

## Hochleistungsfasern aus Spinnseide\*\*

Stefan Kubik\*

Ein Insekt, das sich in einem Spinnennetz verfängt, hat in der Regel keine Chance zu entkommen. Obwohl solch ein Netz aus geringsten Mengen hauchdünner Fäden aufgebaut ist, fängt es die Beute aus vollem Flug und hält sie fest, ohne dabei zu zerreißen. Für diese Fähigkeit sind in erster Linie die mechanischen Eigenschaften der Spinnseide, dem Hauptbestandteil der Fäden eines Spinnennetzes, verantwortlich. Spinnseide ist ein ungewöhnlich reißfestes, bruchsicheres und elastisches Faserprotein, das in diesen Eigenschaften nur von einigen modernen synthetischen Hochleistungspolymeren übertroffen wird.<sup>[1]</sup> Tabelle 1 zeigt, dass die von der

gewonnenen wird, gelingt eine Isolierung von Spinnseide aus der natürlichen Quelle aufgrund der Lebensgewohnheiten von Spinnen nicht in größerem Umfang. Alternativ können mikrobielle Verfahren zur gezielten Herstellung von Spinnseide verwendet werden, jedoch wurde trotz verschiedener Ansätze auch auf diesem Weg bislang kein Material erhalten, das eine Konkurrenz zu natürlicher Seide darstellen könnte. Erst kürzlich ist es einer Forschergruppe der Firma Nexia Biotechnologies in Kooperation mit dem Materials Science Team der U.S. Army gelungen, ein Spinnseidenprotein durch den Transfer der dazugehörigen Gene in geeignete Sägetierzellen zu erzeugen, das ähnliche mechanische Eigenschaften wie das natürliche aufweist.<sup>[2]</sup> Eine Produktion größerer Mengen Spinnseide für die Anwendung ist dadurch in greifbare Nähe gerückt.

Radnetzspinnen stellen bis zu sieben verschiedene Seidentypen her, die für unterschiedliche Einsatzgebiete im Netzbau oder der Kokonumhüllung optimiert sind.<sup>[1, 3]</sup> Aufgrund ihrer interessanten mechanischen Eigenschaften sind die Sicherungsfäden am besten untersucht. Der nichtproteinogene Anteil dieser Fäden ist <1 %,<sup>[3]</sup> sodass man sich bei der Aufklärung der molekularen Ursachen ihrer Eigenschaften im Wesentlichen auf das Faserprotein selbst konzentrieren kann. Die Seide eines Sicherungsfadens besteht jedoch nie aus nur einer einzigen Proteinsorte. Für die Sicherungsfäden der zwei am besten untersuchten Radnetzspinnen *Nephila clavipes* und *Araneus diadematus* wurden z.B. zwei (Spidroin I (MaSpI) und Spidroin II (MaSpII))<sup>[4]</sup> bzw. vier (ADF-1 bis ADF-4) Proteinbestandteile gefunden.<sup>[5]</sup> Die Aminosäuresequenz dieser Proteine wurde inzwischen mithilfe rekombinanter DNA-Verfahren weitgehend aufgeklärt.<sup>[4, 5]</sup> Obwohl sich die Primärstrukturen der einzelnen Proteine im Detail unterscheiden, treten bei allen gemeinsame charakteristische Strukturmerkmale auf. So findet man in allen Proteinketten Alanin-reiche Bereiche, welche sich mit Glycin-reichen Segmenten abwechseln. Röntgenstrukturuntersuchungen und FT-IR-spektroskopische Analysen zeigten, dass die Polyalaninregionen im Seidenfaden in kristallinen Domänen mit  $\beta$ -Faltblattstruktur lokalisiert sind. Die Glycin-reichen Regionen der Proteinketten haben eine weitgehend ungeordnete Sekundärstruktur, wobei lokal jedoch durchaus Schleifen oder Helices, die durch Wasserstoffbrücken stabilisiert sind, auftreten können.<sup>[1, 4]</sup> Für die hohe Hydrophilie der Spinnseide sind vor allem die in den ungeordneten Kettenbereichen lokalisierten Glutamineinheiten verantwortlich.<sup>[1]</sup> Insgesamt ähnelt diese Proteinstruktur dem Aufbau synthetischer

Tabelle 1. Ausgewählte Eigenschaften einiger natürlicher und synthetischer Fasern.<sup>[1]</sup>

	Dichte [g cm <sup>-3</sup> ]	Elastizitäts- modul [GPa]	Reiß- festigkeit [GPa]	Reiß- dehnung [%]	Belast- barkeit [MJ m <sup>-3</sup> ]
Nylon 6,6	1.1	5	0.95	18	80
Kevlar 49	1.4	130	3.6	3	50
Fangfäden von <i>A. diadematus</i>	1.3	10	1.1	27	160
Seide der Raupe <i>B. mori</i>	1.3	7	0.6	18	70
Schafwolle	1.3	0.5	0.2	50	60
Stahl	7.8	200	1.5	1	6

Radnetzspinne *Araneus diadematus* produzierte Sicherungsleine, welche u.a. zum Aufbau der Speichen des Netzes dient, fast die Reißfestigkeit von Stahl erreicht, dabei aber bedeutend elastischer und leichter ist. Fasern aus hochgeordnetem Poly(*p*-phenylenterephthalamid) (Kevlar) sind zwar reißfester und ähnlich leicht wie Spinnseide aber deutlich weniger elastisch. Außerdem ist das Spinnseidenprotein hydrophil, jedoch nicht wasserlöslich, und biologisch abbaubar.

Dieser Vergleich macht deutlich, dass Spinnseide ein hochinteressantes Ausgangsmaterial z.B. für Anwendungen in der Medizin oder zur Herstellung leichter, belastbarer Kompositmaterialien darstellt. Anders als Naturseide, die traditionell durch Kultivierung der Seidenraupe *Bombyx mori*

[\*] Priv.-Doz. Dr. S. Kubik

Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie  
Heinrich-Heine-Universität  
Universitätsstraße 1, 40225 Düsseldorf (Deutschland)  
Fax: (+49) 211-81-14788  
E-mail: kubik@uni-duesseldorf.de

[\*\*] Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Ritter für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Elastomere, in denen sich starre Vernetzungsstellen mit beweglichen ungeordneten Kettenbereichen abwechseln. Entsprechend haben die elastischen Eigenschaften von Spinnseide und synthetischen Elastomeren vergleichbare molekulare Ursachen: Bei Belastung werden die ungeordneten Kettenbereiche durch Strecken geordnet, wobei der Grad der Ausdehnung in erster Näherung von der Länge der Ketten in den amorphen Bereichen abhängt. Bei Entlastung streben die gestreckten Kettensegmente aufgrund des Entropiegewinns wieder den ursprünglichen ungeordneten Zustand an (Abbildung 1). Sollen Fasern mit den mechanischen Eigenschaften der Spinnseide hergestellt werden, müssen neben der Primärstruktur des Proteins also auch die sich in der Natur während des Spinnvorgangs ergebende Tertiär- und Quartärstruktur optimal reproduziert werden.

und dadurch aufwendig isoliert werden musste. Das kürzlich beschriebene Verfahren, bei dem zur Spinnseidensynthese geeignete Säugetierzellen, die auf die Sekretion von Proteinen spezialisiert sind, verwendet wurden, stellt aus verschiedenen Gründen einen entscheidenden Fortschritt dar.<sup>[2]</sup> Zum einen reichern diese Zellen das gebildete Protein nicht in ihrem Inneren an, sondern entlassen es während der Synthese ins umgebende Medium, aus dem es recht einfach isoliert werden kann. Darüber hinaus sind solche Zelltypen enger mit den Epithelzellen verwandt, welche in den entsprechenden Drüsen der Spinnen für die Freisetzung des Seidenproteins verantwortlich sind, und sie bieten daher bessere Voraussetzungen für eine fehlerfreie Proteinsynthese.

Bei den verwendeten Säugetierzellen handelte es sich um Rinderbrustzellen (MAC-T) und Hamsternierenzellen (BHK), in die die partielle cDNA eines Spinnseidenproteins (MaSpi, MaSpiII oder ADF-3) transferiert wurde.<sup>[2]</sup> Beide Zelltypen exprimierten anschließend das entsprechende Protein, jedoch waren die Ergebnisse für die Kombination BHK und ADF-3 am günstigsten. Die Molmasse des synthetisierten Proteins betrug aufgrund der Verwendung partieller cDNA ca. 60 kD und lag damit deutlich unter der mittleren Molmasse ( $M_w$ ) des natürlichen Spinnseidenproteins (bis zu 740 kD).<sup>[10]</sup> Beim Transfer von cDNA-Multimeren in die Zellen wurde zwar eine Expression von Proteinen mit der zu erwartenden höheren Molmasse beobachtet, die Synthese verlief jedoch deutlich ineffektiver, was auf die oben angeführten Ursachen zurückgeführt wurde. Die weiteren Untersuchungen konzentrierten sich daher auf das 60 kD schwere ADF-3, welches in einem Hohlfaserreaktor kontinuierlich in einer Menge von insgesamt 12 g (ca. 20 µg pro  $10^6$  Zellen pro Tag) synthetisiert, anschließend durch Ammoniumsulfatfällung angereichert und chromatographisch gereinigt wurde. Das so gewonnene ADF-3 war leicht in wässrigem Phosphatpuffer löslich, was für die weitere Verarbeitung vorteilhaft war und einen wichtigen Unterschied zu Spinnseideproteinen darstellt, die aus *E. coli* oder Hefen isoliert wurden.<sup>[7, 8]</sup>

In der Spinndrüse von Radnetzspinnen liegt das Seidenprotein in Form einer konzentrierten lytropen flüssigkristallinen Phase vor, die während des Spinnvorgangs ohne starke mechanische Beanspruchung extrudiert wird.<sup>[11]</sup> Dieser Vorgang unterscheidet sich vom technischen Verspinnen vieler synthetischer Polymere, bei dem z.B. ein gelöstes Polymer durch eine Spinndüse geeigneten Durchmessers in ein Fällbad gepresst wird und die mechanischen Eigenschaften der Faser danach durch nachträgliches Verstrecken verbessert werden. Auch das Protein der natürlichen Spinnseide kann in einem technischen Spinnprozess zu einer Faser verarbeitet werden,<sup>[12]</sup> das Produkt hat allerdings etwas schlechtere mechanische Eigenschaften als das natürliche Ausgangsmaterial. Dafür wurde u.a. die Verwendung des denaturierenden Hexafluorisopropanols als Lösungsmittel verantwortlich gemacht, welches die Sekundärstruktur des Seidenproteins und dadurch die Vororientierung der Proteinketten während des Spinnvorgangs wohl zu stark stört. Das synthetische, aus BHK gewonnene ADF-3 konnte dagegen aus wässriger Lösung versponnen werden.<sup>[2]</sup> Nach Verstreckung wurde in diesem Fall eine Faser mit einem Durchmesser von 20 µm erhalten,

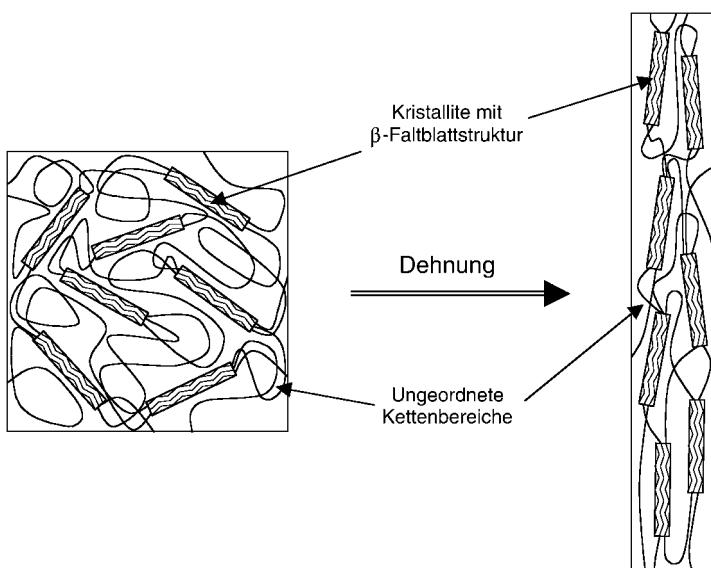


Abbildung 1. Schematische Darstellung des Aufbaus eines Spinnseidefadens und Veränderung dieser Struktur bei mechanischer Belastung.

Obwohl heutzutage der Stand der Technik die mikrobielle Produktion von Proteinen erlaubt, tritt bei der Herstellung von Faserproteinen mit stark repetitiver Struktur eine Reihe von Problemen auf.<sup>[6]</sup> So hat das dazugehörige Gen naturgemäß ebenfalls repetitive Sequenzen, welche zu genetischer Instabilität führen. Repetitive Sequenzen innerhalb der komplementären mRNA können darüber hinaus eine Überstrukturbildung induzieren, wodurch die Translation behindert wird. Zuletzt kommen in Faserproteinen einzelne Aminosäuren in ungewöhnlich hohen Anteilen vor (in den Spidroinen z.B. Alanin und Glycin), weshalb die Zellen große Mengen der entsprechenden tRNA für eine effektive Proteinsynthese zur Verfügung stellen müssen. Diese Einflüsse führen zu einer heterogenen Molgewichtsverteilung bei aus gentechnisch veränderten *E. coli* Stämmen gewonnenen Spinnseideproteinen mit einem hohen Anteil zu kurzer Ketten.<sup>[7]</sup> Etwas günstiger verlief die Synthese von Spinnseide in transgenen Hefen<sup>[8]</sup> oder Pflanzen wie Tabak und Kartoffeln.<sup>[9]</sup> Nachteilig war aber bei allen diesen Ansätzen, dass das Seidenprotein im Inneren der Zellen, z.B. im endoplasmatischen Retikulum der Pflanzenzellen, angereichert wurde

die in Morphologie, Elastizitätsmodul und Reißdehnung den natürlichen Sicherungsfäden von *Araneus diadematus* entsprach. Allein ihre Reißfestigkeit war noch schlechter, jedoch mit der von regenerierter Spinnseide durchaus vergleichbar (Tabelle 2).<sup>[12]</sup> Wenn man berücksichtigt, dass die Molmasse

Tabelle 2. Vergleich ausgewählter Eigenschaften natürlicher, regenerierter und synthetischer Spinnseide.

	Elastizitätsmodul [GPa]	Reißfestigkeit [GPa]	Reißdehnung [%]
Fangfäden von <i>N. clavipes</i> <sup>[1]</sup>	22	1.3	12
Fangfäden von <i>A. diadematus</i> <sup>[1]</sup>	10	1.1	27
Regenerierte Seide von <i>N. clavipes</i> <sup>[12]</sup>	8	0.32	
Synthetisches ADF-3 <sup>[2, 15]</sup>	13	0.26	43

des verwendeten Proteins unter der des natürlichen lag und nur ein einziger Proteinbestandteil des Sicherungsfaden der Spinne für die Herstellung verwendet wurde, sind diese Ergebnisse sehr vielversprechend. Es ist zu erwarten, dass durch Optimierung des Verfahrens, möglicherweise auch durch gezielte Veränderung der Primärstruktur des Spinnseidenproteins,<sup>[13]</sup> Fasern zugänglich sein werden, welche der natürlichen Spinnseide noch ähnlicher sind. Nexia Biotechnologies vermarktet diese Fasern unter dem Handelsnamen BioSteel. Sie plant für eine Herstellung größerer Mengen die Verwendung transgener Ziegen, die das Protein in ihrer Milch exprimieren.<sup>[14]</sup> Anwendungen für Spinnseide werden dort gesehen, wo hohe mechanische Belastbarkeit verbunden mit biologischer Abbaubarkeit bei daraus hergestellten Fasern

oder Folien vorteilhaft sind, z. B. in der Medizin. Aufgrund der vorgestellten Ergebnisse ist eine Produktion von Hochleistungspolymeren auf Basis von Spinnseide inzwischen eine realistische Perspektive.

- [1] J. M. Gosline, P. A. Guerette, C. S. Ortlepp, K. N. Savage, *J. Exp. Biol.* **1999**, *202*, 3295–3303.
- [2] A. Lazaris, S. Arcidiacono, Y. Huang, J.-F. Zhou, F. Duguay, N. Chretien, E. A. Welsh, J. W. Soares, C. N. Karatzas, *Science* **2002**, *295*, 472–476.
- [3] S. Schulz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 324–327; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 314–327.
- [4] R. V. Lewis, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 392–398.
- [5] P. A. Guerette, D. G. Ginzinger, B. H. F. Weber, J. M. Gosline, *Science* **1996**, *272*, 112–115.
- [6] J. P. O'Brien, *Trends Polym. Sci.* **1993**, *1*, 228–232.
- [7] S. R. Fahnestock, S. L. Irwin, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1997**, *47*, 23–32.
- [8] S. R. Fahnestock, L. A. Bedzyk, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1997**, *47*, 33–39.
- [9] J. Scheller, K.-H. Gührs, F. Grosse, U. Conrad, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 573–577.
- [10] C. Jackson, J. P. O'Brien, *Macromolecules* **1995**, *28*, 5975–5977.
- [11] F. Vollrath, D. P. Knight, *Nature* **2001**, *410*, 541–548.
- [12] A. Seidel, O. Liivak, S. Calve, J. Adaska, G. Ji, Z. Yang, D. Grubb, D. B. Zax, L. W. Jelinski, *Macromolecules* **2000**, *33*, 775–780.
- [13] J. P. O'Brien, S. R. Fahnestock, Y. Termonia, K. H. Gardner, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 1185–1195.
- [14] P. Cohen, *New. Sci.* **1998**, *160*(2155), 11. Siehe auch: <http://www.nexiabiotech.com>.
- [15] Die in Lit. [2] verwendete Einheit gpd (grams per denier) für Elastizitätsmodul und Reißfestigkeit wurde gemäß  $(\text{gpd} \cdot \delta)/11.33$  in GPa umgerechnet, wobei für die Dichte  $\delta$  ein Wert von  $1.3 \text{ g cm}^{-3}$  angenommen wurde (H.-G. Elias, *Makromoleküle*, Bd. 2, 5. Aufl., Hüthig&Wepf, Basel, **1992**, S. 522).

## Das Decaphosphatitanocen-Dianion – ein neues Kapitel in der Chemie nackter Polyphosphorliganden

Helmut Sitzmann\*

Bevor selbst Forscher mit besonderem Weitblick an Sandwichkomplexe dachten, hatte sich aus Eisen und Cyclopentadien bereits Ferrocen gebildet, war abgefüllt worden<sup>[1]</sup> und harrte seiner Entdeckung. Als  $[(\text{C}_5\text{Me}_5)_2\text{TiCl}_3]$  vor vierzig Jahren aus den Produkten einer  $\text{TiCl}_4$ -katalysierten Olefinisomerisierung destilliert wurde,<sup>[2]</sup> zeigte sich die Affinität von Übergangsmetallen zu diesem Prototyp unter den Pentaalkylcyclopentadienylliganden und schürte den Boom der Cyclopentadienyl-Komplexchemie.

Das Interesse an der übergangsmetallvermittelten Bildung von Komplexen mit fünfgliedrigen Ringliganden erfasste die

Metalle der 15. Gruppe des Periodensystems Ende der achtziger Jahre, als Scherer et al. den zweikernigen Eisenkomplex  $[(\text{C}_5\text{Me}_5)_2\text{Fe}(\text{CO})_2]_2$  mit weißem Phosphor umsetzen.<sup>[3]</sup> Die Synthese des Pentamethylpentaphosphaferroccens **1** stimulierte das neu entstandene Gebiet der  $\text{P}_n$ -Komplexe und erweckte die Idee, ein Decaphosphatitanocen herzustellen.<sup>[4]</sup>

Es gibt keine Möglichkeit, die Aggregation von Decaphosphatitanocenen durch sterische Abschirmung zu verhindern, dafür gelingt die Stabilisierung durch Ausnutzung der elektrostatischen Abstoßung. Nach einem kürzlich von Ellis und Urněžius et al.<sup>[5]</sup> beschriebenen Verfahren ergibt die Reaktion von Bis(naphthalin)titan-Dianion mit 2.5 Äquivalenten weißem Phosphor bei tiefen Temperaturen das Decaphosphatitanocen-Dianion  $[(\eta^5\text{-P}_5)_2\text{Ti}]^{2-}$  **2** als  $2[\text{Na}([\text{18}]\text{Krone-6})]^+$ -Salz in hoher Ausbeute.<sup>[5]</sup>

[\*] Prof. Dr. H. Sitzmann  
Fachbereich Chemie, Universität Kaiserslautern  
Erwin-Schrödinger-Straße, 67663 Kaiserslautern (Deutschland)  
Fax: (+49) 631-205-4676  
E-mail: sitzmann@chemie.uni-kl.de