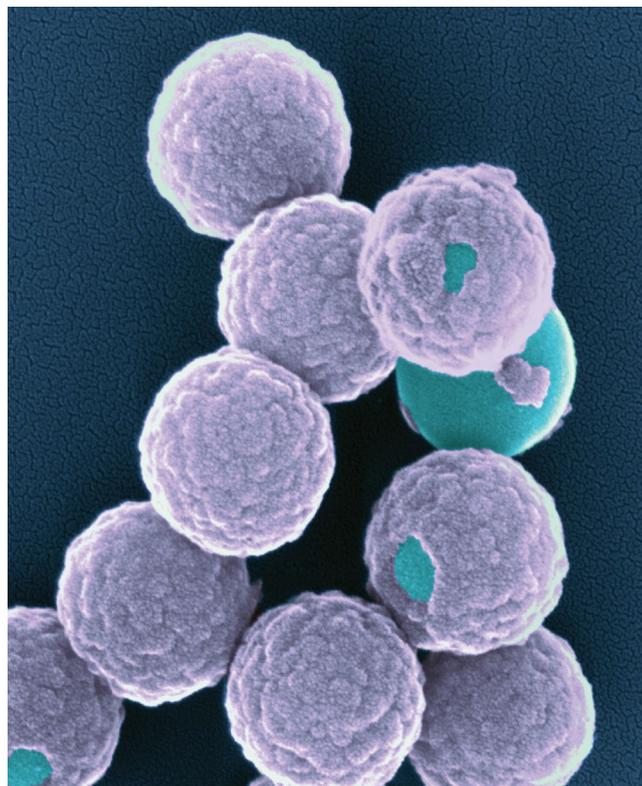


# Erfolgreiche Zusammenarbeit zwischen Universität, Fachhochschule und Industrie

## Neuartige Biokatalysatoren dank Nanotechnologie

Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler der Fachhochschule Nordwestschweiz, der Universität Basel sowie der Basler Firma INOFEA AG haben 2014 mit dem Argovia-Projekt NANOzyme eine erfolgreiche Zusammenarbeit gestartet, um Enzyme für biotechnologische Anwendungen attraktiver zu machen. Das interdisziplinäre Forscherteam hat dazu ein System entwickelt, bei dem verschiedene Enzyme kombiniert und auf Nanopartikeln immobilisiert werden. Eine Schutzschicht aus organischen Kieselsäureverbindungen überzieht die immobilisierten Enzyme. Die Forschenden konnten belegen, dass dieses Enzymsystem effektiv eine Kaskade verschiedener chemischer Reaktionen katalysiert und sich für unterschiedliche Anwendungen eignet.



Verschiedene Enzyme werden auf Nanopartikeln immobilisiert (P. Shaghaldian).

### Regeneration erforderlich

Enzyme spielen in allen Organismen eine lebenswichtige Rolle. Sie katalysieren spezifisch die Umwandlung verschiedenster chemischer Verbindungen in Lebensprozessen wie Verdauung oder Vermehrung. Auch für biotechnologische Anwendungen sind Enzyme geeignet, da sie effektiv und spezifisch arbeiten. So lassen sich beispielsweise chemische Verbindungen durch Enzyme oxidieren oder reduzieren. Fast alle Enzyme sind Proteine. Neben einem Proteinanteil benötigen zahlreiche Enzyme noch ein niedermolekulares Molekül, Cofaktor genannt, das sich bei der enzymatischen Reaktion zusammen mit dem umgesetzten Stoff ebenfalls chemisch verändert. Diese Cofaktoren sind oft instabil und müssen ersetzt oder regeneriert werden, bevor das Enzym erneut eine chemische Umwandlung katalysieren kann. Für industrielle biotechnologische Anwendungen ist es aufgrund der Instabilität und der erforderlichen Regeneration der Cofaktoren oft zu aufwendig und teuer derartige Enzyme einzusetzen.

### Die Kombination macht's

Im Rahmen des Argovia-Projekts NANOzyme haben die Wissenschaftlerteams von Professor Patrick Shaghaldian, Professor Philippe Corvini (beide FHNW) und Professor Thomas Ward (Universität Basel) in Zusammenarbeit mit der Basler Firma INOFEA AG nun Wege gefunden, dieses Problem zu lösen. Zum einen kombinieren die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler ein natürliches mit einem künstlichen Enzym. Das natürliche Enzym katalysiert die gewünschte chemische Reaktion, das

künstliche sorgt dann für die unmittelbare Regeneration des Cofaktors, sodass das natürliche Enzym wieder arbeiten kann. Zum anderen haben die Forschenden eine chemische Strategie entwickelt, um diese Enzymkombination auf der Oberfläche von Kieselsäure-Nanopartikeln zu immobilisieren und dann in einer Schutzschicht abzuschirmen. Diese Schicht aus organischen Kieselsäure-Partikeln schützt die empfindlichen Enzyme nicht nur, sondern schafft auch Räume, in denen der Austausch von Substrat und Produkt eingeschränkt ist. Dadurch steht dem effektiv arbeitenden Enzym immer genügend Substrat zur Verfügung und es kommt zu einem vermehrten Umsatz.

### **Optimale Bedingungen geschaffen**

«In unseren Versuchen haben wir nicht nur die optimalen Enzymkombinationen getestet und die besten Bedingungen zur Bildung der Schutzschicht evaluiert, sondern auch das ideale Verhältnis der beteiligten Enzyme zueinander untersucht», kommentiert Projektleiter Patrick Shahgaldian die Experimente.

Für ihre Untersuchungen haben die Wissenschaftler ein natürliches Enzym gewählt, das Flavinmononucleotid (FMN) in seine reduzierte Form (FMNH<sub>2</sub>) umwandelt. NADH (Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid) ist der Cofaktor, den dieses Enzym benötigt. Es überträgt ein Hydrid-Ion (H) und wird selbst zu NAD<sup>+</sup>. Ein künstliches Enzym (Transferhydrogenase) regeneriert das entstandene NAD<sup>+</sup> wieder zu NADH, sodass dieses kontinuierlich weiter FMNH<sub>2</sub> produziert. Der Nachweis der erfolgreichen, schrittweisen Reaktion der Enzyme erfolgt über das lösliche Enzym Luciferase, das in Anwesenheit von Sauerstoff FMNH<sub>2</sub> zu FMN oxidiert. Über verschiedene Schritte kommt es zur Bildung eines Farbstoffes, dessen Konzentration spektroskopisch gemessen werden kann. Die zunehmende Bildung des Farbstoffes ist ein eindeutiger Beweis für die erfolgreiche Regeneration des Cofaktors.

Die Forschenden konnten anhand ihrer Experimente klar belegen, dass ihr Konzept aufgegangen ist mit geschützten, immobilisierten Enzymen zu arbeiten. Denn sowohl gelöste Enzyme wie auch immobilisierte Enzyme ohne Schutzschicht führten zu einer signifikant geringeren Menge an produziertem Farbstoff als die immobilisierten, durch organische Kieselsäureverbindungen geschützten Enzyme.

### **Interesse aus der Industrie**

Eine derartige Kaskade von Enzymreaktionen, die mit einer in situ Regeneration des Cofaktors verbunden ist, kann für verschiedene Oxidations- und Reduktionsreaktionen in biotechnologischen Anwendungen verwendet werden. Zurzeit haben die Forschenden im Argovia-Projekt NANOzyme vor allem die Entwicklung eines Schnelltests für bestimmte resistente Bakterienstämme im Visier. Daneben werden sie untersuchen, ob sich die produzierten Nanokatalysatoren auch dazu eignen, Chlor-kohlenwasserstoffe abzubauen. Aufgrund der erfolgreichen Ergebnisse, läuft das Projekt noch ein weiteres Jahr. «Wir unterstützen ganz aktiv die Fortführung von NANOzyme, da sich aus der exzellenten Zusammenarbeit eine Reihe von vielversprechenden industriellen Anwendungen ergeben haben», kommentiert Dr. Yves Dudal, Geschäftsführer von INOFEA, den erfolgreichen Verlauf des Projektes.