

# Am Computer entworfen, in Zellen produziert

## Künstliche Enzyme eröffnen ganz neue Möglichkeiten

Chemische Reaktionen, die durch einen Katalysator beschleunigt werden, spielen in unserem Leben eine elementare Rolle. Professor Thomas Ward, der den NFS Molecular Systems Engineering leitet und seit vielen Jahren ein aktives SNI-Mitglied ist, kombiniert zusammen mit seinem Team verschiedene Arten dieser Katalyse. Das Ziel der Forschenden sind neue Synthesewege, die sowohl in wie auch ausserhalb von Zellen für eine effektive, sichere Produktion verschiedenster Verbindungen sorgen und ebenfalls in der Diagnostik und Therapie Anwendung finden können.

### **Nobelpreis für bestimmte Art der Katalyse**

Dieses Jahr ging der Nobelpreis für Chemie an die beiden Professoren Benjamin List und David W.C. MacMillan. Beide beschäftigen sich mit Katalyse – also chemischen Reaktionen, die durch einen Katalysator beschleunigt werden. Der Katalysator ermöglicht und beschleunigt die Reaktionen, wird aber selbst nicht verbraucht.

Katalyse spielt in weiten Bereichen unseres Lebens eine grosse Rolle. Alle Lebewesen sind auf katalytische Prozesse angewiesen, um mit einem möglichst geringen Energieeinsatz zu überleben. Auch zahlreiche chemische Synthesen in industriellen Prozessen werden erst durch Katalysatoren möglich und wirtschaftlich.

Den Nobelpreis 2021 erhalten die beiden Forscher für die Entwicklung der sogenannten Organokatalyse. Hierbei werden relativ einfach aufgebaute organische Verbindungen ohne Metalle als Katalysatoren eingesetzt.

### **Kombinierte Form der Katalyse**

Im Netzwerk des Swiss Nanoscience Institutes beschäftigt sich das Team des langjährigen SNI-Mitglieds Professor Thomas Ward vom Departement Chemie der Universität Basel mit katalytischen Umsetzungen.

Sein Ansatz basiert darauf, zwei Arten der Katalyse zu kombinieren (siehe Kasten auf Seite 7) und Katalysatoren herzustellen, welche die Vorteile von natürlichen Enzymen und katalytischen Metallkomplexen vereinen. Dazu integriert das Ward-Team Metallkomplexe in natürliche Proteine. Das Protein fungiert als Wirt und schafft ein günstiges Umfeld, das eine katalytische Umwandlung von Substraten in Produkte mit einem minimalen Energieaufwand ermöglicht.

Die entstehenden Hybridkatalysatoren besitzen im Idealfall neuartige Eigenschaften und zeichnen sich durch hohe Aktivität und Selektivität aus. Wichtig ist,

dass sie mit einer zellulären Umgebung einschliesslich natürlicher Enzyme vollständig kompatibel sind. Dementsprechend können künstliche Enzyme in neuartige Stoffwechselwege integriert werden, um in lebenden Zellen Produkte mit hohem Mehrwert herzustellen – wie das Ward-Team im Rahmen des NFS Molecular Systems Engineering bereits zeigen konnte.

### **Optimierte, hochkomplexe Verbindungen**

Einen Metallkomplex in ein Protein zu integrieren – das hört sich für den Laien recht einfach an – ist es aber nicht. Denn natürliche Proteine sind hochkomplexe Gebilde. Sie sind aus Aminosäureketten aufgebaut, die sich nach einem bestimmten Bauplan falten. Diese dreidimensionale Struktur beeinflusst die Funktion der Proteine – nur wenn die Proteine richtig gefaltet sind, können sie ihre Aufgabe als Biokatalysator (Enzym) in den Zellen erfüllen.

In der Natur haben sich Enzyme in den Lebewesen über Millionen von Jahren entwickelt. Sie sind elementare Komponenten eines eingespielten Ablaufs und sorgen dafür, dass die Vielzahl der chemischen Prozesse in Zellen reibungslos ablaufen. Im Labor neue künstliche Enzyme herzustellen, die in ihren Eigenschaften den natürlichen überlegen sind und neuartige Reaktion katalysieren, verlangt viel Knowhow und auch eine Portion Glück.

### **Effektive Lösung**

Dem Ward-Team ist es bereits gelungen solche künstlichen Hybridenzyme herzustellen, die über Merkmale verfügen, welche die einzelnen Komponenten nicht besitzen und die auch in der Natur so nicht zu finden sind.

Die Forschenden nutzen dazu häufig die sogenannte Biotin-Streptavidin-Technologie. Streptavidin ist ein bakterielles Protein, das eine ausserordentlich starke Bindungsaffinität zu dem Vitamin Biotin aufweist. Durch die Bindung eines Metallkomplexes mit (bescheidener) katalytischer Aktivität an Biotin stellen die Forschenden



Thomas Ward und seine Gruppe entwickeln künstliche Metalloenzyme, die neue Eigenschaften besitzen.  
(Bild: M. Wegmann, SNI)

den sicher, dass das Metall in Anwesenheit von Streptavidin in dieses eingebaut wird, wodurch ein künstliches Metalloenzym entsteht.

#### **Ein vielseitiges künstliches Metalloenzym**

Vor fast zehn Jahren gelang es Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern der Ward-Gruppe, ein künstliches Metalloenzym zu schaffen, das eine der schwierigsten Reaktionen in der Chemie katalysiert: die Funktionalisierung einer inerten Bindung zwischen Kohlenstoff und Wasserstoff. Zu diesem Zweck integrierten sie einen katalytischen Rhodium-Metallkomplex in den Streptavidin-Wirt.

Diese neue Kombination beschleunigte zunächst die angestrebte chemische Reaktion mit nur geringer Ausbeute. Ausgehend von

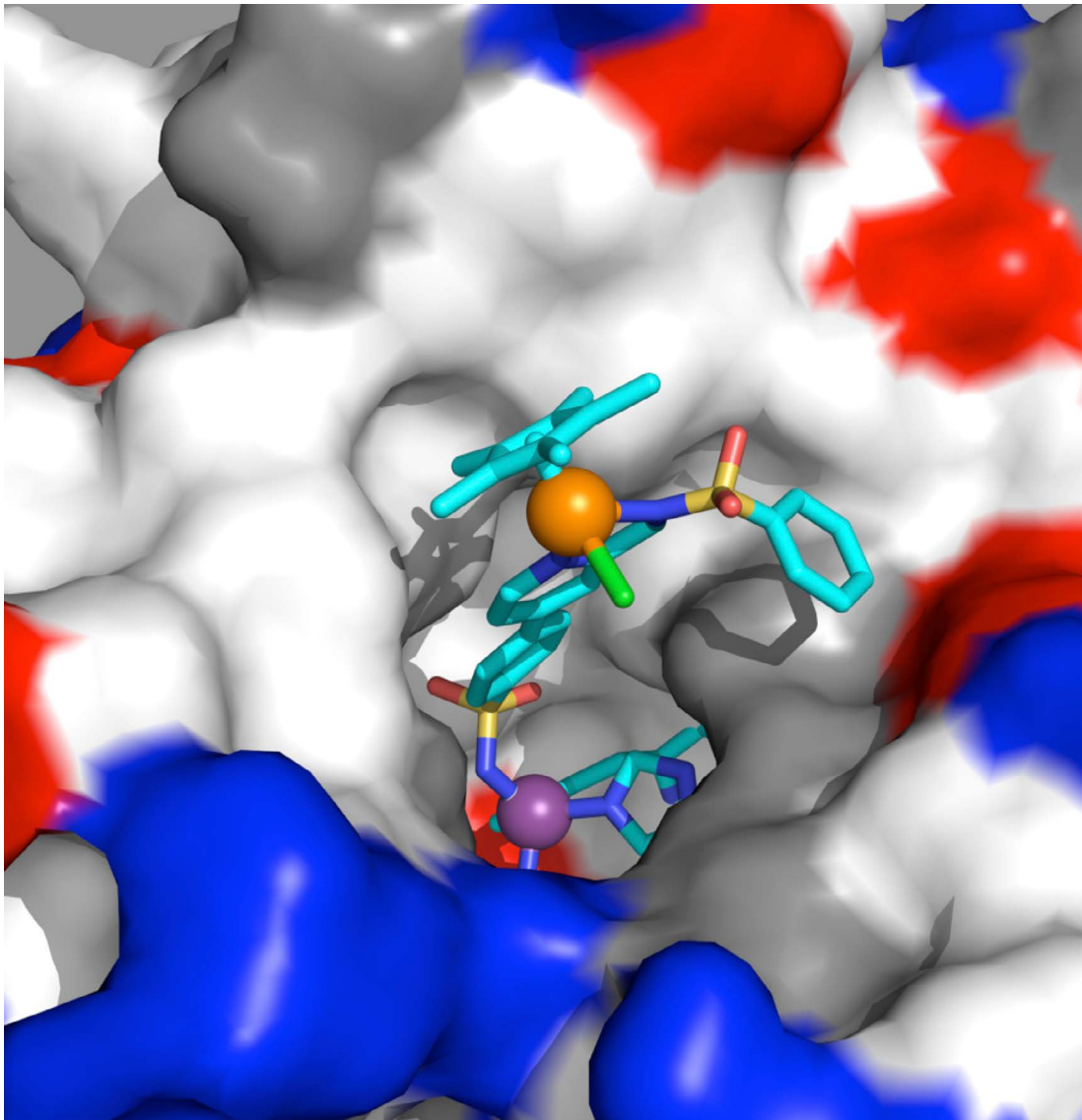
einem detaillierten Verständnis des katalytischen Mechanismus veränderten die Forschenden zwei nahe beieinander liegende Aminosäurereste des Streptavidins. Dies führte zu einer hundertfachen Beschleunigung der Reaktion, da diese Mutationen einen kritischen Deprotonierungsschritt ermöglicht, der für den reibungslosen Ablauf der Reaktion unerlässlich ist.

#### **Aufbau des Wirts entscheidend**

Im Rahmen eines Projekts der SNI-Doktorandenschule hat das Ward-Team eine künstliche Hydrogenase entwickelt, welche die Spaltung von Wasser in seine Bestandteile Sauerstoff und Wasserstoff unterstützt. «Hydrogenasen sind von grossem Interesse, da sie für die Produktion von Wasserstoff als Energiespeicher geeignet sind», beschreibt Thomas Ward.

#### **Quellen:**

**Science (2012):  
Biotinylated Rh(III)  
Complexes in  
Engineered Strepta-  
vidin for Accelerated  
Asymmetric C-H  
Activation**  
[doi: 10.1126/science.1226132](https://doi.org/10.1126/science.1226132)



Hochaufgelöste Röntgenstruktur eines Metallkomplexes in einem natürlichen Protein.  
(Bild: Departement Chemie, Universität Basel)

## Quellen:

**Helvetica Chimica Acta 2018, 101 (4): Photo-Driven Hydrogen Evolution by an Artificial Hydrogenase Utilizing the Biotin-Streptavidin Technology**

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/hlca.201800036>

## DrEAM\_ERC:

<https://erc.europa.eu/projects-figures/erc-funded-projects/>

**Nature (2016): Directed evolution of artificial metalloenzymes for in vivo metathesis**

[doi:10.1038/nature19114](https://doi.org/10.1038/nature19114)

In dem Projekt verwendete der ehemalige SNI-Doktorand Dr. Sascha Keller einen Kobalt-Metallkomplex, den er in verschiedene Varianten des Streptavidin-Komplexes integrierte. Bei den Arbeiten zeigte sich, dass die Streptavidin-Aminosäuren, die nahe dem eingebauten Metallkomplex liegen, einen grossen Einfluss auf die hydrolytische Aktivität des künstlichen Enzyms besitzen. Vermutlich werden die Protonen während der katalytischen Reaktion effizient über diese Aminosäuren transportiert.

### Lebende «Fabriken» funktionieren auch

Inzwischen ist es den Forschenden auch gelungen, derartige künstliche Metalloenzyme in lebenden Zellen (*in vivo*) herzustellen. Diese Arbeiten werden vor allem durch einen ERC Advanced Grant unterstützt.

Bevor die künstlichen Enzyme in einer Zelle zum Einsatz kommen, müssen die Forschenden

dafür sorgen, dass alle Komponenten von den Zellen aufgenommen werden können. Zudem ist es wichtig zu wissen, welche Kompartimente einer Zelle geeignete Reaktionsbedingungen für die zu katalysierende Reaktion bieten.

Bei der Entwicklung eines Metalloenzym, das die Bildung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen (z.B. die Alken-Metathese) katalysiert, war dies der Raum zwischen der inneren Membran des Zytoplasmas und der äusseren Membran in gramnegativen Bakterien.

Den Forschern gelang es, Bedingungen zu schaffen, die die Voraussetzungen dafür erfüllen, dass das künstliche Metalloenzym durch die Bakterien in diesem Reaktionskompartiment, dem Periplasma, aufgebaut werden konnte.

# Katalysen – Effektive chemische Reaktionen

Chemikerinnen und Chemiker unterscheiden heterogene, homogene und enzymatische Katalysen.

Bei der **heterogenen Katalyse** befinden sich Substrat und Katalysator in verschiedenen Aggregatzuständen. Zu dieser Gruppe gehören beispielsweise die Abgaskatalysatoren, bei denen die festen Metalle Platin und Rhodium die Umsetzung der Gase Kohlenmonoxid und Stickstoffmonoxid zu Kohlendioxid und Stickstoff katalysieren.

Bei **homogenen Katalysatoren** befinden sich Substrat und Katalysator im selben Aggregatzustand. Ein Beispiel hierfür ist das bereits im Mittelalter bekannte Bleikammerverfahren, mithilfe dessen Schwefelsäure hergestellt wird. In einer im 19. Jahrhundert optimierten Reaktion werden Stickstoffoxide als Katalysatoren eingesetzt, die Schwefeldioxid oxidieren.

In zahlreichen anderen homogenen katalytischen chemischen Reaktionen werden Metallkomplexe als Katalysatoren eingesetzt.

Die **enzymatische Katalyse** nutzt spezielle natürliche Proteine (Enzyme) als Katalysatoren. Diese natürlich vorkommenden Enzyme haben sich über einen Zeitraum von Millionen von Jahren entwickelt und machen Leben so wie wir es kennen erst möglich.

Der menschliche Körper verwendet etwa viertausend Enzyme, um seine Aktivitäten aufrechtzuerhalten. Sie arbeiten in zahlreichen Fällen weitaus spezifischer und effektiver als synthetische, metallorganische Katalysatoren.

Chemisch betrachtet handelt es sich bei Enzymen um Makromoleküle, die aus vielen Aminosäuren bestehen und oft ein Metallion im aktiven Zentrum haben. Bei Katalysatoren, die in der synthetischen Chemie eingesetzt werden, handelt es sich hingegen meist um viel weniger komplexe chemische Verbindungen.

Durch die Kombination chemischer und natürlicher Bausteine können Forschende künstliche Enzyme herstellen, die in der Natur nicht vorkommen, aber die vorteilhaften Eigenschaften von Enzymen und homogenen Katalysatoren in sich vereinen. Im Idealfall verfügen sie über Eigenschaften, welche die einzelnen Komponenten nicht aufweisen.

Das vielleicht attraktivste Merkmal künstlicher Metalloenzyme ist die Tatsache, dass ihre katalytische Aktivität durch Mutationen im Gen, welches die Information für das Wirtspolypeptid enthält, optimiert werden kann. Im Sinne Darwins ist es also möglich, ein künstliches Metalloenzym durch evolutionären Druck dazu zu «zwingen», sich den Bedingungen des Experiments anzupassen.

Die eingesetzten, speziell entwickelten Stämme des Darmbakteriums *Escherichia coli*, die Streptavidin im Periplasma produzieren, stellten das anvisierte künstliche Metalloenzym Biot-Ru-SAV her. Das Enzym enthält einen katalytischen Ruthenium-Metallkomplex. Es beschleunigt die gewünschte chemische Reaktion mit einem ringförmigen Molekül als Produkt, das die Forschenden dank seiner Fluoreszenz gut nachweisen können.

## Optimierte Ausbeute

Die Ausbeute des künstlichen Enzyms und des Endprodukts liess sich durch sogenannte gerichtete Evolution noch weiter steigern. Ähnlich wie bei der natürlichen Selektion bewirkt ein Selektionsdruck durch die Zusammensetzung des Kulturmediums, dass nur Bakterienstämme, die das künstliche Enzym enthalten, überleben können. Die Forschenden im Ward-Team entwickelten dazu ein einfaches und robustes Screening-Verfahren, mit dem sie Tausende von Bakterienstämmen testen und die besten Produzenten auswählen können.

«Mit dem angewandten System können wir ganz neue Synthesewege entwickeln. Dabei lassen sich nicht nur einzelne Reaktionen katalysieren, sondern auch ganze Reaktionskaskaden unterstützen, sodass Zellen zu molekularen Fabriken werden», kommentiert Thomas Ward diesen Ansatz.

## Auch in Säugerzellen aktiv

Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler setzen die künstlichen Metalloenzyme nicht nur in Bakterienstämmen ein, sondern können auch in Säugetierzellen eine Reaktionskaskade initiieren.

So entwickelten sie ein Ruthenium-Metalloenzym, das in eine Säugetierzelle eindringen kann. Im Zellinneren katalysiert das künstliche Enzym die Produktion eines bestimmten Schilddrüsenhormons. Dieses wiederum schaltet einen synthetischen Genschalter an, der zur Herstellung des Enzyms Luciferase führt. Luciferase katalysiert eine chemische Umsetzung, die mit der Emission von Licht einhergeht – was die Forschenden mikroskopisch verfolgen und quantifizieren können.

«Diese Erkenntnisse unterstreichen das Potenzial, künstliche Enzyme in Säugetierzellen zu integrieren und damit das verfügbare Instrumentarium zur Reprogrammierung von Zellen für therapeutische Zwecke zu erweitern», kommentiert Thomas Ward.

### Neues SNI-Projekt geplant

Neben neuen Synthesewegen bieten die künstlichen Metalloenzyme auch Möglichkeiten in der Diagnostik und Therapie.

Im Rahmen eines neuen Projekts der SNI-Doktorandenschule wird das Ward-Team in Zusammenarbeit mit Professor Melpomeni Fani vom Universitätsspital Basel untersuchen wie Metallkomplexe spezifisch in Rezeptorproteine eingebaut werden können, die sich vor allem auf der Zelloberfläche von Krebszellen befinden.

Durch die Verknüpfung eines hochspezifischen Hemmstoffs für solche Rezeptorproteine mit dem Metallkatalysator lässt sich dieser dort anreichern, wo seine therapeutische Wirkung benötigt wird – in der Nähe des Tumors.

«Die Aussicht, sowohl künstliche als auch natürliche Enzyme in einer Zelle zu kombinieren, eröffnet faszinierende Perspektiven für die Entwicklung zellulärer Fabriken zur Herstellung von Biokraftstoffen und Chemikalien mit hohem Mehrwert.

Mit den künstlichen Metalloenzymen lassen sich aber nicht nur neue Chemikalien mit hohem Mehrwert produzieren, sondern wir können auch die Entwicklung diagnostischer Methoden und effektiver Therapien unterstützen.»

**Professor Dr. Thomas Ward, Departement Chemie und Leiter des NFS Molecular Systems Engineering, Universität Basel**

Die katalytische Wirkung der künstlichen Metalloenzyme besteht darin, die Freisetzung eines Chemotherapeutikums zu katalysieren. Der Wirkstoff ist nicht zelltoxisch, solange er eingeschlossen ist. Nur in Gegenwart des künstlichen Metalloenzym, das vor allem auf der Oberfläche der Krebszellen vorhanden ist, erfolgt die Freisetzung des Wirkstoffs. Diese katalytische Strategie wird somit die unerwünschten Nebenwirkungen vieler Chemotherapeutika minimieren.

In Zusammenarbeit mit Melpomeni Fani werden die Forschenden diese innovative Strategie sowohl für diagnostische als auch für therapeutische Zwecke bei verschiedenen Krebsarten untersuchen.

### Zahlreiche mögliche Anwendungen

Die Gruppe von Thomas Ward hat bisher vierzehn katalytische Umwandlungen mit künstlichen Metalloenzymen entwickelt, wobei für keines dieser Enzyme ein natürliches Enzym bekannt ist.

### Quellen:

**Nat. Commun., 2018, 9, 1943:  
A Cell-Penetrating Artificial Metalloenzyme Regulates a Gene Switch in a Designer Mammalian Cell**

<https://doi.org/10.1038/s41467-018-04440-0>

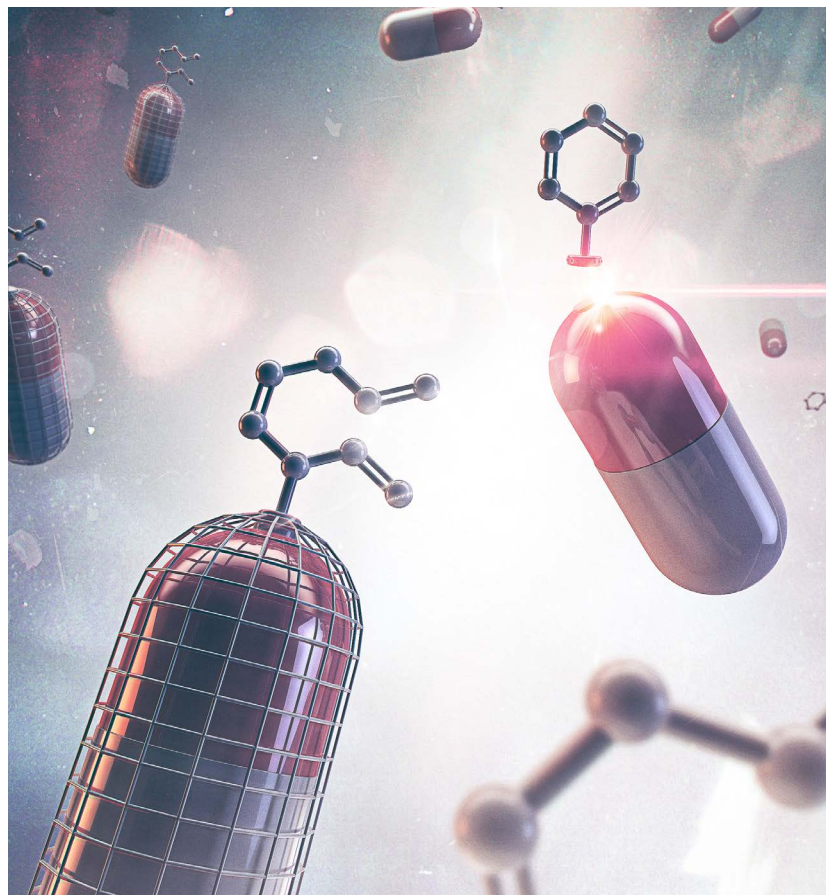


Illustration für die Titelseite des Journals of the American Chemical Society über das Konzept, ein verpacktes Medikament freizusetzen.  
(Bild: Departement Chemie, Universität Basel)