

Das eisenverstärkte Haftsystem von Meeresmuscheln**

Jonathan J. Wilker*

Materialwissenschaften · Mechanische Eigenschaften ·

Oberflächenchemie · Proteine · Übergangsmetalle

Ein Blick ins Meer offenbart eine Mannigfaltigkeit faszinierender Materialien, von Muschelschalen über Riffe bis hin zu Klebstoffen. Rankenfußkrebse, Riesenmuscheln, Napfschnecken, Röhrenwürmer, Seesterne, Seegurken und Kelp sind Beispiele für die zahlreichen Organismen, die Klebefmittel und Zemente produzieren, um zu überleben. Diese Spezies können sich an Steinen befestigen und dabei Gemeinschaften bilden, die Räuber abschrecken, die Fortpflanzung fördern und die turbulenten Bewegungen der Gezeitenzonen abschwächen. Das Haftsystem der Miesmuschel ist ein Kernpunkt der fortlaufenden Charakterisierung von Biomaterialien (Abbildung 1). Dieses Befestigungssystem wird als „Muschelseide“ oder „Bart“ bezeichnet, in Anlehnung an die Fäden, die sich fächerförmig ausgehend vom Bereich zwischen den Schalen ausbreiten (Abbildung 1). Jeder Haftfaden wird durch eine Haftplaque abgeschlossen, die den Kontakt mit der Oberfläche herstellt. Sowohl bei den Fäden als auch bei den Plaques handelt es sich in erster Linie um Proteine, die einen hohen Gehalt des unüblichen 3,4-Dihydroxyphenylalanin(DOPA)-Restes aufweisen (Abbildung 1). Nun wurde eine überraschende Entdeckung gemacht, nämlich dass Eisen zu zwei verschiedenen, wenngleich ähnlichen Zwecken an diese DOPA-Proteine bindet: zur Verbesserung der mechanischen Leistung der Haftfäden und zur Auslösung der Haftplaquebildung.

Bei den Haftfäden von Muscheln handelt es sich um ein zugleich dehnbares und hartes Material, das aus zwei verschiedenen Bereichen besteht: einem Kern und einer dünnen Hüllschicht. Sowohl visuell als auch biochemisch gibt es Ähnlichkeiten zu menschlichem Haar. Der Kern der Haftfäden besteht aus kristallinen Proteinbereichen aus Collagen, außerdem gibt es Bereiche aus Elastin und Fibroin. Die äußere, dünne Kutikula (2–5 µm) ist aus DOPA-Proteinen aufgebaut, die diese Beschichtung ungefähr 5–10-mal härter und unbeweglicher machen als den Kern. Den ersten Hinweis darauf, dass Metalle die Materialeigenschaften der Haftfäden beeinflussen können, lieferte die Beobachtung, dass eine Behandlung mit Chelatoren (z.B. Ethyldiamintetraessig-

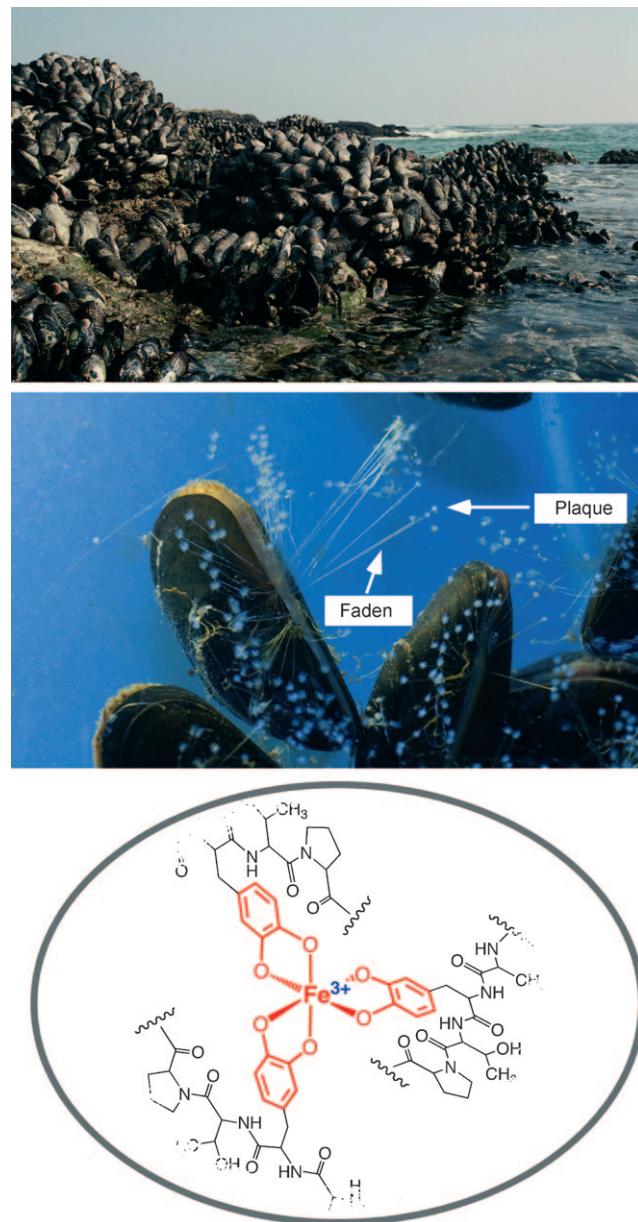


Abbildung 1. Oben: eine auf Felsen verankerte Muschelkolonie. Mitte: auf Glas haftende Muscheln. Das Bild zeigt ihr aus Haftfäden und -plaques bestehendes Muschelseiden-Verankerungssystem. Unten: ein [Fe(dopa)₃]-Komplex.

[*] Prof. J. J. Wilker

Department of Chemistry, Purdue University
West Lafayette, IN 47907 (USA)
Fax: (+1) 765-494-0239
E-Mail: wilker@purdue.edu
Homepage: <http://www.chem.purdue.edu/wilker/>

[**] Wir danken dem Office of Naval Research und der National Science Foundation für die Unterstützung.

säure) eine Erweichung sowie eine Änderung des Spannungs-Dehnungs-Verhaltens zur Folge hat.^[1] Natürliche Haftfäden sind dazu imstande, sich von Stress zu erholen.^[1] Bei der Chelatisierung geht diese Fähigkeit zur „Selbstheilung“ verloren, wird aber wiedererlangt, sobald Metallionen zugeführt werden, was auf eine Reversibilität der relevanten Metall-Protein-Wechselwirkungen schließen lässt.^[1] Die Untersuchung der Mikrostruktur der Kutikula offenbarte das Vorhandensein von Granula, gebunden in einer größeren Matrix.^[2] Diese heterogene Struktur dient wahrscheinlich dazu, die Ausbreitung von Rissen zu vermeiden.^[2]

Als nächstes wurde herausgefunden, dass Eisen und DOPA in der Kutikula kolokalisieren, nicht aber im Kern der Haftfäden.^[3] Trotz dieser hohen Eisenkonzentration war keine Mineralisierung zu beobachten.^[3] In jüngster Zeit wurden die konfokale Raman-Spektroskopie und -kartierung dazu verwendet, eine höhere Konzentration an Fe-DOPA-Wechselwirkungen in den Granula als in der Matrix der dünnen Kutikula nachzuweisen.^[4] Mithilfe all dieser Untersuchungen lässt sich eine Erklärung ableiten, wie es möglich ist, dass die Haftfäden von Muscheln sich durch die anscheinend gegensätzlichen Eigenschaften auszeichnen, gleichzeitig hart und dehnbar zu sein.^[1-4] Eisen-DOPA-Wechselwirkungen härten das Material und ermöglichen zugleich dank ihrer Reversibilität eine Streckung sowie eine Erholung nach Stress.^[4]

Diese neuen, interessanten Befunde vertiefen unser Wissen, wie Metall-Biomolekül-Bindungen Materialeigenschaften beeinflussen können. In einem größeren Rahmen fügen sich diese Erkenntnisse in die große Menge von Untersuchungen ein, die demonstrieren, dass Metalle dazu verwendet werden können, die mechanischen Eigenschaften biologischer Materialien zu verbessern. Seit den 1970er Jahren wissen wir, dass in den Reißzähnen von Spinnen, den Mandibeln von Insekten, den Zähnen von Käferschnecken und den Kiefern von Meeresschnecken zum Zwecke der Härtung des organischen Materials Mangan, Eisen, Kupfer oder Zink lokalisiert ist.^[5] Eine weitere neue Entdeckung, die große Beachtung findet, wurde bei einem Tiefsee-Gastropoden gemacht. Diese Schnecke schützt sich vor Räubern, indem sie aus einer organischen Matrix, die mit Granula aus Eisensulfid gehärtet wurde, eine harte Hülle aufbaut.^[6]

Eisen kann den Härtegrad und die Dehnbarkeit von Muschelfäden verbessern, wobei deren Mikrostruktur wahrscheinlich aber auch noch ohne die Metallionen existieren würde. Ein anderes Bild kristallisiert sich hingegen für die Haftplaques heraus: Dort ist Eisen für die Bildung des Materials entscheidend. Bei den Plaques handelt es sich um eine vernetzte Matrix aus DOPA-Proteinen mit Metallen wie Eisen, Zink, Kupfer und Mangan in wesentlich höheren Konzentrationen als jenen, die im Wasser gefunden werden, das die Tiere umgibt. Metallionen binden fest an die catecholähnliche Seitenkette des DOPA, weswegen man sich leicht die Bildung einer Metall-DOPA-Bindung vorstellen kann.

Mittlerweile erfahren wir viel über die Bindungsmotive und den Einfluss von Metallen auf die Haftung. Bei einer Extraktion haftender DOPA-Proteine aus Muscheln und ihrer Behandlung mit einer Bibliothek potenzieller Vernetzungsmittel, z.B. Metallionen und Oxidationsmittel, erwies

sich Eisen(III) als die am besten geeignete bioverfügbare Spezies für die Vernetzung und die Bildung eines gehärteten Materials.^[7] Die Untersuchung von Haftplaques, von extrahierten und Fe^{III}-behandelten Proteinen sowie von Fe^{III}-Peptid-Komplexen mit einer Reihe von spektroskopischen Methoden gab drei wesentliche Einblicke: das Auftreten von [Fe(dopa)₃]-Komplexen, Reaktionen von [Fe(dopa)₃] mit O₂ und die Bildung organischer Radikale.^[8] Die Erzeugung der Haftmittel von Muscheln folgt somit offenbar einem mehrstufigen Mechanismus, beginnend mit der Bildung von [Fe(dopa)₃]-Komplexen aus drei DOPA-haltigen Proteinketten mit Fe^{III}-Templaten (Abbildung 1).^[8] Die Reduktion des Eisens (Fe^{III}→Fe^{II}) und die Oxidation von DOPA zu einem Semichinon laufen simultan ab. Die Reaktion dieses Semichinons mit O₂ erzeugt dann die proteinbasierten Radikale.^[8] Eine nachfolgende Radikal-Radikal-Kupplung ergibt umfassende kohäsive Protein-Protein-Vernetzungen.^[8] Durch Radikal-Oberflächen-Kupplungen können sich an der Oberfläche adhäsive Bindungen bilden.^[8] Einer rasterkraftmikroskopischen Untersuchung zufolge werden adhäsive Wechselwirkungen aufgebaut, wenn die „reduzierte“ (z.B. nicht-oxidierte) Form von DOPA direkt an Metalloberflächen bindet.^[9]

Das Auslösen einer Oxidation zur Bildung proteinbasierter Radikale ist ein Reaktionsweg, der üblicherweise Enzymen vorbehalten ist. In Muscheln scheint diese Enzymchemie jedoch ohne Enzym abzulaufen. Die Materialbildung wie auch der Beitrag zur Haftfunktion könnten also erzielt werden, indem die vielseitige Reaktivität von Eisen, DOPA und Sauerstoff genutzt wird. Eine einigermaßen ähnliche Chemie kleiner Moleküle ist verantwortlich für die dunkle Farbe der von Oktopoden zur Verteidigung verspritzten Tinte, von Melaninpigmenten und der seit Jahrhunderten verwendeten Eisengallustinte.

Kombinationen aus Metallionen und Oxidationsmitteln tragen synergistisch zur Vernetzung von DOPA-Proteinen bei, denn einfache Oxidationsmittel wie H₂O₂ können die Vernetzung von Metallionen wie Fe^{II} mehr steigern, als der Summe der Wirkungen der einzelnen Reagentien entspricht.^[10] Dieser Befund spricht für die Möglichkeit der Koadministration eines Oxidationsmittels zusammen mit Eisen, wenn sich eine Muschel festsaugen will.^[10]

Mittlerweile stehen Daten zur Haftung von DOPA-Proteinen zur Verfügung.^[11] Die Zugabe von Fe^{III} erhöhte die Bindungsstärke extrahierter DOPA-Proteine, wenn diese verwendet wurden, um Streifen von Schweinhäuten anzuhften. Hierbei war allerdings das Fe/DOPA-Verhältnis wichtig: Mit zu wenig Eisen erwies sich die Haftung als nicht optimal, mit zu viel Eisen fand hingegen eine umfassende Vernetzung auf Kosten der Adhäsionsleistung statt.^[11] Die Frage, wie Eisen die Kohäsion und Adhäsion gegeneinander ausbalancieren kann, ist einer der vielen Aspekte des Muschelklebstoffs, die noch zu klären bleiben.

Die Charakterisierung des Haftsystems von Muscheln hat zwei einzigartige Funktionen von Eisen aufgedeckt: In den Haftfäden verbessern Fe-DOPA-Bindungen die mechanischen Eigenschaften, und im Falle der Haftplaques sind [Fe(dopa)₃]-Komplexe für die Bildung des Materials verantwortlich und tragen zur adhäsiven Bindung bei. Man kommt

nicht umhin, sich zu fragen, ob diese Grundsätze auch in anderen biologischen Materialien eine Rolle spielen könnten. Noch interessanter ist die Aussicht, neue Zusammenhänge zwischen Chemie und Materialeigenschaften in der Natur entdecken zu können. Haben wir die Baupläne biologischer Systeme einmal besser verstanden, können wir dieses Wissen zum Design von leistungsstarken synthetischen Materialen anwenden, z. B. von selbstheilenden Polymeren, von adhäsionsbekämpfenden fäulnisverhügenden Beschichtungen und von biomedizinischen Klebstoffen, die unter feuchten Bedingungen härten.

Eingegangen am 26. Mai 2010
Online veröffentlicht am 13. September 2010

- [3] N. Holten-Andersen, T. E. Mates, M. S. Toprak, G. D. Stucky, F. W. Zok, J. H. Waite, *Langmuir* **2009**, *25*, 3323.
- [4] M. J. Harrington, A. Masic, N. Holten-Andersen, J. H. Waite, P. Fratzl, *Science* **2010**, *328*, 216.
- [5] J. E. Hillerton, J. F. V. Vincent, *J. Exp. Biol.* **1982**, *101*, 333; R. Schofield, H. Lefevre, *J. Exp. Biol.* **1989**, *144*, 577; G. W. Bryan, P. E. Gibbs, *J. Marine Biol. Assoc. UK* **1980**, *60*, 641.
- [6] H. Yao, M. Dao, T. Imholt, J. Huang, K. Wheeler, A. Bonilla, S. Suresh, C. Ortiz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 987.
- [7] J. Monahan, J. J. Wilker, *Langmuir* **2004**, *20*, 3724.
- [8] M. J. Sever, J. T. Weisser, J. Monahan, S. Srinivasan, J. J. Wilker, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 454; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 448.
- [9] H. Lee, N. F. Scherer, P. B. Messersmith, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 12999.
- [10] L. M. Hight, J. J. Wilker, *J. Mater. Sci.* **2007**, *42*, 8934.
- [11] A. Doraiswamy, T. M. Dunaway, J. J. Wilker, R. J. Narayan, *J. Biomed. Mater. Res. B* **2009**, *89*, 28.

- [1] E. Vaccaro, J. H. Waite, *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 906.
[2] N. Holten-Andersen, G. E. Fantner, S. Hohlsbach, J. H. Waite, F. W. Zok, *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 669.

No small Matter

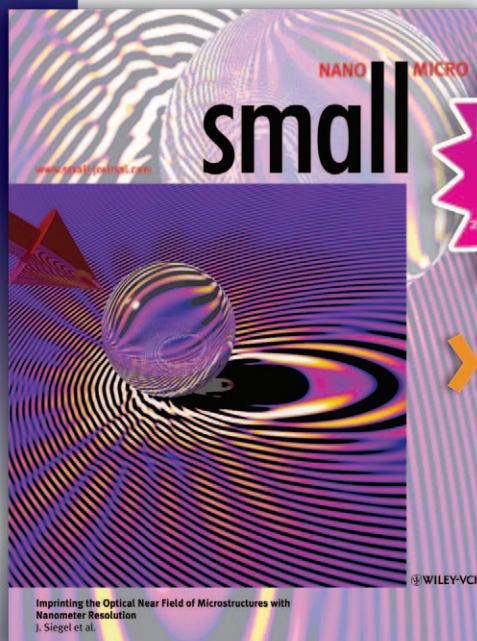
Micro and Nano:

For subscription details please contact Wiley Customer Service:

» cs-journals@wiley.com
(Americas, Europe, Middle East and Africa, Asia Pacific)

» service@wiley-vch.de
(Germany/Austria/Switzerland)

» cs-japan@wiley.com
(Japan)



» provides the very best forum for experimental and theoretical studies of fundamental and applied interdisciplinary research at the micro- and nanoscales

2010. Volume 6, 24 issues.
Print ISSN 1613-6810 / Online ISSN 1613-6829

For more information please visit
www.small-journal.com
or contact us at small@wiley-vch.de