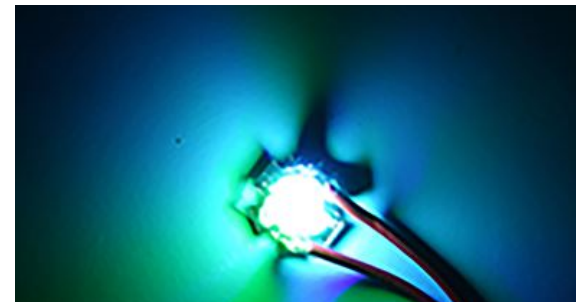


# LEDs aus bakterieller Produktion

Proteindesign mit guter Lichtemissionseffizienz

Claudia Barolo, Aitziber L Cortajarena, Rubén D Costa, Pedro B Coto, Giulio Gherzi, Gustav Oberdorfer



Sections ▾

Share

Weißer Leuchtdioden (WLEDs) bestehen aus einem Blaulicht emittierenden Chip, der mit gelb emittierenden Farbfiltern oder anorganischen Leuchtmaterialien überzogen ist, die häufig aus seltenen Erden oder toxischen Materialien bestehen. Der Preis und die Verfügbarkeit von WLEDs werden derzeit stark von wenigen globalen Hauptakteuren kontrolliert. Schon seit 1995 werden große Anstrengungen unternommen, um nachhaltige und umweltfreundliche organische Leuchtstoffe für WLEDs mit hoher Effizienz und Stabilität zu entwickeln, was bisher allerdings nur von mäßigem Erfolg geprägt war.

In der FET-OPEN-Initiative „Künstliche Proteine für biologische Leuchtdioden“ (Artibled, eng. Engineered Artificial Proteins for Biological Light-Emitting Diodes) wird nun daran geforscht, wie bzw. ob die Mängel an Effizienz und Stabilität mit artifiziellen, fluoreszierenden Proteinen, die in einer Polymermatrix weiter stabilisiert werden, überwunden werden kann. Dieser Forschungsansatz wird zu einer neuen Klasse von Farbfiltern, die im Fachjargon als „down-converting filters“ bezeichnet werden, führen und die Herstellung neuer, umweltfreundlicherer WLEDs ermöglichen. Der wesentlichste Vorteil dieser Technologie ist die Herstellung der Farbfilter mittels bakterieller Proteinexpression, welche die Fertigung von LEDs unabhängig von begrenzten Ressourcen und weltweit möglich machen sollte. Des Weiteren sind die Wissenschaftler überzeugt, dass eine flächendeckende Implementierung dieser Technologie zu einer breiten Palette an so genannten Bio-LEDs für Nischenzwecke führen wird.

## Hintergrund

Die Europäische Union (EU) weist immer wieder auf die Notwendigkeit eines effizienten Stromverbrauchs hin und erwarten eine Reduzierung des Stromverbrauchs um >20% unter Verwendung von anorganischen, weißen Leuchtdioden (WLEDs), die vorwiegend in den LED-Lampen von Häusern zum Einsatz kommen [1]. Diese LEDs bestehen aus einem Blue-Chip, einer Diode, die blaues Licht erzeugen kann, das dann von anorganischen Leuchtstoffen (IPs), die als Farbfilter verwendet werden, überdeckt wird. Viele der hier zum Einsatz kommenden Verbindungen werden von der EU als einer von 27 kritischen Rohstoffen aufgeführt. Derzeitige Schätzungen gehen davon aus, dass die IP-Reserven in 10 bis 15 Jahren aufgebraucht sein werden, wenn die weltweite Nachfrage nach LEDs wie erwartet steigt bzw. auch deren Recyclingprozess ineffizient bleibt. Die steigenden Kosten und ökologischen Auswirkungen (Bergbau / Raffination / Toxizität) sowie die Kontrolle der begrenzten Rohmaterialien belasten die langfristige Nachhaltigkeit von WLEDs stark [2]. Darüber hinaus wandeln die IP-Filter blaues Licht nicht effizient in energieärmeres Licht um, was schwerwiegende Auswirkungen auf die Sehschärfe bei Kindern und älteren Menschen hat und zu Schlafstörungen bei Erwachsenen führen kann. Es ist zu beachten, dass Menschen jeden Tag über einen längeren Zeitraum (ca. 8-14 Stunden pro Tag) künstliche Beleuchtung verwenden. In diesem Zusammenhang ist es umso wichtiger Ersatz für die derzeitige Technologie durch ungiftige und nachhaltige organische Leuchtstoffe (OPs) zu entwickeln, um eine neue Generation von Hybrid-WLEDs zu schaffen.

## Fluoreszenzfarbstoffe

Seit der erstmaligen Verwendung von OPs im Jahr 1995, wurden Fluoreszenzfarbstoffe, die in Polymere eingebettet waren, für diese Zwecke eingesetzt. Allerdings ohne die Kundenanforderungen zu erfüllen, was zu einem Großteil auf die geringeren Wirkungsgrade und Stabilitäten zurückzuführen ist. Dies hängt erstens mit der Verringerung der Photolumineszenzquantenausbeute (PLQY) aufgrund von aggregationsbedingtem Quenchen und zweitens mit dem Abbau sowohl bei UV / thermischer Härtung der Matrix als auch bei photoinduzierter Oxidation unter Betriebsbedingungen zusammen.

Die Zielsetzung der Forschungsinitiative Artibled ist das Ersetzen der IPs durch Proteinfiler, die auf artifiziellen, fluoreszierenden Proteinen (FPs) basieren. Der erste Meilenstein in dieser Richtung wurde bereits erreicht. Es wurde kürzlich ein neues Konzept zur Stabilisierung von FPs in verschiedenen Polymeren über lange Zeiträume und unter Lagerungs- und Betriebsbedingungen, die für WLEDs gelten, vorgestellt [3]. Diese neue Technologie heißt Bio-LED und hat bereits eine Stabilität von bis zu 6 Monaten bei hohem Wirkungsgrad erreicht [4]. Zur weiteren Verbesserung dieser Technologie plant Artibled einen zweiten Meilenstein zu realisieren, der sich auf die Entwicklung einer neuen Familie künstlicher fluoreszierender Proteine konzentriert, die auf die menschlichen Beleuchtungsbedürfnisse zugeschnitten sind.

Das Schlüsselement für diese Vision liegt in der disziplinenübergreifenden Zusammensetzung der Initiative, innerhalb derer Know-how in der organischen Synthese von Fluoreszenzfarbstoffen, quantenchemischen Berechnungen, computerunterstütztem Protein Design, synthetischer Biologie, Materialwissenschaften sowie Prozessentwicklung kombiniert wird. Dies ermöglicht eine einzigartige Herangehensweise an das Problem. Im ersten Schritt werden tausende hypothetische Proteingerüste simuliert, die speziell auf die Bindung an neue synthetische Farbstoffe zugeschnitten sind und dadurch ihre photophysikalischen Eigenschaften nur minimal beeinträchtigen sollten. Eine Auswahl an im Computer entworfenen Proteinen wird dann in Form von synthetischer DNA bestellt und in *E. coli* exprimiert. Im nächsten Schritt wird experimentell auf Farbstoffbindung und photophysikalische Eigenschaften getestet. Sobald vielversprechende Konstrukte identifiziert sind, werden diese artifiziellen, fluoreszierenden Proteine in eine Polymermatrix integriert und auf ihre Eignung als Farbfilter für Bio-LEDs getestet (Abb. 1).

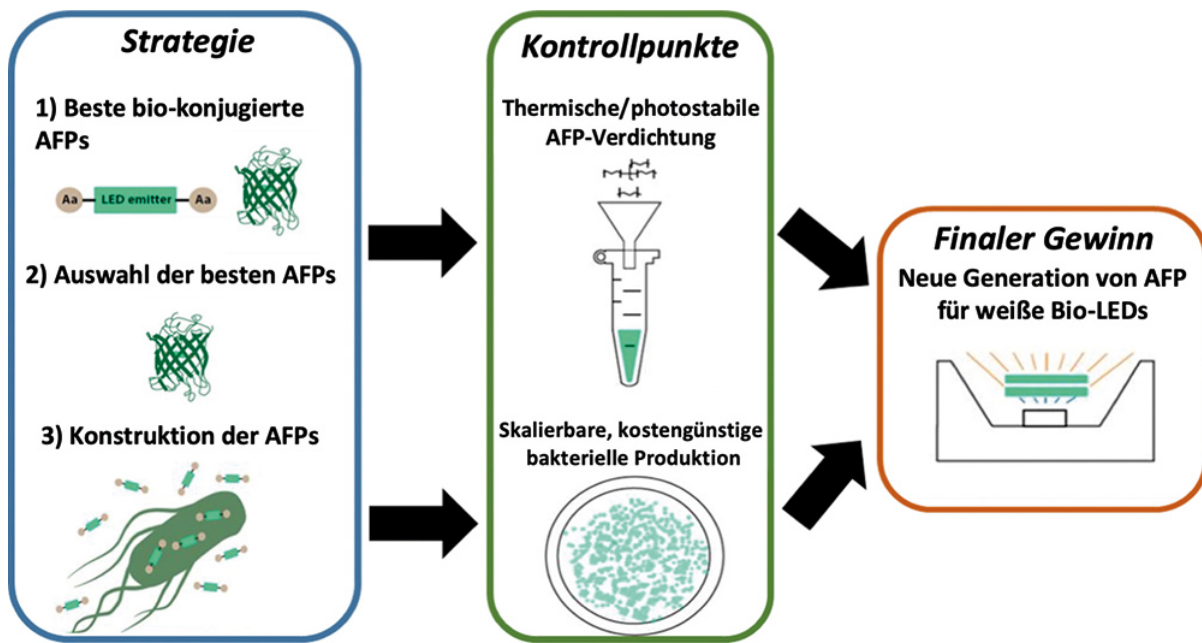


Abb. 1: Das Konzept von Artibled: ausgewählte Proteinstrukturen werden mit artifiziellen Aminosäuren bestückt, die darauf kovalent an die Fluoreszenzfarbstoffe binden. Dieses „Host-Guest“ System wird dann auf seine photophysikalischen Eigenschaften untersucht und in den nächsten Schritten in eine Polymermatrix integriert und als Farbfilter vor einen LED-Chip gesetzt.

## Fluoreszierende Farbstoffe und Quantenchemie

Ein wesentlicher Aspekt bei der Entwicklung neuer Biomaterialien für Beleuchtungsanwendungen ist das Design und die Synthese optimierter Farbstoffe mit ausgezeichneter Photolumineszenz und Photostabilität. Gut konzipierte Emitter sollten, wenn sie in die Proteinumgebung eingebaut werden, ihre optischen Eigenschaften beibehalten oder sogar verbessern und eine höhere Stabilität erreichen. Eine Schlüsselrolle spielt dabei die Entwicklung kompakter biokompatibler Emitter mit nachgewiesener Photostabilität. Der zweite wichtige Schritt ist die Entwicklung eines einfachen Scale-up- und kostengünstigen Synthesewegs innerhalb eines umweltfreundlicheren Prozesses. In dieser Hinsicht spielen Theorie und Simulation eine wichtige Rolle bei der Entwicklung neuer Farbstoffe für ihren Einsatz in proteinbasierten Beleuchtungssystemen. Einerseits können sie eine Verbindung zwischen der molekularen und elektronischen Struktur des Farbstoffs, seiner Stabilität und seinen optischen Eigenschaften sowie deren Modifikation durch die Umgebung herstellen und so das Design und die Synthese von Farbstoffen mit spezifischen Eigenschaften erleichtern. Andererseits können sie detaillierte Informationen zu den Prozessen liefern, die während des Gerätebetriebs ablaufen, die Interpretation der experimentellen Ergebnisse unterstützen und die zugrunde liegenden mechanistischen Informationen liefern, die nicht direkt aus den geplanten Experimenten erhalten werden können (Abb. 2).

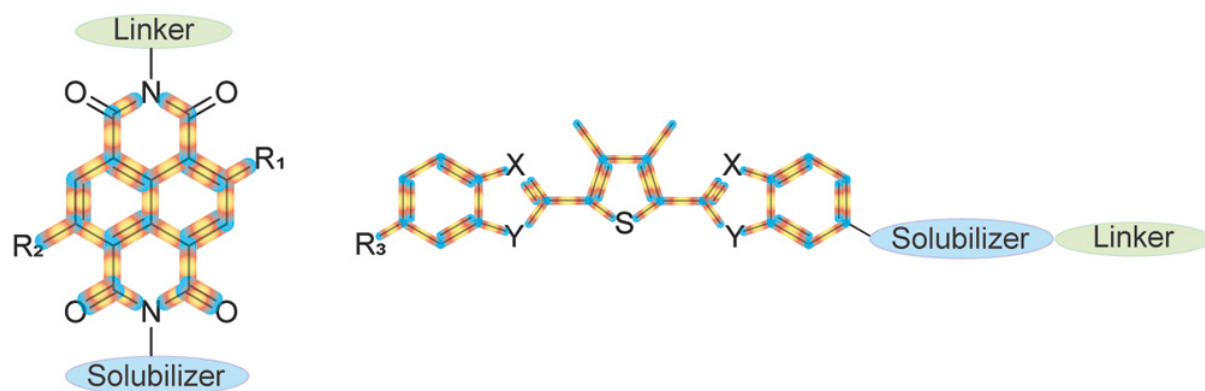


Abb. 2: Kernstrukturen der verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe.

## Protein Design und synthetische Biologie

Innerhalb dieses Jahrzehnts haben die Bereiche computerunterstütztes Proteindesign und synthetische Biologie bedeutende Fortschritte in der Entwicklung robuster, synthetischer biomolekularer Systeme erzielt [5]. Diese Methoden werden allerdings hauptsächlich für die Herstellung synthetischer Systeme für biomedizinische Anwendungen angewendet und ungleich weniger Anstrengungen unternommen, um diese Technologie für den Biotech-Sektor einzusetzen. Der Stand der Technik in diesen Bereichen zeigt jedoch, dass sie bereit sind, sich den relevanten technologischen Herausforderungen zu stellen. In diesem Sinne ermöglicht das computerunterstützte Proteindesign die Erzeugung stabiler Proteinstrukturen, sowohl de novo als auch basierend auf vorhandenen Proteinen. Insbesondere de novo Proteine haben sich als thermisch sehr stabil erwiesen (Schmelztemperaturen über 100°C) [6].

Eine Eigenschaft, die für biotechnologische Anwendungen häufig erwünscht ist. In ähnlicher Weise ermöglicht das synthetisch-, biologische Werkzeug der UAA-Technologie (Unnatürliche Aminosäuren) den Einbau neuer chemischer Funktionalitäten in Proteine. Hierbei kommt ein orthogonales tRNA-Synthetase-System zum Einsatz, um eine neue / unnatürliche Aminosäure in ein vom Ribosom synthetisiertes Protein einzuführen, wodurch der molekulare Werkzeugkoffer für potenzielle synthetische Systeme enorm erweitert wird. Insgesamt sind die biomolekularen Engineering-Gruppen gut gerüstet, um die aktuellen Herausforderungen bei der technologischen Anwendung proteinbasierter Komponenten für Beleuchtungsanwendungen zu bewältigen (Abb. 3).

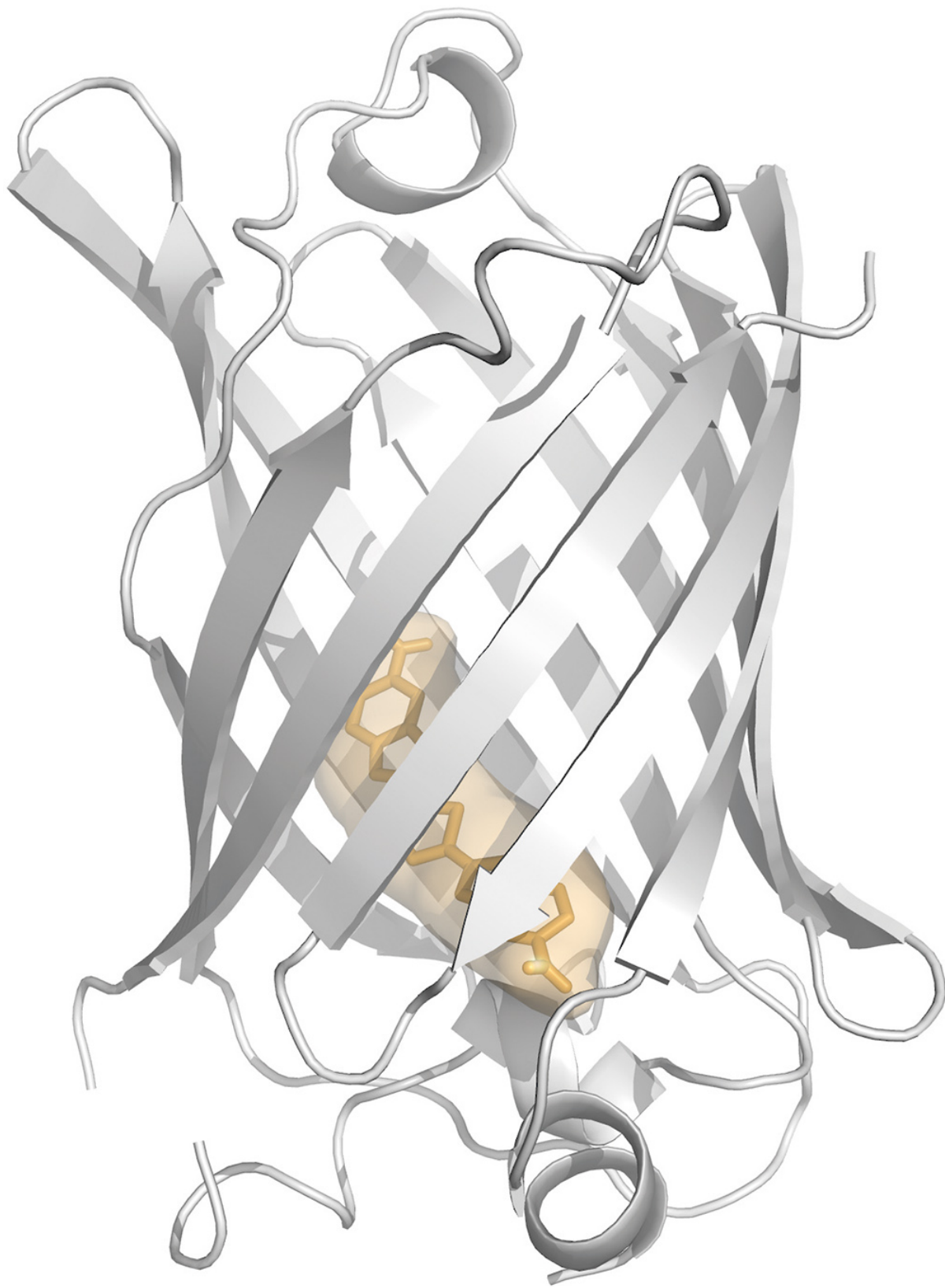


Abb. 3: Rendering eines Farbstoffes der an ein verändertes „beta-Fass“-Protein gebunden ist. Der Fluoreszenzfarbstoff wird über eine künstliche Aminosäure kovalent an das Protein gebunden. Während der Computer unterstützten Sequenzoptimierung des Proteins werden alle Interaktionen des Fluorophors mit der Proteinumgebung optimiert.

## Umweltfreundliche Polymerbeschichtungen zu Beleuchtungszwecken

Das Interesse an der Verwendung von Proteinen als Farbfilter beruht einerseits auf ihrer Fähigkeit, der Umgebung des Chromophors einen hervorragenden Schutz zu bieten, und andererseits auf einer im Wesentlichen unbegrenzten Produktion durch Expression in Bakterien, sowie einem hohen Grad an Optimierungsmöglichkeiten. Das Hauptproblem ist jedoch ihre üblicherweise geringe Stabilität außerhalb der Zellumgebung und / oder physiologischen Bedingungen in wässrigen Lösungen. Dies wurde unter Verwendung einer innovativen Stabilisierungsmethode gelöst, bei der verzweigte und lineare Polyethylenderivate kombiniert wurden, um die das Protein umgebenden Wassermoleküle durch physikalische Vernetzung beim Trocknen zu ersetzen. Auf diese Weise behält das Protein seine Funktionalität in einem leicht zu manipulierenden Polymermaterial bei und kann somit als Filter für Beleuchtungsanwendungen verwendet werden. Die ersten Bio-WLEDs bestanden aus einem Blau-LED-Chip, der von mehreren natürlichen FPs wie dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) oder einer ähnlichen Version, die rote Fluoreszenz zeigt (mCherry), überzogen waren. Diese ersten Bio-WLEDs wandeln Blau teilweise in Grün und Rot um und erreichen Wirkungsgrade  $>50 \text{ lm/W}$ , einen Farbwiedergabeindex (CRI)  $>80$  und Stabilitäten  $> 100 \text{ h}$  (Abb. 4) [3]. Weitere Optimierungen (Polymere / Proteine) führten zu  $>3000 \text{ h}$  Laufzeit bei  $>130 \text{ lm/W}$  [4]. Somit sind Lösungen für pH-, Temperatur- und oxidativ bedingte Zersetzungen verfügbar. Die in natürlichen FPs vorhandenen Chromophore zeigen jedoch eine deutliche Photodeaktivierung (H-Transfer / cis-trans-Isomerisierung) in der Polymermatrix. Daher könnte die Neugestaltung des Proteins in Bezug auf seinen Chromophor der Schlüssel zu hochstabilen und effizienten biobasierten Beleuchtungssystemen sein.



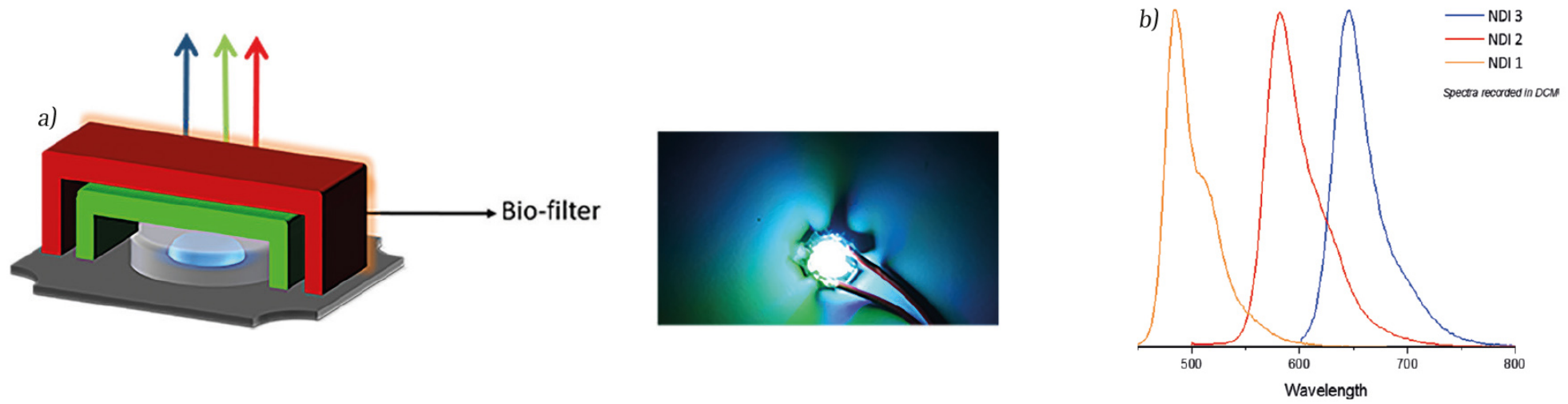


Abb. 4: a) Schematische Darstellung einer Bio-WLED bzw. das Bild eines ersten Prototyps in Betrieb. b) Emissionsspektren der derzeit verwendeten Fluoreszenzfarbstoffe.

## Großproduktion

Um die artifiziellen, fluoreszierenden Proteine für die Produktion in größerem Maßstab zu testen, wird der Industriepartner Abiel den operativen Transfer der neuartigen fluoreszierenden Proteine von der Chargenproduktion im Labormaßstab mittels Schüttelkolben, auf ein Fermenter-basiertes Scale-up testen, um die Möglichkeit einer industriellen Produktion in Bezug auf Quantität und Qualität zu untersuchen. Endziel des Projekts ist es, Produktions- und Reinigungsprozesse zu entwickeln, die im Vergleich zu den aktuellen Standards absolut wettbewerbsfähig in Bezug auf die Kosten sind.

## Fazit

Die Erfindung der WLEDs gilt als die Zukunft der künstlichen Beleuchtung, da alle alten Glühlampen durch die hocheffiziente und stabile LED-Technologie ersetzt werden können. Dies ist jedoch mit hohen ökologischen Kosten verbunden, da Rohstoffe verwendet werden, die auf lange Sicht nicht nachhaltig sind. Innerhalb von Artibled wurde ein interdisziplinäres Konsortium zusammengestellt, um die nächste Generation von LEDs zu entwickeln, mit dem Ziel, die aufkommende Bio-LED-Technologie voranzutreiben. Der Plan ist, basierend auf dem beschriebenen innovativen Ansatz, die tatsächliche Geräteleistung zu steigern, indem artifizielle, fluoreszierende Proteine und Polymere kombiniert werden, die umweltfreundlich, kostengünstig und nachhaltig sind. Das Konsortium erwartet daher einen deutlichen Entwicklungssprung in allen oben genannten Teilbereichen und erreicht gleichzeitig eine gut ausgerichtete technologische Perspektive: die günstige, direkte Produktion von Biomaterialien für die Beleuchtung. Dies ist ein einzigartiger Ansatz, der bei Erfolg die Zukunft unserer Heimbeleuchtung prägen wird.

## Autoren

Claudia Barolo<sup>1</sup>, Aitziber L. Cortajarena<sup>2</sup>, Rubén D. Costa<sup>3</sup>, Pedro B. Coto<sup>4</sup>, Giulio Gherzi<sup>5,6</sup>, Gustav Oberdorfer<sup>7</sup>

## Zugehörigkeit

<sup>1</sup>Fakultät für Chemie, Universität Turin, Turin, Italien

<sup>2</sup>CIC biomagune - Zentrum für kooperative Forschung in Biomaterialien, San Sebastian, Spanien

<sup>3</sup>Lehrstuhl für Biogene Funktionswerkstoffe, Technische Universität München, Deutschland

<sup>4</sup>Materials Physics Center (CFM), Spanish National Research Council (CSIC), San Sebastián, Spanien

<sup>5</sup>Fachbereich Biologische, Chemische und Pharmazeutische Wissenschaften und Technologien, Universität von Palermo, Italien

<sup>6</sup>Abiel, Palermo, Italien

<sup>7</sup>Institut für Biochemie, Technische Universität Graz, Österreich

## Kontakt

### Dr. Gustav Oberdorfer

Technische Universität Graz

Institut für Biochemie

Graz, Österreich

[gustav.oberdorfer@tugraz.at](mailto:gustav.oberdorfer@tugraz.at)

### Dr. Rubén D. Costa

Lehrstuhl für Biogene Funktionswerkstoffe

Technische Universität München

Straubing, Germany

[ruben.costa@tum.de](mailto:ruben.costa@tum.de)

## Literatur

[1] a) Eurostat, [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Consumption\\_of\\_energy](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Consumption_of_energy), June 2017 b) EU Commission, <https://ec.europa.eu/energy/en/news/commission-proposes-new-rules-consumer-centred-clean-energy-transition>, Dec. 2017.)

[2] a) CADMUS, [http://ma-eeac.org/wordpress/wp-content/uploads/MA-Task-5b-LED-Incremental-Cost-Study\\_FINAL\\_01FEB2016.pdf](http://ma-eeac.org/wordpress/wp-content/uploads/MA-Task-5b-LED-Incremental-Cost-Study_FINAL_01FEB2016.pdf), Feb. 2016  
b) US Department of Energy [https://energy.gov/sites/prod/files/2017/09/f37/ssl\\_suggested-research-topics\\_sep2017.pdf](https://energy.gov/sites/prod/files/2017/09/f37/ssl_suggested-research-topics_sep2017.pdf); Sep. 2017.

[3] a) M. D. Weber, et al. Adv. Mater., 2015, 27, 5493 doi: [10.1002/adma.201502349](https://doi.org/10.1002/adma.201502349). b) L. Niklaus, et al. Adv. Funct. Mater. 2017, 27, 1601792 doi: [10.1002/adfm.201601792](https://doi.org/10.1002/adfm.201601792). c) C. Fernández et al. ACS Omega, 2018, 3, 15829 doi: [10.1021/acsomega.8b02226](https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02226). d) V. Fernández-Luna, et al. Angew. Chem., Int. Ed. 2018, 57, 8826 doi: [10.1002/anie.201711433](https://doi.org/10.1002/anie.201711433).

[4] A. Espasa et al. Nat. Commun. 2020, 11, 879 doi: [10.1038/s41467-020-14559-8](https://doi.org/10.1038/s41467-020-14559-8)

[5] a) P. Huang, et al. Nature 2016, 537, 320–327 doi: [10.1038/nature19946](https://doi.org/10.1038/nature19946). b) Chin, J. et al. Nature 2017, 550, 53–60 doi: [10.1038/nature24031](https://doi.org/10.1038/nature24031)

[6] P-S. Huang, et al. Science 2014, 346, 481-485 doi: [10.1126/science.1257481](https://doi.org/10.1126/science.1257481)

## About the authors

### Claudia Barolo

 Faculty for Chemistry, University Turin, Turin, Italy



More by this author 

Claudia Barolo is Associate Professor at the University of Turin, Italy since December 2014.


### Aitziber L Cortajarena

More by this author 

### Rubén D Costa

More by this author 

### Pedro B Coto

More by this author 

### Giulio Gherzi

More by this author 

### Gustav Oberdorfer

 Institute for Biochemistry, Technical University Graz, Austria



More by this author 

## Related

News | [Microscopy](#) | [Light Microscopy](#)

### [Powerful, Multi-Wavelength LED Illumination for All Your Fluorophores](#)

21 March 2017

News | [Microscopy](#) | [Light Microscopy](#)

### [Finally... a true arc lamp replacement. Make the switch to LED](#)

29 May 2018

News | [Microscopy](#) [Light Microscopy](#)

## Finally... a True Arc Lamp Replacement. Make the Switch to LED.

26 September 2018

### Media



### Keywords

Biotechnologie

Fluoreszenzfarbstoffe

## Latest Issues

[Imaging & Microscopy](#)

Read latest issue

[Microscopy and Analysis](#)

Read latest issue

[GIT Laboratory Journal](#)

Read latest issue

[GIT Labor-  
Fachzeitschrift](#)

Aktuelle Ausgabe

## Subscribe to the Wiley Analytical Science newsletter

Stay up to date with analytical science product and industry news.

Email

Please enter your email

Country or Region

Select country or region

Yes, I have read and agree to the [Wiley Analytical Science Terms of Use](#) and [Wiley Privacy Policy](#).

Subscribe



Choose language

## About Wiley Analytical Science

[About](#)

[Privacy Policy](#)

[Terms of Use](#)

[Cookies](#)

[Accessibility](#)

## Publications

[G.I.T. Laboratory Journal](#)

[GIT Labor-Fachzeitschrift](#)

[Imaging & Microscopy](#)

[Microscopy & Analysis](#)

[Wiley Online Library](#)

## Help & Support

[Contact Us](#)

[Buyers Guide](#)

[Press](#)

[Advertise](#)

[Sitemap](#)

## Connect with Wiley

[The Wiley Network](#)

[Wiley Press Room](#)

# WILEY