

Quercetin-2,4-Dioxygenase aktiviert Sauerstoff in einem „side-on“ gebundenen O₂-Ni-Komplex

Jae-Hun Jeoung, Dimitrios Nianios, Susanne Fetzner und Holger Dobbek*

Abstract: Die Quercetin-2,4-Dioxygenase (Quercetinase) von *Streptomyces* nutzt Nickel als Kofaktor, um die oxidative Spaltung des Flavonols Quercetin zu katalysieren. Wie dieses ungewöhnliche Metall im aktiven Zentrum die Katalyse und Sauerstoffaktivierung unterstützt, ist unklar. Wir stellen Kristallstrukturen der Ni-Quercetinase in drei verschiedenen Zuständen vor, die direkte Einblicke geben, wie Quercetin und O₂ am Ni²⁺-Ion aktiviert werden. Ni²⁺ wird in allen drei Zuständen durch drei Histidin-Reste und einen Glutamat-Rest (E⁷⁶) koordiniert. Wenn Quercetin bindet, ersetzt es einen Wasserliganden am Nickel und wird durch eine kurze Wasserstoffbrücke zu E⁷⁶ stabilisiert, dessen Carboxylat-Gruppe sich um 90° dreht. Diese Konformationsänderung schwächt die Wechselwirkung zwischen Nickel und dem verbleibenden Wasserliganden und bereitet eine Koordinationsstelle am Nickel zur Bindung von O₂ vor. O₂ bindet „side-on“ an das Ni²⁺-Ion und steht senkrecht zu den C2-C3- und C3-C4-Bindungen des Quercetins, die in den folgenden Schritten gespalten werden.

Zersetzen Pflanzenteile und die Exsudate von Wurzeln und Blättern setzen Quercetin (3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavon, kurz QUE) und andere Flavonoide frei,^[1] die von Bodenmikroorganismen, filamentösen Pilzen und Bakterien katabolisiert oder detoxifiziert werden.^[2] Der aerobe mikrobielle Abbau von QUE beginnt mit der 2,4-dioxygenolytischen Spaltung von QUE zur 2-Protocatechuylphloroglucinol-Carbonsäure (ein Depsid) und Kohlenmonoxid, katalysiert durch die Quercetin-2,4-Dioxygenase (Quercetinase, QueD).

QueDs gehören zur Cupin-Superfamilie, deren Mitgliedern eine charakteristische β-Fass-Struktur eigen ist. QueDs nutzen ein konserviertes 3-His-1-Glu Motiv zur Bindung eines für ihre Funktion essentiellen Metallions.^[3] Während QueDs aus Pilzen Cu-abhängig sind, zeigen bakterielle QueDs mit verschiedenen promiskuitiv gebundenen Metallen unterschiedlich hohe Aktivitäten. Die Strukturen von QueDs aus *Aspergillus japonicus* (QueD^{Aj}) und *Bacillus subtilis* (QueD^{Bs}) wurden bereits in An- und Abwesenheit von QUE

und Inhibitoren bestimmt.^[4] Trotzdem blieb es offen wie QueDs O₂ aktivieren: entweder reagiert QUE direkt mit O₂, wobei das Metallion nur die reaktivere anionische Form von QUE stabilisiert, oder O₂ wird durch Bindung an das Metall im aktiven Zentrum aktiviert.^[3,5] Reaktionsmechanismen ohne direkte Bindung von O₂ an Nickel sind aus verschiedenen Gründen attraktiv: QUE kann mit O₂ spontan reagieren, d.h. eine Aktivierung von O₂ an einem Metall erscheint unnötig.^[6] anorganische Metallkomplexe, die die Zersetzung von QUE mit O₂ katalysieren, benötigen keine offenen Koordinationsstellen am Metall.^[7] Kofaktor-unabhängige Dioxygenasen^[8] katalysieren die Spaltung bestimmter heteroaromatischer Ringe mit O₂ ohne Metall; und die Anwesenheit verschiedener Metalle in den unterschiedlichen QueDs deutet darauf hin, dass die individuellen Eigenschaften des jeweiligen Metalls für die Katalyse unbedeutend sind.^[3]

Wir haben die Quercetinase des *Streptomyces*-sp.-Stamms FLA (QueD^{FLA}) untersucht, die sich von den strukturell-charakterisierten Bicupin-QueDs durch ihre Monocupin-Faltung und das Metall im aktiven Zentrum unterscheidet.^[9] QueD^{FLA} zeigt höchste Aktivität mit Ni²⁺, einem für Dioxygenasen ungewöhnlichen Kofaktor, aber andere zweiwertige d-Block-Metalle, wie Co²⁺, Mn²⁺ und Fe²⁺, können Ni²⁺ ersetzen, allerdings mit geringerer (Co²⁺, Mn²⁺) oder fehlender (Fe²⁺) katalytischer Aktivität.^[9,10]

Ziel unserer Arbeit war es, die katalytische Funktion des Ni-Ions in QueD^{FLA} zu bestimmen. Mithilfe eines kristallographischen Kühleinfang-Ansatzes können wir zeigen wie QUE Ni²⁺ für die „Side-on“-Bindung von O₂ vorbereitet, sodass O₂ mit QUE reagieren kann.

Wir haben die Kristallstruktur von QueD^{FLA} mittels Ni-SAD-Phasierung gelöst und die Struktur des Enzyms in drei Zuständen zu Auflösungen von 1.8 bis 2.15 Å verfeinert (Tabelle S1). QueD ist ein Dimer in Lösung^[9a] und liegt als dicht gepacktes Homodimer in der asymmetrischen Einheit (ASU) des Kristalls vor (Abbildung 1a). Jedes Monomer bildet die typische Monocupin β-Fass-Struktur und bindet ein Ni-Ion im aktiven Zentrum (ein Nickelion auf 180 Aminosäurereste). Der N-terminale β-Strang des β-Fasses stammt von einem Monomer, während die verbleibenden elf β-Stränge vom anderen Monomer stammen. Beide Monomere sind sehr ähnlich und können mit einer mittleren quadratischen Abweichung der Ca-Atome von 0.4 Å überlagert werden. Das aus den zwei Monocupinen aufgebaute Ni-QueD^{FLA}-Dimer ist nahezu identisch mit den Bicupinen der Cu- und Fe-haltigen QueDs mit einer mittleren quadratischen Abweichung der Ca-Atome von 1.6–1.8 Å (Abbildung S5 A).^[4,5b]

Die Struktur des Ruhezustandes (freies E) haben wir bei einer Auflösung von 1.8 Å verfeinert (Tabelle S1). Das Ni-

[*] Dr. J.-H. Jeoung, Prof. Dr. H. Dobbek
Institut für Biologie, Strukturbioologie/Biochemie
Humboldt-Universität zu Berlin
Unter den Linden 6, 10099 Berlin (Deutschland)
E-Mail: holger.dobbek@hu-berlin.de

Dr. D. Nianios, Prof. Dr. S. Fetzner
Institut für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie
Westfälische Wilhelms-Universität Münster
48149 Münster (Deutschland)

Hintergrundinformationen und ORCID von Autoren zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201510741> zu finden.

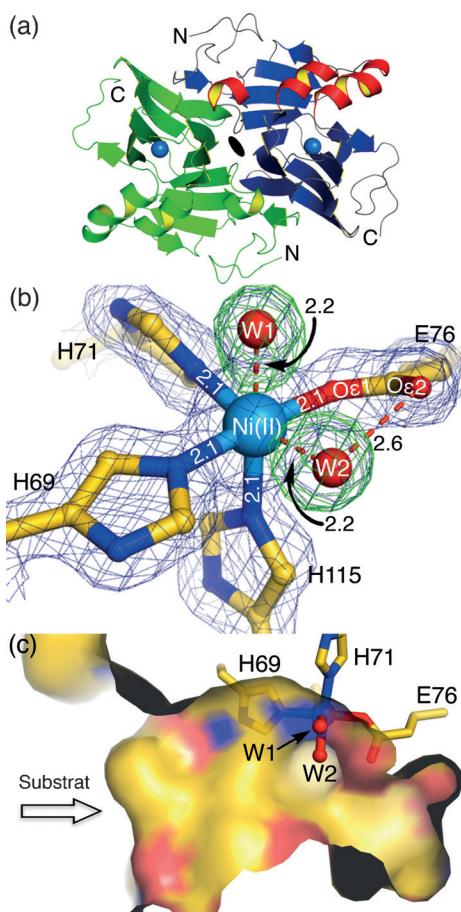


Abbildung 1. Kristallstruktur von Ni-QueD im Ruhezustand (freies E) mit 1.80 Å Auflösung. a) Struktur des Ni-QueD-Dimers. Das β-Fass einer Untereinheit ist blau mit roten α-Helices gezeigt (rechtes Molekül), während die zweite Untereinheit grün dargestellt ist. Das schwarze Oval in der Mitte des Dimers markiert die Position der zweizähligen Achse. b) Koordination von Ni²⁺ im Ruhezustand. SigmaA-gewichtete $2F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ - und $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -„omit“-Elektronendichtheckarten (blaues bzw. grünes Gitter) sind bei 1.5 und 4.0 σ konturiert. Die Distanzen in allen Abbildungen sind in Angstrom genannt. c) Oberflächendarstellung des aktiven Zentrums um Ni²⁺.

ckelion wird durch die Nε2-Atome dreier His-Reste (H⁶⁹, H⁷¹, und H¹¹⁵), *syn*-einzählig durch Oε1 von E⁷⁶ sowie zwei Wasserstoffmoleküle (W1 und W2) in einer verzerrt-oktaedrischen Anordnung koordiniert (Abbildung 1b). Die Ni²⁺-Ligand-Bindungslängen liegen bei 2.1–2.2 Å, wie für Ni-Komplexe typisch.^[11] Das zweite Sauerstoffatom (Oε2) von E⁷⁶ befindet sich in Wasserstoffbrückendistanz zu W2 (2.6 Å) und ist 3.4 Å vom Ni-Ion entfernt („Carboxylate-Out“-Konformation). Die Substratbindetasche ist offen, direkt zugänglich für Lösungsmittelmoleküle und exponiert die Wasserliganden im aktiven Zentrum (Abbildung 1c). Die Koordination des Ni ist ähnlich wie in der Acireducton-Dioxygenase.^[12] Die Struktur des 3His-1Glu-Metallbindemotivs ist in allen QueDs hoch-konserviert (Abbildung S5-B-D).^[4b,5b]

Die Kristallstruktur von Ni-QueD^{FLA} mit gebundenem QUE (ES-Komplex) wurde bei einer Auflösung von 2.15 Å bestimmt (Abbildung 2 und Tabelle S1). Elf der zwölf Moleküle in der ASU enthalten QUE mit einem Besetzungsgrad

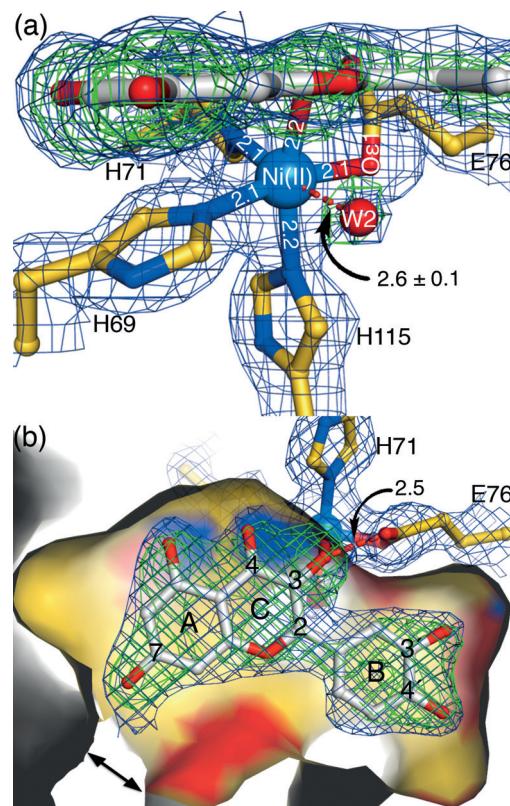


Abbildung 2. Struktur des ES-Komplexes bei 2.15 Å. a) Bindung von QUE an das Ni²⁺-Ion. Die Struktur hat eine ähnliche Orientierung wie in Abbildung 1b. b) Oberflächendarstellung des QUE gebundenen aktiven Zentrums (gleiche Orientierung wie in Abbildung 1c). C-Atome von QUE sind grau eingefärbt, andere Atome sind wie in Abbildung 1 eingefärbt. Die gewichtete $2F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -Elektronendichtheckarte (blaues Gitter) und $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -„omit“-Differenzdichte (grünes Gitter) sind bei 1.2 bzw. 3.5 ökonturiert. Die „omit“-Dichtheckarte wurde unter Auslassung von QUE und W2 berechnet.

von 70–90 % und B-Faktoren von ca. 35 Å² (Tabelle S2). QUE wird im aktiven Zentrum durch drei H-Brücken und seine Koordination an Ni gehalten (Abbildung 2 und S1 A) und ist in Van-der-Waals-Distanz von hydrophoben Seitenketten umgeben (Abbildung S1). QUE bindet über O₃_{QUE} in *trans* zu H¹¹⁵ an das Nickelion, wobei es den Wasserliganden (W1) verdrängt (Abbildung 2a). Details der Nickel-Umgebung sind in Tabelle S3 aufgeführt. Die Carboxylatgruppe von E⁷⁶ dreht sich um ca. 90° nach QUE-Bindung und bringt dabei ihr Oε2-Atom in eine kurze Wasserstoffbrückendistanz (2.5 Å) zu O₃_{QUE}, wobei sich auch die Distanz zwischen Oε2 und Ni²⁺ von 3.4 Å auf 2.9 Å verringert („Carboxylate-In“-Konformation). QUE ist an C₂_{QUE} leicht gebogen ($\approx 5^\circ$; Tabelle S3). Während die Bindungslängen der anderen Ni-Liganden gleich bleiben, schwächt die QUE-Bindung die Bindung zwischen Nickel und W2, wodurch sich die Bindungslänge von 2.2 Å auf 2.6 ± 0.1 Å erhöht ($n = 11$ in ASU).

Die Bindung von QUE induziert auch Konformationsänderungen im aktiven Zentrum. Die QUE-Bindung verringert die Zugänglichkeit des aktiven Zentrums für Solvensmoleküle (Abbildung 2b), da die Bewegungen von vier hydrophoben Resten (F³⁶, P⁶⁷, F¹⁶⁵ und F¹⁷⁶), einer kleinen Helix

(Deckel-Helix) und E⁶⁴ als „Türwächter“ den Eingang zum aktiven Zentrum verengen (Abbildungen 2b und S1-B).

Wir versetzten Kristalle des ES-Komplexes für 1–10 min mit reinem Sauerstoff und haben reaktive Zustände durch Tiefkühlung stabilisiert. Die resultierenden Kristallstrukturen wiesen eine längliche Differenzdichte ($F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -Karte) am Ni auf, wo im ES-Komplex der Wasserligand (W2) gebunden war (Abbildung S2). Wir wiederholten die gleiche Behandlung zweimal und beobachteten ähnlich längliche Elektronendichten. Wenn ES-Komplex-Kristalle länger als 10 min mit Sauerstoff inkubiert wurden, enthielt das aktiven Zentrum wenig oder keine Elektronendichte für QUE, was auf einen kompletten katalytischen Zyklus und die Rückkehr in den freien E-Zustand hinweist.

Wir konnten die Kristallstruktur des ES-Komplexes mit O₂ bei einer Auflösung von 1.82 Å bestimmen (Tabelle S1). Dabei zeigten zwei der zwölf Moleküle isomorphe, längliche, positive Elektronendichte am Nickel (Ketten C und F) (Abbildung 3), wobei die anderen Ketten die gleiche Struktur wie im ES-Komplex hatten. Wurde O₂ in die längliche Elektronendichte modelliert, verschwand die Differenzdichte. Wenn hingegen einatomige Modelle, wie ein einzelnes Sauerstoffatom, an der Stelle eingebaut wurden, z. B. W2 im ES-Komplex, reichte dies nicht aus, und auch nach mehreren Verfeinerungszyklen verblieb zusätzliche positive Elektronendichte neben dem modellierten Wasser (Abbildung S3). Das Modell

mit O₂ wurde mit einer Besetzungszahl von mehr als 70 % und B-Faktoren für die beiden Sauerstoffatome von 35 und 36 Å² verfeinert (Tabelle S2).

Sauerstoff bindet „side-on“ an das Ni²⁺-Ion und steht senkrecht zur Ebene der drei QUE-Ringe. Beide Ni-O-Bindungslängen wurden zu 2.4 Å verfeinert, was auf eine schwache Wechselwirkung zwischen Ni und dem symmetrisch „side-on“ gebundenen O₂ hinweist (Abbildung 3). Aufgrund der Auflösung der Struktur ($d_{\text{min}} = 1.82$ Å), musste die O_{1O₂}-O₂O₂-Bindungslänge für die Strukturverfeinerung vorgegeben werden. Dabei führten Werte von 1.20 und 1.35 Å zu einer guten Übereinstimmung mit der Elektronendichte (siehe die Hintergrundinformationen). O_{1O₂} ist C₂_{QUE} nahe (2.6 Å). Durch die Bindung von O₂ hat sich der Biegewinkel von QUE an C2 zu 7–8° erhöht (Abbildung S4). Die restliche Umgebung des Nickelions ändert sich durch die O₂-Bindung nicht.

Unsere Strukturen unterstützen den folgenden Mechanismus der Substrataktivierung durch Ni-QueD^{FLA} (Abbildung 4): Im freien E-Zustand ist Nickel oktaedrisch koordiniert und trägt zwei Wasserliganden, von denen einer (W2) zusätzlich durch eine kurze H-Bindung durch die „Carboxylate-Out“-Konformation von E⁷⁶ stabilisiert wird (Abbildung 4-I). Nach Bildung des ES-Komplexes, ersetzt die O₃_{QUE}-Gruppe einen Wasserliganden am Ni²⁺, und QUE bindet einzähnig an Ni²⁺, wobei eine zweizähnige Bindung

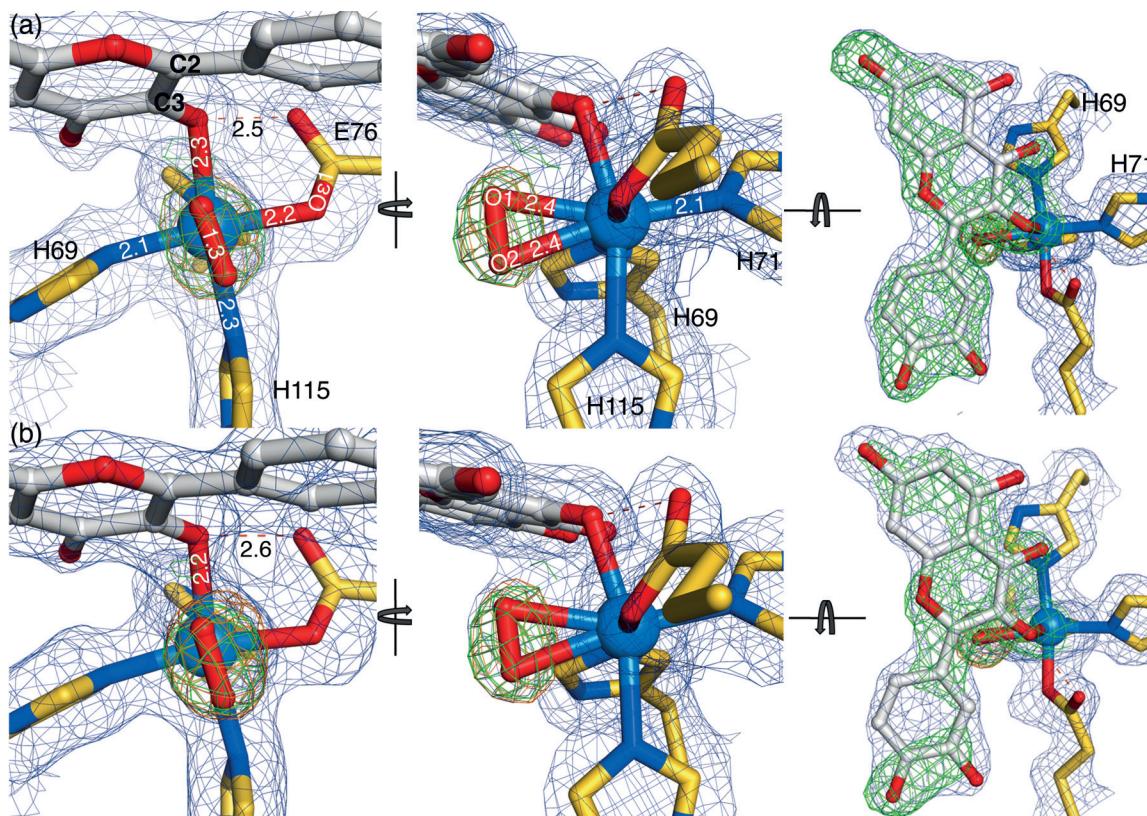


Abbildung 3. Struktur des O₂-gebundenen ES-Komplexes bei 1.82 Å (ES:O₂-Komplex). a,b) ES:O₂-Komplexstrukturen in den Ketten C und F. Die O₁-O₂-Bindungslänge wurden in den beiden Ketten zu 1.30 Å verfeinert. Nur die zwischen beiden Ketten variiierenden Bindungslängen sind in Abbildung 3 b zu sehen. SigmaA-gewichtete $2F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -Elektronendichtekarte (blaues Gitter) mit einem Konturierungsgrad von 1.5 σ. Die grüne, gewichtete $F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}$ -„omit“-Differenzdichtekarte für QUE und O₂ ist bei 3.8 σ konturiert und wurde nach Auslassung von QUE und O₂ berechnet. Eine „Simulated-annealing-omit“-Dichtekarte für Sauerstoff wurde bei 3.6 σ konturiert und orange eingefärbt.

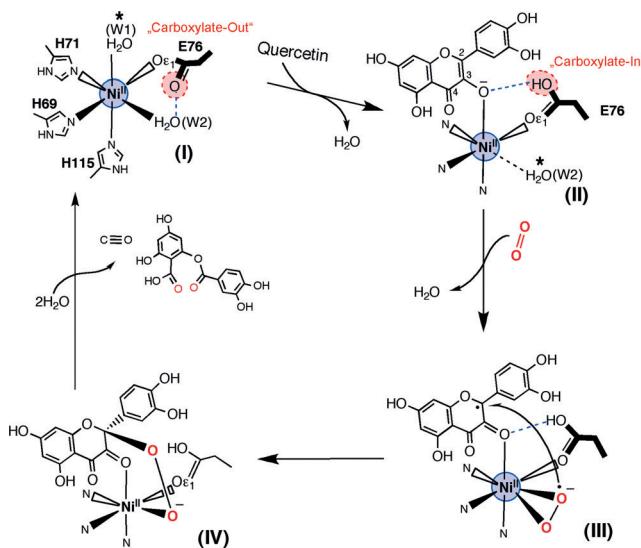


Abbildung 4. Strukturbasierter Reaktionsmechanismus: (I) Freier E-Zustand. (II) ES-Komplex. (III) Präsentations-ES-O₂-Komplex. Das Elektron zur Reduktion von Sauerstoff zum Superoxid-Anion kann entweder von Quercetin (wie gezeigt) oder Ni^{II} kommen. (IV) Peroxydat-Zwischenprodukt vor Einbau der beiden Sauerstoffatome. Mit einem Stern markierte Wassermoleküle kennzeichnen die Stellen, an denen im nächsten Schritt Substrat, QUE oder O₂, bindet.

durch die Enge im aktiven Zentrum verhindert wird (W1, Abbildung 4-II). Gleichzeitig ändert E⁷⁶ seine Konformation zu „Carboxylate-In“ und kann nun HO₃_{QUE} deprotonieren. Die Bindung von QUE und die begleitende „Carboxylate-In“-Bewegung von E⁷⁶ schwächen die Ni-Wasser-Bindung und verlängern sie von 2.2 Å zu 2.6 Å (Abbildung 2a und Abbildung 4-II). Diese Bindungsschwächung ist wahrscheinlich notwendig, um den Ligandenaustausch von W2 gegen das nur schwach bindende O₂ zu gewährleisten. Parallel ablaufende Konformationsänderungen schützen nicht nur das aktive Zentrum vor dem Solvens, sondern erzeugen auch einen kleinen Kanal für die Diffusion von O₂ zur Bindestelle am Ni²⁺-Ion (Abbildung 2b und Abbildung S1B). Sauerstoff bindet dann „side-on“ an Ni²⁺ (Abbildung 3 und Abbildung 4-III).

Der elektronische Zustand des Ni:QUE:O₂-Komplexes bleibt unbestimmt. Superoxo- und Peroxo-Spezies können anhand der O-O-Bindungslängen unterschieden werden, wobei kurze O-O-Bindungen in anorganischen Modellkomplexen mit „Side-on“-Ni^{II}-Superoxo-Komplexen gefunden werden (1.35 Å),^[13,14] wohingegen Ni^{III}-Peroxo-Komplexe O-O-Bindungslängen im Bereich von 1.4 Å haben.^[15] Die beobachtete O-O-Bindungslänge von bis zu 1.35 Å im ES:O₂-Komplex von Ni-QueD^{FLA} würde daher sowohl zu einem Sauerstoffmolekül oder auch Superoxidanion am Ni passen.

Nach Bindung und Aktivierung beider Substrate müssen der Angriff des aktivierten O₂ auf QUE sowie die Spaltung der O-O- und C-C-Bindungen folgen.^[5,16] Auf der Basis von DFT-Rechnungen haben Siegbahn et al.^[17] vorgeschlagen, dass der energetisch günstigere Reaktionsweg mit der Bildung der C2-O- und C4-O-Bindung beginnt, woraufhin die O-O- und die beiden C-C-Bindungen unter gleichzeitiger Freisetzung von CO und des Depsides gespalten werden (Abbildung 4-IV).

Dieser Mechanismus wird auch durch unsere Kristallstrukturen gestützt, in denen das Ni²⁺-gebundene O₂ sehr nahe an C2_{QUE} (2.6 Å) liegt, wobei die Überlappung der Van-der-Waals-Radien beider Atome darauf hindeutet, dass geringe Bewegungen ausreichen, um die vorgeschlagenen Übergangszustände zu erreichen und die Reaktionssequenz auszulösen.^[17]

Zusammenfassend gilt, dass beide Substrate für die folgende Reaktion durch Ni²⁺ aktiviert und ausgerichtet werden: QUE durch Stabilisierung des deprotonierten, anionischen Zustands und O₂ durch „Side-on“-Bindung und wahrscheinlich durch eine Ein-Elektronen-Reduktion. Insgesamt ist damit der Mechanismus von Ni-QueD^{FLA} ähnlicher zu denen der Fe²⁺-abhängigen Dioxygenasen, wie Homoprotocatechuat-Dioxygenase^[18] oder Homogentisat-Dioxygenase,^[19] und unterscheidet sich deutlich von demjenigen Kofaktor-freier Dioxygenasen.^[8]

Danksagung

Diese Studie wurde durch die DFG gefördert (FE 383/18-1 und EXC 314 „Unifying Concepts of Catalysis – UniCat“). Wir danken für den Zugang zu den Strahlrohren des BESSY II (Berlin, Germany) über das Joint Berlin MX-Labor.^[20] Wir danken Cornelia Heuberger für ihre Hilfe bei der Kristallisation, Dr. Stefan Hetz für die Bereitstellung reinen Sauerstoffs und den Mitgliedern unserer Arbeitsgruppen für die Diskussion.

Stichwörter: Biokatalyse · Dioxygenasen · Kohlenmonoxid · Nickel-Superoxo-Komplex · Sauerstoff-Aktivierung

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 3281–3284
Angew. Chem. **2016**, *128*, 3339–3343

- [1] T. Iwashina, *J. Plant Res.* **2000**, *113*, 287–299.
- [2] a) A. M. Marin, E. M. Souza, F. O. Pedrosa, L. M. Souza, G. L. Sasaki, V. A. Baura, M. G. Yates, R. Wassem, R. A. Monteiro, *Microbiology* **2013**, *159*, 167–175; b) S. Tranchimand, P. Brouant, G. Iacazio, *Biodegradation* **2010**, *21*, 833–859.
- [3] S. Fetzner, *Appl. Environ. Microbiol.* **2012**, *78*, 2505–2514.
- [4] a) F. Fusetti, K. H. Schroter, R. A. Steiner, P. I. van Noort, T. Pijning, H. J. Rozeboom, K. H. Kalk, M. R. Egmond, B. W. Dijkstra, *Structure* **2002**, *10*, 259–268; b) R. A. Steiner, W. Meyer-Klaucke, B. W. Dijkstra, *Biochemistry* **2002**, *41*, 7963–7968; c) B. Gopal, L. L. Madan, S. F. Betz, A. A. Kossiakoff, *Biochemistry* **2005**, *44*, 193–201.
- [5] a) D. Buongiorno, G. D. Straganz, *Coord. Chem. Rev.* **2013**, *257*, 541–563; b) R. A. Steiner, K. H. Kalk, B. W. Dijkstra, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16625–16630.
- [6] A. Nishinaga, T. Tojo, H. Tomita, T. Matsuura, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1979**, 2511–2516.
- [7] a) E. Balogh-Hergovich, G. Speier, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 7974–7978; b) G. Baráth, J. Kaizer, G. Speier, L. Parkanyi, E. Kuzmann, A. Vertes, *Chem. Commun.* **2009**, 3630–3632; c) Y. J. Sun, Q. Q. Huang, J. J. Zhang, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 6480–6489.
- [8] a) R. A. Steiner, H. J. Janssen, P. Roversi, A. J. Oakley, S. Fetzner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 657–662; b) S. Fetzner, *Nat. Chem. Biol.* **2007**, *3*, 374–375; c) S. Thierbach, N. Bui, J.

Zapp, S. R. Chhabra, R. Kappl, S. Fetzner, *Chem. Biol.* **2014**, *21*, 217–225.

[9] a) H. Merkens, S. Sielker, K. Rose, S. Fetzner, *Arch. Microbiol.* **2007**, *187*, 475–487; b) H. Merkens, R. Kappl, R. P. Jakob, F. X. Schmid, S. Fetzner, *Biochemistry* **2008**, *47*, 12185–12196.

[10] D. Nianios, S. Thierbach, L. Steimer, P. Lulchev, D. Klostermeier, S. Fetzner, *BMC Biochem.* **2015**, *16*, 1–10.

[11] L. Rulíšek, J. Vondrášek, *J. Inorg. Biochem.* **1998**, *71*, 115–127.

[12] „Nickel in Acireductone Dioxygenase“: T. C. Pochapsky, T. Ju, M. Dang, R. Beaulieu, G. M. Pagani, B. OuYang, in *Nickel and Its Surprising Impact in Nature*, Vol. 2 (Hrsg.: A. Sigel, H. Sigel, R. K. O. Sigel), Wiley, Chichester, **2007**.

[13] a) C. J. Cramer, W. B. Tolman, K. H. Theopold, A. L. Rheingold, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 3635–3640; b) P. L. Holland, *Dalton Trans.* **2010**, *39*, 5415–5425.

[14] a) S. Yao, E. Bill, C. Milsmann, K. Wieghardt, M. Driess, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7110–7113; *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7218–7221; b) K. Fujita, R. Schenker, W. W. Gu, T. C. Brunold, S. P. Cramer, C. G. Riordan, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 3324–3326.

[15] a) J. Cho, R. Sarangi, W. Nam, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1321–1330; b) J. Cho, H. Y. Kang, L. V. Liu, R. Sarangi, E. I. Solomon, W. Nam, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1502–1508.

[16] G. D. Straganz, B. Nidetzky, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1536–1548.

[17] P. E. M. Siegbahn, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 5944–5953.

[18] E. G. Kovaleva, J. D. Lipscomb, *Science* **2007**, *316*, 453–457.

[19] J.-H. Jeoung, M. Bommer, T. Y. Lin, H. Dobbek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 12625–12630.

[20] U. Mueller, N. Darowski, M. R. Fuchs, R. Forster, M. Hellmig, K. S. Paithankar, S. Pühringer, M. Steffien, G. Zocher, M. S. Weiss, *J. Synchrotron Radiat.* **2012**, *19*, 442–449.

Eingegangen am 19. November 2015
Online veröffentlicht am 5. Februar 2016