich F, Bothe H (1995) Molecular biological analysis of a bidirectional hydrogenase from cyanobacteria. *Eur. J. Biochem.* **233**, 266-276.
- TA-Datenbank-Nachrichten, Nr. 2, 8. Jahrgang, Juli 1999, S.13-26.
- Vignais PM, Billoud B, Meyer J (2001) Classification and phylogeny of hydrogenases. *FEMS Microb. Rev.* **25**, 455-501.
- Wünschiers R, Stangier K, Senger H, Schulz R (2001) Molecular evidence for a Fe- hydrogenase in the green algae *Scenedesmus obliquus*. *Curr. Microbiol.* **42**, 353-360.