

Modulares Design in natürlichen und biomimetischen elastischen Materialien

Aaron M. Kushner und Zhibin Guan*

Stichwörter:

Biomimetische Materialien ·
Dynamische Materialien ·
Hierarchische Anordnung ·
Peptidmaterialien ·
Selbstorganisation



Unter Verwendung der zwanzig natürlichen Aminosäuren als Grundbausteine haben biologische Systeme während der Jahrmillionen unter evolutionärem und umweltbedingtem Druck stabile und leichte Peptid-basierte Materialien entwickelt. Diese Materialien übertreffen ihre synthetischen Gegenstücke in mehrfacher Hinsicht: 1) Multifunktionalität/Abstimmbarkeit, 2) Anpassungsfähigkeit/Reizempfindlichkeit, 3) Synthese und Weiterverarbeitung bei Umgebungsbedingungen in wässrigem Medium und 4) Wiederverwertung und biologische Abbaubarkeit. Diese besonderen Eigenschaften können durch eine „Bottom-up“-Synthese und die hierarchische Organisation auf verschiedenen Längenskalen erreicht werden. Das Arbeitsgebiet der „Biomimikry“ beschäftigt sich damit, die Gestaltungsprinzipien natürlicher Materialien und deren molekulare Bausteine aufzuklären und zu kopieren. Hier beschreiben wir, was bereits über Struktur und molekulare Mechanismen natürlicher polymerer Materialien erforscht wurde, sowie den Fortschritt in Richtung synthetischer „Nachbildungen“ dieser bemerkenswerten Systeme.

1. Einführung in die Biomimikry

Biomimikry oder Biomimetik bezeichnet „das Studium der Bildung, Struktur oder Funktion biologisch synthetisierter Substanzen und Materialien (wie Enzyme oder Seide) sowie biologischer Mechanismen und Prozesse (wie Proteinsynthese oder Photosynthese), um durch künstliche Mechanismen, die natürliche nachahmen, ähnliche Produkte herzustellen.“^[1] Angefangen mit frühen Beispielen wie den durch Vögel inspirierten Entwürfen von Fluggeräten bei Da Vinci, hat sich biomimetisches Design zu einem grundlegenden Konzept für die wissenschaftliche Forschung und viele technische Anwendungen entwickelt.^[2–7]

Biomimikry auf molekularer Ebene ermöglicht Wissenschaftlern, biologische Systeme mit einem Satz leistungsfähiger und präziser Synthesemethoden zu erforschen, zu manipulieren, zu vermehren und zu imitieren. Einige aktuelle molekulare biomimetische Forschungsziele umfassen synthetische Enzyme,^[8,9] Membranen^[10] und Ionenkanäle,^[11] künstliche Photosynthese^[12] und seit kurzem künstliche lebende zelluläre Systeme.^[13] Teilgebiete der Materialwissenschaft, die in den Bereich des molekularen Biomimikry passen, sind in den letzten Jahrzehnten drastisch expandiert; dazu gehören biotechnologische^[14] und Hybrid-Polymer-Materialien,^[15–17] Biomineralisation,^[18–24] Klebstoffe^[25,26] sowie morphologische,^[27] Oberflächen-^[28] und funktionale Nachbildungen der extrazellulären Matrix.^[29,30]

Eine frühe Anwendung des biomimetischen Konzepts in der organischen Materialwissenschaft waren die von Ringsdorf in den 80er Jahren entworfenen künstlichen Liposomen.^[31,32] Wenngleich schon mehrere Bücher die Fortschritte auf diesem Gebiet behandelt haben, verfügt die biomimetische Materialwissenschaft auch weiterhin über enorme Entwicklungsmöglichkeiten. Zurzeit besteht enormes Interesse an diesem Forschungsgebiet, bedingt durch das Zusammenreffen dreier Triebkräfte der physikalisch-biologischen For-

Aus dem Inhalt

1. Einführung in die Biomimikry	9191
2. β -Schleife/Spirale	9192
3. β -Faltblatt-Fibrillen	9198
4. β -Faltblatt-Nanoverbundstoffe	9203
5. α -Helix-basierte Fasern	9206
6. PPII-Helix-basierte Fasern	9209
7. Domänen mit Tertiärstruktur	9212
8. Zusammenfassung und Ausblick	9215

schung: 1) die verbreitete Erkenntnis, dass ein fachübergreifender Forschungsansatz rasche Fortschritte liefern kann, 2) das exponentielle Wachstum bei der Leistungsfähigkeit analytischer Methoden und der Rechenleistung von Computern, welche die Aufklärung der strukturellen und molekularen Organisation natürlicher Materialien bis in die kleinste Dimension gestatten, und 3) die Verbesserung chemischer und biologischer Synthesemethoden, die einen mühelosen Aufbau naturnaher Modellsysteme sowie hochleistungsfähiger biologisch inspirierter Polymere ermöglichen. Die zunehmende Verbreitung dieser fachübergreifenden Denkweise sowie die jüngsten Entwicklungen der Analyse- und Synthesemethoden bieten den Materialwissenschaftlern die beispiellose Möglichkeit, die molekularen und strukturellen Mechanismen, auf denen Multifunktionalität,^[33] Anpassungsfähigkeit, Stabilität, Stärke, Belastbarkeit^[34] und Elastizität^[35] biologischer Materialien beruhen, zu verstehen und diese Konzepte zur Verbesserung synthetischer Materialien zu nutzen.

Die biomimetische Materialwissenschaft umfasst drei Hauptkomponenten: 1) Die Aufklärung von Struktur-Funktions-Beziehungen durch das Studium biomimetischer Modellsysteme, 2) Extraktion, Anwendung und Anpassung der zugrundeliegenden physikalisch-chemischen Gestaltungsprinzipien und 3) die Erweiterung des Anwendungsbereichs des natürlichen Systems, um neue Materialien zu finden und in einem Maßstab zu produzieren, der den Bedürfnissen der Gesellschaft genügt.^[36,37] Dieser Aufsatz konzentriert sich hauptsächlich auf Biomaterialien mit Peptid/Protein-Struktur, das Verständnis der molekularen Mechanismen, die zu deren außerordentlichen mechanischen Eigenschaften bei-

[*] Dr. A. M. Kushner, Prof. Dr. Z. Guan
Department of Chemistry, University of California
Irvine, CA 92697-2025 (USA)
Fax: (+1) 949-824-2210
E-Mail: zguan@uci.edu
Homepage: <http://chem.ps.uci.edu/~zguan>

Tabelle 1: Beispiele für fortgeschrittene biologischer Polypeptid-Materialien.

Sekundär- und Tertiärstruktur	Natürliches System	Natürliche Funktion	Mechanische Charakteristika
β -Schleife/Spirale	Elastin	Ideales Elastomer für Verbindungsstellen, mechanischer Energiespeicher	Rückstellelastizität, Deformationstoleranz, Dauerhaftigkeit
β -Faltblatt	Amyloid-ähnliche Fibrillen	Adhäsion, Verkapselung	Steifheit, Stabilität gegenüber Umwelteinflüssen
β -Faltblatt-Nanoverbunde	Spinnen-Abseilfadenseide	Makroskopischer Strukturaufbau	Steifheit, Dehnbarkeit, Zähigkeit
α -helikale Doppelwendel	Vimentin	Strukturelle Integrität von Zellen	Zähigkeit, enthalpische Elastizität
Polyprolin-Typ-II-Dreifachhelix	Kollagen	Mikroskopische Gerüste, Extrazellulärmatrix	Elastizität, Zähigkeit, Festigkeit
tertiär gefaltete Tandemdomänen	Titin	Dissipative konnektive Schnittstelle, Schadensabwehr, Federung in Skelettmuskeln	Wiederherstellbare Festigkeit, passive Elastizität

tragen, und auf die Anwendung dieser Einsichten zur Entwicklung biomimetischer synthetischer Materialien. Wir werden für jede Unterklasse proteinbasierter Materialien zuerst zusammenfassen, was über den natürlichen molekularen Aufbau bekannt ist, und dann die Planung und Synthese moderner Materialien beschreiben, die von den natürlichen Modellsystemen abgeleitet sind.

Der Umfang dieses Aufsatzes wird in Tabelle 1 zusammengefasst. Die Natur verwendet die 20 natürlichen Aminosäuren, um hochleistungsfähige Polypeptide mit einem breiten Spektrum an mechanischen Eigenschaften aufzubauen. Ein weit verbreitetes Strukturmerkmal bei natürlichen strukturbildenden Biomaterialien ist der repetitive, modulare Aufbau. Solche Motive findet man in vielen Strukturproteinen,^[38] unter anderem in Elastinen, Kollagenen, Fibronectinen, Cadherinen und dem Skelettmuskelprotein Titin.

Modularität ist – beginnend bei den Aminosäure-Monomeren – ubiquitär in natürlichen proteinbasierten Strukturmaterialien;^[39] sie fördert die „kontrollierte Komplexität“^[40] der „Bottom-up“-Synthese^[41] und der hierarchischen Selbstorganisation^[42] über viele Längenskalen hinweg, die letztlich die hoch entwickelten mechanischen Eigenschaften liefern. Diese kollektiven Eigenschaften („collective emergent properties“)^[43] übersteigen die summierten mechanischen Eigenschaften der einzelnen Bestandteile bei weitem. Strukturproteine bilden wichtige Komponenten in vielen weichen Gewebearten, und sie erfüllen essenzielle Funktionen. Sie

sind hoch elastisch, sodass sie kräftige Deformationen ohne Bruch überstehen können, indem sie die Deformationsenergie speichern oder umwandeln, um nach Rückgang der Belastung in den Ursprungszustand zurückzukehren. Fortwährend starker Belastung ausgesetzt, zeigen viele Strukturproteine ein bemerkenswertes Anpassungs- und dynamisches mechanisches Verhalten.

Hier klassifizieren wir die natürlichen Proteinmaterialien nach Art ihrer modularen Wiederholungseinheiten, sekundären Faltstrukturen wie β -Schleife/Spirale, β -Faltblatt, α -Helix, Polyprolin-II(PP-II)-Helix sowie tertiär gefalteten Domänen (Tabelle 1). Durch Nachahmung dieser Gestaltungsprinzipien hat man enorme Möglichkeiten, einigen großen Herausforderungen der Materialwissenschaft – beispielsweise Materialversagen, umweltverträgliche Synthese und Wiederverwertbarkeit, Sperrereffekte sowie mehrskalige Synthese und Fabrikation – zu begegnen.^[44]

2. β -Schleife/Spirale

2.1. Elastin

Das Elastin der Säugetiere ist ein vernetzter Gummi, der in der Natur eine „verlustfreie“ Verbindung zwischen den weicheren, viskosereren und den härteren, höher modularen anatomischen Elementen bildet. Elastin ist ein ideales, lang-



Aaron M. Kushner erhielt seinen BS 1999 an der University of California at Berkeley. Dort forschte er bei Professor Carolyn Bertozzi am Lawrence Berkeley National Laboratory. Nach seinem MS-Abschluss wechselte er in die Abteilung für medizinische Chemie von Theravance, Inc., wo er unter der Leitung von Dr. John Griffin und Dr. Mathai Mammen arbeitete. 2004 trat er in die Arbeitsgruppe von Zhibin Guan an der University of California, Irvine, ein und erhielt ein Eli-Lilly-Stipendium. Er bekam auch die Mike-Zack- und Hal-Moore-Preise für Doktoranden und promovierte 2010.



Zhibin Guan ist Professor für Chemie an der University of California, Irvine. Er erlangte seine BS- und MS-Abschlüsse an der Universität Peking (China) und promovierte an der University of North Carolina, Chapel Hill. Nach einem Postdoktoranden-Aufenthalt am Caltech verbrachte er fünf Jahre bei DuPont CR&D bevor er 2000 an die Hochschule zurückkehrte. Er erhielt unter anderem den Beckman Young Investigator Award, den Camille Dreyfus Teacher-Scholar Award und den Humboldt Bessel Award. 2008 wurde er zum Fellow of the American Association for Advancement of Science gewählt. Seine Forschungsinteressen erstrecken sich über die weitgefassten Bereiche der organischen, biologischen und makromolekularen Materialchemie.

lebigen mechanisches Energiespeichermaterial, das beispielsweise in oszillierenden Motorsystemen wie Herz, Arterien und Lunge eingesetzt wird. Die stark rückfedernde Elastizität des Elastins, in zyklischen Spannungs-Dehnungsmessungen beinahe hysteresefrei, bedeutet, dass nur sehr wenig Energie thermisch abgeführt wird und der Großteil der mechanischen Energie während der Deformation gespeichert wird. Daher zeichnen sich Elastin-basierte biologische Elastomer-Komponenten durch extreme Haltbarkeit aus.^[45] Zusätzlich weist das Säugetier-Elastin – genau wie künstliche Gummisysteme – eine hohe Bruchdehnung auf.

Die Vorstufe des Elastins ist das lösliche Protein Tropoelastin, das aus langen (ca. 72 kDa), hoch konservierten, modularen Wiederholungsdomänen der Formel (VPGXG)_n besteht, wobei X eine variable Position ausdrückt, die im Elastin von einer beliebigen Aminosäure außer Prolin besetzt werden kann. (Wir werden in diesem Manuskript den Einbuchstaben-Code für Aminosäuren verwenden.) Diese ausgedehnten Wiederholungsdomänen sind durch kurze, weniger repetitive Alanin- und Lysin-reiche Regionen verbunden, in denen die Lysine räumlich in Tetraden gruppiert sind.^[46] Diese Abschnitte aus Lysin und Alanin stellen Aminfunktionalitäten bereit für die oxidative Vernetzung, die zu einer permanenten Fixierung führt. Die wiederholten Lysin-Alanin-Einheiten dienen vermutlich dazu, eine α -helikale Konformation einzuführen, um die für die kovalente Vernetzung benötigte cofaciale Stellung der Amine zu erreichen.^[47–49] Neben der geordneten Selbstorganisation der vernetzenden Domänen ist die Gleichgewichtsquellung des Proteinpolymer-Gummis nach vollständigem Eintauchen in Wasser essenziell für seine Wirkung als hochleistungsfähiger mechanischer Energiespeicher.

Als dauerhaft fixiertes Elastomer ist natürliches Elastin unlöslich und daher schwer zu charakterisieren. Zusätzlich deuten neuere Experimente auf eine sehr dynamische Sekundärstruktur der einzelnen Polypeptidketten hin. Eine damit im Einklang stehende Struktur-Eigenschafts-Beziehung ist schwer feststellbar. Im folgenden Abschnitt werden für das Elastin entwickelte Strukturmodelle zusammengefasst.

Basierend auf kalorimetrischen und thermodynamischen Argumenten schlugen Hoeve et al.^[50] ein Modell für die Elastizität des Elastins vor, das klassischen Gummnetzwerken sehr ähnelt: lange, zufällig zu einem Netzwerk verknüpfte Polymerketten, die entweder intrinsisch oder, wie im Fall von Elastin, nach Gleichgewichtsquellung und Plastifizierung durch Wasser mobil und amorph (d.h. nicht glasartig) bleiben. Dieses Elastizitätsmodell des Gummis, das die Rückstellkraft der Verringerung der konformativen Entropie unter Kettenverlängerung zuschreibt, ist in Einklang mit der im natürlichen System beobachteten, nahezu idealen Speicherung mechanischer Energie. Das Modell stimmt ebenso überein mit NMR-Experimenten, die das hochdynamische und im Rückschluss ungeordnete und zufällige Polymer-Rückgrat zeigen.^[51]

Während das Zufallsnetzwerk-Modell („Random-Network“-Modell) den durchschnittlichen mechanischen und thermodynamischen Eigenschaften von Elastin gut entspricht, lassen mikrokalerimetrische Studien vermuten, dass

die konformative Unordnung des Elastins bis zu einer Streckung um 70 % ansteigt. Dies zeigt deutlich, dass dieses Modell auf mikroskopischer Ebene kein präzises Abbild der angenommenen Molekülkonformationen des leistungsstarken funktionalen Bioelastomers liefert.^[52,53]

Das klassische Modell berücksichtigt auch nicht die streng geordnete, modulare, amphiphile Beschaffenheit der Sequenz des Proteinerückgrats zwischen kovalenten Vernetzungen. Es ist unwahrscheinlich, dass die Natur den Energieaufwand für diese Ordnung aufbringt ohne einen durch die Faltung bedingten Effekt auf die Leistung. Das „Flüssigkeitstropfen“-Modell („Liquid-Drop“-Modell) postuliert einen durch diese Sequenz programmierten hydrophoben Kollaps der polymeren Seitenketten, der zu einem „zweiphasigen“ Netzwerk sphärischer Globuli führt, die über kovalente Bindungen zwischen den hydrophilen Resten auf der Außenseite der kugelförmigen Partikel miteinander verbunden sind.^[54] Diese Globuli würden sich dann unter Belastung zu abgeplatteten Sphäroiden verformen. Dieses Modell der miteinander verbundenen, komprimierten Proteinpartikel widerspricht jedoch der oben erwähnten hochdynamischen Beschaffenheit des Polypeptid-Rückgrats.

Um ohne Widerspruch zu den gemessenen spektroskopischen Daten die inhärente Komplexität besser zu berücksichtigen, haben Gray et al. ein zweiphasiges „Oiled-coil“-Modell vorgeschlagen. Bei dessen Erforschung griffen sie auf transgene Kupfer-defiziente Schweine zurück, um nichtvernetztes Elastin für eine hochaufgelöste Sequenzierung des Rückgrats zu erhalten.^[46] Durch eine erzwungene Ausrichtung der stärker hydrophoben V- und P-Reste nach innen entstehen diesem Modell zufolge β -Schleifen, die das hydrophile Polyamid-Rückgrat darstellen, als sei es durch umgebende Wassermoleküle „geölt“. Eine Reihe dieser Schleifen bildet ein „Knäuel“, das keine außenliegenden inter- oder intramolekularen Wasserstoffbrücken aufweist, lediglich welche innerhalb des Schleifensystems. Diese Struktur ist mit dem beobachteten Fehlen einer viskosen, enthalpischen Komponente beim Dehnungsverhalten vereinbar, da die inneren Wasserstoffbrücken vorrausichtlich erst bei hohen Belastungen gespalten werden. Der primäre Mechanismus der Elastizität im „Oiled-coil“-Modell ist demzufolge entropisch, da beim Aufrollen des β -Schleifen-reichen Zustands unter Dehnung versteckte hydrophobe Seitenketten zum Vorschein kommen, was ein Ordnen vorher freier Wassermoleküle erfordert. Diese sequenzielle Schleifenstruktur führt im Einklang mit elektronenmikroskopischen Studien an natürlichem Elastin zu einer hydratisierten stabähnlichen Fibrillenstruktur, die durch Einbau und permanente kovalente Fixierung der α -helikalen Lysin-Tetraden zusammengehalten wird.^[55]

Obwohl eine in diesem Ausmaß stabile Sekundärstruktur einer schnellen Bewegung der Kette zu widersprechen scheint, ist es möglich, dass hochfrequente thermische Oszillation und Flexion der Sprungfeder-ähnlichen „geölte Spiralen“ auch die beobachtete Rückgratdynamik erklären können. Die neuere „libratorische“ Entropie-Theorie zur Elastizität des Elastins von Urry et al.^[56–58] folgt einer ähnlichen Logik. In diesem Modell nehmen die aneinandergereihten Typ-II- β -Schleifen des Pentapeptids eine langge-

streckte „ β -Spiral“-Konformation ein. (Abbildung 1). Weiter reichende „schwingende“ oder „schaukelnde“ Oszillationen dieser Sprungfeder-artigen Strukturen würden theoretisch bei

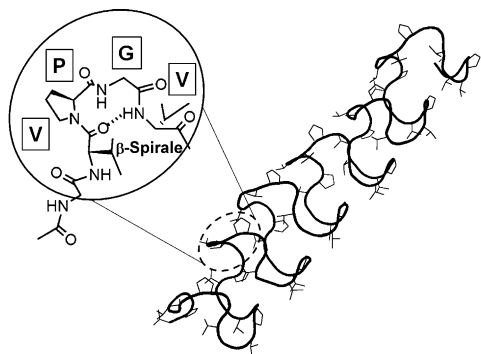


Abbildung 1. Die vorgeschlagene „ β -Spiralen“-Konformation der VPGVG-Tandem-Wiederholungseinheiten in Elastin. Pymol-Darstellung unter Verwendung aus einer Proteindatenbank mit freundlicher Genehmigung der Daggett-Forschungsgruppe.

Dehnung des Makromoleküls gedämpft, wodurch sich ihre Frequenz erhöht, was wiederum eine Abnahme der libratorischen Entropie und damit einen Anstieg der Rückstellkraft zur Folge hätte.

Auch wenn der libratorische Mechanismus wahrscheinlich zur lokalen elastischen Reaktion beiträgt, lassen jüngste Simulationen hydratisierter Polypentapeptide vermuten, dass das idealisierte lineare β -Spiralmodell die weitreichende Ordnung des Polymernetzwerkes im Wesentlichen überschätzt. Obwohl wahrscheinlich eine geordnete dynamische Sekundärstruktur entlang des Polypeptid-Rückgrats existiert, wird vorgeschlagen, dass Wasser eine Schlüsselfunktion bei der Elastizität des Elastins zukommt – und zwar über hydrophobe Hydratation, die die entropische Triebkraft für das bei vielen amphipathischen Polymeren beobachtete Verhalten bei der unteren kritischen Lösungstemperatur (lower critical solution temperatur, LCST) erzeugt.^[59] Dieses Phänomen könnte die primäre Triebkraft hinter der entropischen Rückstellkraft des Elastins sein. Das gut charakterisierte LCST-Verhalten Elastin-ähnlicher amphiphiler Polymere^[60] stützt diese Hypothese. Die physiologische Temperatur, bei der Elastin funktioniert, liegt oberhalb des kritischen LCST-Wertes für den hydrophoben Kollaps, es wird jedoch wahrscheinlich durch die Existenz permanenter Vernetzungen in einem frustrierten Zwischenzustand gehalten. Diese molekulare mechanische Frustration, die bekannterweise durch wesentlich weniger Hauptketten-verbundene Wasserstoffbrücken bedingt wird, als in typisch globulären Proteinen vorhanden sind,^[61] liefert einen plausiblen Mechanismus sowohl für die Leichtigkeit der Dehnung als auch für den verlustfreien Widerstand gegenüber weiterer Deformation und daher auch für die dauerhafte makroskopische Elastizität des Elastins.^[40,62,63] Die hochdynamische Beschaffenheit der Elastinketten stützt ebenso ein mechanisches Modell des „frustrierten Kollaps“.

2.2. Elastin-Mimetika

Die besondere Elastizität, Haltbarkeit und die Reaktion auf Stimuli (z.B. LCST-Verhalten) lassen Elastin als ein vielversprechendes Ziel der Biomimetik erscheinen. Zahlreiche Elastin-ähnliche Polypeptide (ELPs) wurden bereits synthetisiert, sowohl durch rekombinante DNA-Expression^[64] als auch durch chemische Synthese,^[65] und als Modellsysteme für mechanistische Studien sowie als Materialien für verschiedene biomedizinische Anwendungen genutzt (z.B. Proteinreinigung, Wirkstofftransport, Gewebeentwicklung).^[66–72] Diese Polymere werden dann in unterschiedlichem Ausmaß aneinandergefügt und/oder vernetzt, um das endgültige biomimetische Material zu erhalten.

2.2.1. Lineare Elastin-imitierende Modellsysteme

Sobald die primäre iterative Aminosäuresequenz von Tropoelastin bekannt war, konnten einfache Polypeptid-Mimetika synthetisiert werden. Urry et al. stellten zuerst kurze Oligomere (VPGVG)_{1–3} her, die ¹H-NMR-spektroskopisch untersucht wurden. Dies erbrachte stichhaltige Beweise für die Existenz einer bevorzugten β -Schleifen-Konformation der VP-GV-Tetrade, sodass die Autoren weiter angenommen haben, dass ein „Aufeinanderschichten“ dieser Schleifen zu einer β -Spiral-Struktur führen würde.^[73] Nachdem eine Kristallstrukturanalyse von *cyclo*-(VPGVG)₃^[74] bestätigte, dass die vorgeschlagene β -Schleife energetisch günstig ist, nutzten Urry et al. erneut NMR-Messungen zur Charakterisierung von *cyclo*-(VPGVG)₆,^[75] woraus Abstand und Helizität der angenommenen erweiterten Spirale abgeleitet werden konnten. Daraufhin wurden mathematische Methoden auf die Torsionen, Diederwinkel und Abstände dieser einfachen Analoga angewendet, um die idealisierte β -Spiral-Struktur zu extrapolieren.^[76] Yao et al. verwendeten isotonenangereichertes (VPGVG)₃, um die Auflösung der Rückgratsignale im Festphasen-NMR-Spektrum zu verbessern, und sie stellten fest, dass innerhalb der Hauptketten Wasserstoffbrücken nur in den β -Schleifen-Einheiten zu finden sind.^[77] Die Autoren weisen in Übereinstimmung mit mikrokalorimetrischen Studien darauf hin, dass bei Streckung eines solchen Polymers die β -Spiral-Strukturen auseinandergezogen würden, wodurch die konformativ eingeschränkten Wasserstoffbrücken innerhalb der Schleife brechen und somit durch Deformation tatsächlich die Konformationsentropie erhöht würde.^[52,53]

Mit der Entwicklung der rekombinanten DNA-Technologie wurden verschiedene Poly(pentapeptid)-Polymere höheren Molekulargewichts verfügbar. Diese wurden von Urry et al. verwendet, um den LCST-Übergang bei CD-, NMR- und dielektrischen Relaxationsmessungen zu verstärken.^[78] Letztere zeigten beim temperaturinduzierten Übergang ein erhöhtes Resonanzverhalten um ein Maximum bei ungefähr 25 MHz, das die Autoren der vorgeschlagenen libratorischen Form der β -Spiral-Sekundärstruktur zuschreiben.^[79] Nach vernetzender Bestrahlung von Zwischenstufen-Koazervaten zeigten thermoelastische Studien einen drastischen Anstieg der elastischen Rückstellkraft, wenn die Temperatur während des LCST-Übergangs erhöht wurde.^[58]

Auf isolierte, chemisch synthetisierte Tropoelastin-Domänen angewendete CD- und $^1\text{H-NMR}$ -, „exon-by-exon“-Studien bestätigen den hochdynamischen, labilen und von der Mikroumgebung abhängigen Konformationszustand jeder einzelnen lokalen Peptidregion, wobei sowohl Polyprolin II (PPII; eine helikale Sekundärstruktur, vorhanden in Proteinen und Protein-Materialien, die keine Stabilisierung durch intrahelikale Wasserstoffbrücken benötigen) als auch β -Schleifen-Strukturen im Konformationsgleichgewicht vorliegen, und veranlassen die Autoren, anstelle einer verlängerten β -Spirale eine „gleitende β -Schleife“ (Abbildung 2) vor-

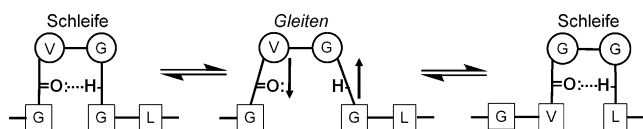


Abbildung 2. Das Modell „gleitender β -Schleifen“ für die konformative Dynamik des Elastin-Rückgrats. Die im Gleichgewicht vorhandene Wasserstoffbrücke innerhalb der Schleife bricht und ermöglicht, dass die VG-Schleife nach rechts „gleiten“ und eine GG-Schleife bilden kann. Auf diese Weise breiten sich metastabile Schleifen in beide Richtungen der Elastinkette aus.

zuschlagen.^[80] Arad und Goodman synthetisierten und studierten Depsipeptid-Analoga, in denen die Wasserstoffbrücke des Amids an der variablen Position in der Schleife der Pentapeptid-Wiederholungseinheit durch eine Esterfunktion ersetzt ist.^[81] NMR- und CD-Studien zeigten, dass viel der mittleren Sekundärstruktur erhalten blieb, weil das hoch flexible Polypeptid in der Lage war, alternative, energiearme γ - und β -Schleifen-Konformationen anzunehmen.^[82] Die Autoren betonen, dass sich die strenge konformative Präferenz und die hohe Flexibilität nicht gegenseitig ausschließen, wenn ein rasches Gleichgewicht mit niedriger Barriere zwischen mehreren Sekundärstrukturen des Rückgrats aufrechterhalten wird. Allerdings zeigten 2D-NMR-Studien zu rekombinanten modularen Wiederholungs-ELPs mit hoher Masse sowie den kürzeren Hexa(pentapeptiden), dass sogar dieses dynamische Gleichgewichtsmodell die weitreichende Ordnung des Systems überschätzt, indem es davon ausgeht, dass die konformative Entropie zur Elastizität beitragen muss.^[83,84] Yamaoka und Mitarbeiter quantifizierten die thermodynamischen Effekte verschiedener externer Bedingungen wie Salzkonzentration und Tensidzugabe bei der LCST und kamen zu der Schlussfolgerung, dass der Konformationsspielraum mit mehrstufigen Wechselbeziehungen zwischen intramolekularen Rückgratkonformationen und intermolekularen Assoziations-/Aggregationszuständen zweifellos komplex ist.^[85]

Nachdem sie weder eine zeitaufgelöste exakte Sekundärstruktur von Elastin noch die relevantesten Strukturparameter erhalten konnten, konzentrierten sich Meyer und Chilkoti stattdessen auf den mittleren Zustand, wie er sich in der sequenz- und umgebungsspezifischen Metrik der LCST, somit auch einstellbar und auf Stimuli reagierend, darstellt. Um die weitere Gestaltung modellartiger und funktionaler ELPs zu fördern, leiteten die Autoren eine empirische Gleichung mit drei Parametern her, die auf Konzentration, Se-

quenz und Kettenlänge beruht und die LCST für ein ELP mit gegebener Länge, Konzentration und Zusammensetzung quantitativ vorhersagt.^[86]

Hochauflösende Einzelmolekülfluoreszenzspektroskopie (Single-Molecule Force Spectroscopy, SMFS) und Rasterkraftmikroskopie (AFM) ermöglichten die weitere mikroskopische Charakterisierung rekombinanter ELPs mit höherem Molekulargewicht. Urry et al. fanden heraus, dass (GPGVP)₂₅₁ und (GVGIP)₂₆₀ mit zwei Cystein-Endgruppen unterhalb der kritischen Temperatur eine nahezu perfekte Speicherung der Dehnungsenergie zeigten, wenn sie mithilfe der Sondenspitze des Mikroskops gedehnt und entspannt wurden.^[45] Diese Kurven stimmten gut mit dem wurmartigen Kettenmodell (WLC-Modell) der molekularen Elastizität überein.^[87] Oberhalb der LCST zeigt die Extensionskurve einen abrupten Wechsel von einem anfänglich niedrigen zu einem höheren Modul, die im restlichen Zugvorgang einen annähernd konstanten Wert beibehält. Dieses Verhalten impliziert, dass die hydrophob-kollabierte Struktur zumindest auf der Ebene einzelner Moleküle eine gewisse Ordnung aufweist: Diese entfalten sich unter Spannung in gleicher Weise, wie man es von einer gedehnten β -Spirale oder einem β -Schleifen-reichen statistischen Knäuel erwarten würde. Weitere SMFS-Studien von Valiaev und Mitarbeitern zeigen, dass für die mechanische Entfaltung in einem unpolaren Lösungsmittel ein geringerer Entropiebetrag erforderlich ist, was die Signifikanz des Modells der „hydrophoben Hydratation“ für verlustfreien elastischen Widerstand gegenüber Deformation^[88] unterstreicht.

2.2.2 Vernetzte ELP-Materialien aus rekombinanten und synthetischen Polypeptiden

Aufgrund der repetitiven, modularen Sequenz ist das elastische Kernproteinpolymer einfach nachzubilden; die komplizierten Prozesse der kontrollierten Deposition, Anordnung und Vernetzung sind dies hingegen nicht. Um die mechanischen Eigenschaften der frühesten, direkt an den Hauptketten verbundenen^[65] und strahlungsvernetzten^[58] Elastin imitierenden Modelle zu verbessern, haben sich etliche Arbeitsgruppen herkömmlichen Methoden zur chemischen Vernetzung^[89] und sequenzgerichteter Anordnung zugewandt.

McMillan et al. führten in [(VPGVG)₄(VPGKG)]_n mit regelmäßigem Abstand in jeder fünften Wiederholungseinheit eine Lysin-Vernetzungsfunktionalität ein.^[90] Die Lysin-Substitution am vierten flexiblen Rest des wiederholten elastischen Motivs wurde mit einem Bis-*N*-hydroxysuccinimid(NHS)-Ester umgesetzt, um Gele mit bis zu 17% intermolekularer Vernetzung der Aminfunktionalität zu erreichen. Die Einführung der vernetzenden Komponente im Rückgrat beeinträchtigte die LCST-Eigenschaften nicht, was darauf hinweist, dass das elastische Verhalten des natürlichen Systems bewahrt sein sollte. Hingegen trat eine durch Vernetzung ausgelöste Koazervation auf, im Gegensatz zur biologischen Elastin-Synthese, bei der das beständige Netzwerk erst nach, nicht jedoch vor oder während der Koazervation und Anordnung gebildet wird. Martino et al. steigerten das Ausmaß der Vernetzung, indem sie zwei reaktive Amine in

jede Wiederholungseinheit einführt.^[91] Trotz Elastin-ähnlicher „physikalisch-chemischer“ Eigenschaften (charakteristische CD-Spektren, Morphologie einer verbundenen Faser) wurden wegen der unkontrollierten Vernetzung kleiner (< 3 kDa), in Lösung synthetisierter Tandem-Wiederholungseinheiten, diesmal mit Glutaraldehyd (GTA), keine Elastin-ähnlichen mechanischen Eigenschaften erhalten.

Welsh et al. verwendeten (VPGIG)_n-Wiederholungseinheiten. Anstelle diese regelmäßig innerhalb des Rückgrats zu verteilen, platzierten sie die Lysine dieses Mal in der Nähe der Termini des rekombinanten Proteinpolymers.^[92] Erneut wurde GTA verwendet, doch in Abwesenheit eines zusätzlichen Vermittlers zur Selbstorganisation wurde aufgrund des komplexen Profils des Amin-Aldehyd-Reaktionsprodukts keine kontrolliertere Vernetzung erwartet. Wurden die Hydrogele jedoch in einer speziellen Testkammer unter physiologisch relevanten Bedingungen gedehnt, zeigten die Muster eine respektable Bruchdehnung von etwa 250–400 %, obwohl sowohl Zugfestigkeit als auch Dehngrenze eine Größenordnung geringer waren als bei Elastin. Die beiden ersten Parameter sind stark abhängig von geringfügigen Fehlern und weisen damit auf eine der Kernaufgaben der biomimetischen Materialwissenschaft: eine schlüssige Verbindung zwischen mikroskopischem Aufbau und makroskopischen Eigenschaften aufzuzeigen. Dennoch scheint die strategische Anordnung von Aminen an den Polymerenden die Dehnungseigenschaften des Materials im Vergleich zum zufälligen oder vollständigen Einbau zu verbessern.

Eine radikalere Anordnungs-/Verarbeitungsstrategie nutzten Huang et al., indem sie konzentrierte Lösungen von synthetischen Poly-Pentaden durch eine Elektrosplein-Apparat trieben, was feine, faserige Netzwerke mit einstellbaren Dimensionen ergab.^[93] Interessanterweise wurden auf diesen Fasern 10 nm hohe Oberflächenfalten beobachtet, die in ihrer Größe dünnen Filamenten ähneln, die nach Aggregation auch bei natürlichem Tropoelastin auftraten, was darauf hinweist, dass die durch Scherströmung und das elektrische Feld induzierten Dehnungsbedingungen des Spleinprozesses die gerichtete Selbstorganisation von Polymeren unterstützen könnten. In diesem Fall zeigt das resultierende Vlies eine beträchtliche Stärke und Dehngrenze von 35 MPa beziehungsweise 1.8 GPa, aber auf Kosten der gewünschten Energiespeicherung und Rückverformung, wie sie in leistungsfähigen Elastin-basierenden Strukturen, z. B. Blutgefäßen, vorliegt. In weiteren Studien führten die Autoren einen photochemischen Festphasen-Acrylat-Vernetzungsschritt nach dem Splein ein, der die mechanische Charakterisierung von mit Wasser plastifizierten Proben ermöglichte.^[94] Diese Materialien verhielten sich in Bezug auf die anfängliche Dehngrenze (0.45 MPa) und Bruchdehnung (105 %) vergleichbar mit natürlichem Elastin. Wichtig ist, dass das über Festphasen-NMR-Spektroskopie ermittelte Ausmaß der Vernetzung einigermaßen gut mit dem vorhergesagten Ausmaß der Vernetzung für ein ideales Gummi-Elastomer mit ähnlichem mechanischem Profil übereinstimmt.

In weiteren Studien konstruierte dieselbe Gruppe ABA-Triblock-Proteinocopolymere, um in einem Prozess, ähnlich der Selbstorganisation harter und weicher Domänen in thermoplastischen Triblockelastomeren wie Polystyrol-*b*-polybu-

tadien-*b*-polystyrol, einen geordneten Aufbau zu erzielen. Zusätzlich zu der verbesserten Kontrolle über den physikalischen Vernetzungsprozess und die endgültige Morphologie des Netzwerks, ermöglichte dieser Ansatz die Feineinstellung der Größe und Sequenz des Mittelblocks und somit auch der viskoelastischen und mechanischen Eigenschaften. Die Autoren stellten fest, dass durch den einfachen Austausch der Pro-Gly-Typ-II- β -Schleife im formgebenden Motiv gegen eine Pro-Ala-Typ-I-Schleife ein Übergang vom elastischen zum plastischen Zug-Dehn-Verhalten resultiert.^[95] In einem verfeinerten Ansatz wurde das modulare Proteinpolymer LysB10 entwickelt, das hydrophobe, kunststoffartige Endblöcke enthält, die jeweils von Lysinpaaren flankiert werden (Abbildung 3 a).^[96] Um die Hydrophilie und somit vermutlich

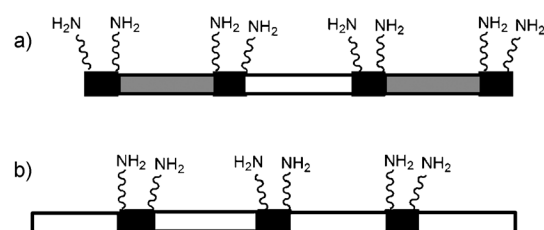


Abbildung 3. Aufbau biotechnologisch synthetisierter, vernetzbarer Elastin-imitierender Proteine. a) thermoplastisches Elastomer vom A-B-A-Typ (schwarz: vernetzende Lysindomäne, weiß: elastisches (VPGXG)_n, grau: plastische Domäne (IPAVC)_n). b) elastische Domänen, getrennt durch vernetzende Lysindomänen.

die wasserinduzierte Plastifizierung zu steigern, wurde Glutaminsäure in den weichen, elastischen Mittelblock eingebunden. Nach der Bearbeitung im Anschluss an die LCST- und GTA-Gasphasen-Behandlung, um eine bleibende Fixierung zu induzieren, wurde nichtvernetztes Material herausgelöst. Die verbliebenen 88 Gew.-% des ursprünglichen Materials lassen darauf schließen, dass sich ein permanentes Netzwerk in hohem Ausmaß gebildet hat. Lim et al. erreichten ähnliche Resultate mit rekombinanten Blockcopolymer-ELPs (A, ABA und BABA), die über Tris(hydroxymethyl)phosphane vernetzt sind.^[70] Vernetzung von Multiblock-ELPs über Lysindiisocyanat (LDI) führte zu Elastin-ähnlichen mechanischen Eigenschaften (Abbildung 3 b).^[97]

Um den natürlichen sequenziellen Ansatz bezüglich Anordnung und Vernetzung genauer nachzuahmen, entwickelten Keeley et al. ein Elastin-imitierendes Proteinpolymer mit gesonderten Alanin-reichen, Lysin-enthaltenden Anordnungs-/Vernetzungsdomänen, die die elastischen (VPGVG)_n-Rückstoß-Module voneinander trennen.^[98,99] Die Autoren nahmen an, dass eine temperaturosgelöste Phasentrennung der hydrophoben elastischen Abschnitte bei Temperaturen oberhalb der LCST zu einer vorteilhaften Ausrichtung der vernetzenden Domänen führen könnte. Diese Anordnung könnte die oxidative Bildung von Desmosinen ermöglichen, die – anders als bei den bereits genannten Vernetzungsstrategien – eine enge Nachbarschaft mehrerer Lysinreste während dem nachfolgenden Pyrrolochinolinon(PQQ)-Oxidationsschritt erfordert. In der Tat wurden Lysine unter milden oxidierenden Bedingungen nach der Aggregation

permanent vernetzt. Die beeindruckende Elastizität dieser Materialien in makroskopischen mechanischen Prüfverfahren sowie die Elastin-ähnlichen Aggregate, die mit dem Elektronenmikroskop zu beobachten sind, beweisen die Effektivität dieser Herangehensweise.

2.2.3. Hybride Elastin-Mimetika

Obwohl monodisperse ELPs mit hohem Molekulargewicht durch rekombinante DNA-Techniken hergestellt werden können, ist dieser Prozess arbeitsintensiv und liefert normalerweise geringe Ausbeuten. Um die Effektivität und Variabilität der ELP-Synthese zu steigern, haben mehrere Arbeitsgruppen lineare Elastin-nachahmende Hybridpolymere (EMHPs) synthetisiert, wobei sie einige nichtpeptidische Elemente zum Polymeraufbau verwendeten.

2.2.3.1. Hybrid-Polymere mit Elastin-Motiven in der Hauptkette

Grieshaber et al. nutzten die vielseitige Cu-katalysierte Huisgen-Cyclisierung von Triazolen („Klick“-Reaktion),^[100] um hochmolekulare EMHPs zu erhalten.^[101] In diesen Modellsystemen wurde der Hauptstrang über eine AA-BB-Polymerisation durch Azid-Alkin-Cycloadditionen von vernetzenden Alanin-Lysin-Bis(alkin)-Pentaden-Modulen mit PEG-Bis(aziden) aufgebaut, um die entropische Federdomäne nachzubilden. Dieses Polymerisationsverfahren ermöglicht die systematische Einstellung der Peptidsequenz, der Wechselwirkungen mit Wasser und der kovalenten Vernetzung, um die resultierenden mechanischen Materialeigenschaften abzustimmen. Während resiliente Materialien erhalten wurden, konnte kein großer Unterschied zwischen hydratisierten und dehydratisierten Proben festgestellt werden, was auf einen anderen Mechanismus bezüglich der entropischen Elastizität hinweist als bei Elastin; dies verwundert jedoch nicht, da in diesem Modellsystem die amphiphilen entropischen VPGXG-Feder-Kassetten-Domänen durch monophile PEG-Domänen ersetzt wurden.

Kürzlich entwickelten Guan et al. eine neue Klasse linearer Mimetika der „entropischen Federdomäne“. Dabei nutzten sie die effiziente und mit funktionellen Gruppen verträgliche Kupfer-katalysierte „Klick“-Reaktion, um VPGXG-Pentaden zu Polymeren mit hohem Molekulargewicht zu verbinden (Abbildung 4).^[102] Abweichend von früheren „Klick“-EMHP-Beispielen verwendeten sie einen AB-Monomertyp, womit sich die Synthese vereinfachte, weil das

stöchiometrische Verhältnis nicht länger beachtet werden musste. Die Autoren stellten drei Azid-Alkin-Pentaden als Monomere her: 1) VPGVG, zur Einführung der β -Schleifen-Konformation, 2) GVGVP, mit dem Prolinrest neben dem Abstandshalter, um die VPG-Kernsequenz der β -Schleife zu unterbrechen und eine „Random-coil“-Struktur zu erzwingen, und 3) V^DPGVG, basierend auf der bekannten Neigung der D-Prolin-Glycin-Diade, eine β -Schleife vom Typ II' zu bilden, als alternatives Schleifenmotiv. Nach der Polymerisation wurde das Vorliegen dieser Konformationen durch CD-Spektroskopie bestätigt. Obwohl alle drei Polymere das klassische LCST-Verhalten zeigten und die beiden ersten Polymere sehr ähnliche mechanische Eigenschaften aufwiesen, lässt diese Studie weiterhin vermuten, dass eher die hydrophobe Hydratation für die Elastizität von Elastin ausschlaggebend ist als eine streng definierte Sekundärstruktur. Die einfache „Klick“-Reaktion bietet einen effizienten Zugang zu vielfältigen Elastin-imitierenden Polymeren für viele mögliche Biomaterial-Anwendungen.

2.2.3.2. Hybrid-Materialien mit Elastin-Motiven in Seitenketten

Ein radikalerer biomimetischer Ansatz ist die Verwendung von Pentaden-Seitenketten, womit jegliches beobachtete LCST-Verhalten vom direkten hydrophoben Kollaps des Rückgrats entkoppelt wird. Folglich ist die Dynamik der Kettenkonformation grundsätzlich verschieden von der des Elastins. Van Hest et al. synthetisierten EMPHs mit VPGVG-Seitenketten durch radikalische Atomtransferpolymerisation (ATRP). Trotz des geringen Polymerisationsgrades ($DP < 10$) lieferte das schwere Monomer akzeptable Molekulargewichte für dieses Ausgangssystem.^[103] Durch Kettenverlängerung an beiden Enden eines PEG-Blocks wurden ABA-Polymere gewonnen, die das charakteristische konzentrationsabhängige LCST-Verhalten aufwiesen, das mit Elastin-ähnlichen und aus nichtnatürlichen Monomeren bestehenden amphiphilen Polymeren verbunden ist.^[104] Die Seitenketten-Elastin-Mimetika zeigten analog zu Peptid-EMP eine lineare Abhängigkeit der LCST vom Molekulargewicht. Nach der Feststellung, dass die klassische Polymer-Thermodynamik die Unabhängigkeit der LCST von der Polydispersität vorhersagt,^[105] gelang es Fernandez-Trillo et al., durch einfaches Mischen unterschiedlicher Polymere in bestimmten Verhältnissen den Übergang in einem Bereich von 10°C problemlos einzustellen.^[106]

Roberts et al. synthetisierten Norbonen mit einer VPGVG-Seitenkette für eine Ringöffnungsmetathesepolymerisation mit dem Grubbs-Katalysator.^[107] Trotz der bekannten Empfindlichkeit des Katalysators gegenüber polaren Funktionalitäten^[108] gelang es den Autoren, Seitenketten-EMHPs zu erhalten (wenn auch mit $DP < 10$), wenn sie die Polymerisation bei 0°C durchführten. Studien der resultierenden Polymere zeigten, dass deren LCST-Verhalten und die Größe der kollabierten Globuli ähnlich sind wie bei massereichen, gentechnisch hergestellten ELPs. Durch Anpassung des flüssigen Gemischs, um Aggregation zu vermeiden, konnten Conrad und Grubbs VPGVG/PEG₄-Seitenketten-Copolymere mit hohem Molekulargewicht herstellen.^[109] Durch zufällige Einlagerung der beiden Seitenketten-Mono-

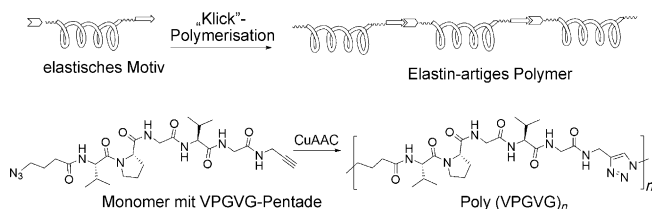


Abbildung 4. Synthese modularer Elastin-imitierender Polymere nach biologischem Vorbild mithilfe von „Klick“-Chemie. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [102]. Copyright 2010 American Chemical Society.

mere in unterschiedlichen Verhältnissen konnten die Autoren die Lösungsmittel/Selbstwechselwirkungs-Parameter linear einstellen und damit auch die LCST.

Zusammenfassend ist das Säugetier-Elastin auf makroskopischer Ebene ein ziemlich einfaches System, dessen mechanische Eigenschaften durch die klassische Theorie der idealen Gummi-Elastizität exakt beschrieben werden können. Auf mikroskopischer Ebene jedoch erscheint das Bild zunehmend dynamischer und komplexer. Wie auch immer bildet die scheinbar wichtige Antriebskraft für die Funktion und Leistung des Elastins, die von hydrophober Hydratation angetriebene Proteinfaltung, die sich in der beobachteten LCST manifestiert, eines der grundlegenden Instrumente des Lebens, beteiligt an jedem Aspekt mechanischer Energieumwandlung und -weiterleitung in biologischen Systemen.^[110] Daher ist die Imitation dieses Materialverhaltens nicht nur nützlich für Strukturmaterialien, sondern sie kann außerdem wertvolle Lehren hinsichtlich Energieeffizienz erteilen.^[111]

3. β -Faltblatt-Fibrillen

β -Faltblatt-Peptid/Protein-Anordnung in natürlichen, synthetischen und Hybrid-Systemen wurden vor kurzem besprochen.^[112,113] In diesem Abschnitt werden wir uns auf die Strukturen und materialbedingten Eigenschaften von Anordnungen natürlicher β -Faltblatt-Fibrillen konzentrieren, gefolgt von einer Erhebung der jüngsten Fortschritte in Aufbau und Herstellung ihrer biomimetischen Analoga. Der Begriff „Amyloid“ bezeichnet mehrskalige Anordnungen von β -Faltblatt-Fibrillen aus natürlichen faserbildenden Proteinen oder deren synthetischen Sequenzanaloga.

3.1. Amyloid-Fibrillen

„Amyloid“ ist der gängigste Begriff für Beläge aus langen steifen Fasern, wie man sie bei Alzheimer und anderen Krankheitsbildern findet. Es gibt allerdings Anzeichen dafür, dass die verlängerten Fasern das Endstadium der Krankheit darstellen, während der größte physiologische Schaden von kürzeren Oligomeren, den Vorstufen der Faserbildung, verursacht wird.^[114,115] Kürzlich ist der Gebrauch weitreichender funktionaler Amyloid-Fasern in der Biologie beschrieben worden. Unter den Amyloid-basierten biologischen Materialien finden sich Super-Klebstoffe,^[116,117] robuste Verkapselungsstoffe,^[118] Pigment-Stabilisatoren,^[119] steife neuronale Zwischenverbindungen,^[119] diese und weitere Funktionen haben Smith et al. neulich zusammengefasst.^[120] Somit ist die Natur in der Lage, Nutzen aus der ausgezeichneten mechanischen Stärke, dem hohen Streckungsgrad und der Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischem Abbau der spontan angeordneten β -Faltblatt-Fasern zu ziehen. Von weiterem Vorteil für die Nanotechnologie ist, dass Amyloidfasern, anders als andere steife biologische Fasern wie Aktinfilamente^[121] oder Mikrotubuli,^[122] keine komplexe Signalübertragung oder konstante Energiezufuhr benötigen, um ihre mechanische Funktion zu erhalten.^[123]

Die hoch aufgelöste Mikrostruktur amyloider Protofibrillen wurde vor kurzem mithilfe von Röntgenstrahlbeugung,^[124,125] Elektronenmikroskopie,^[126] Atomkraftmikroskopie^[127] und 2D-NMR-Spektroskopie^[128] sowie durch Vergleich mit bekannten Strukturen^[129] und Moleküldynamik-Simulationen weiter untersucht.^[130] Dennoch bleibt eine Korrelation zwischen Sequenz und Mikrostruktur aufgrund der Vielzahl der beobachteten amyloiden β -Kreuz-Isoformen weiterhin unklar. Diese komplexe Mischung kinetisch eingeschlossener Gleichgewichtsmorphologien lässt eine starke nichtlineare Abhängigkeit der Endstruktur von der spezifischen Sequenz und der Umgebung während der Anordnung vermuten. Sogar zwischen Protofibrillen mit identischen Aminosäuresequenzen können vielfältige Helixdrehungen und -perioden sowie Kreuzungsabstände beobachtet werden.^[131]

Der Biophysiker William Astbury schlug 1935 als erster vor, dass Proteine sowohl in einem „Faser-Zustand“ als auch in der anerkannten „globulären“ Form existieren könnten.^[132] Eanes und Glenner fuhr fort, die Röntgensignatur des „ β -Kreuzes“ zu identifizieren,^[133] das nun als sicheres Kennzeichen für den „amyloiden“ Proteinzustand angenommen wird, in dem gestreckte Fasern, die aus wiederholten β -Faltblättern bestehen, senkrecht zur Faserachse orientiert sind.

Ein überzeugender molekularer Mechanismus der Fibrillen-anordnung wurde kürzlich von Eisenberg et al. enthüllt.^[134–136] Sie identifizierten die kleinsten „aktiven“ Segmente bekannter Amyloid-Proteine. Nach Synthese dieser Peptide stellte man fest, dass sie abhängig von der Konzentration das Fibrillenwachstum ganzer Proteine nukleieren oder inhibieren. Die Arbeitsgruppe erhielt dann Mikrokristalle dieser Peptide, deren Untersuchung die Struktur eines Kreuzabschnitts des β -Kreuz-Rückgrats in atomarer Auflösung lieferte. Die resultierenden Strukturen zeigen, dass die weitreichende Anordnung der Fibrillen über axiale Wasserstoffbrücken (Haupt- und Nebenkette) zwischen lateral gestapelten Faltblättern in der Art eines „sterischen Reißverschlusses“ (steric zipper) erfolgt. Weiterhin identifizierten die Autoren in Berechnungen das „Amylom“, d. h. alle Segmente der drei größten Genome, die eine geeignete Sequenz für den sterischen Reißverschluss aufweisen und somit die intrinsische Fähigkeit, Fibrillen zu nukleieren.^[137] Die Zahl der Proteine mit passenden Sequenzen ist, aus der Perspektive einer Protein-basierten Lebensform, verstörend hoch. Indes merken die Autoren an, dass mit der eingeschränkten konformativen Beweglichkeit einer kurzen, in einem stabilen, gefalteten globulären Protein verborgenen Sequenz, die Nukleierung der Fibrillen schwierig ist und sich die meisten Proteine mit einer „Zipper“-geeigneten Sequenz scheinbar mit strategisch angeordneten, konformativen Restriktionen entwickelt haben, um unerwünschte Amyloid-Nukleierungen zu vermeiden. Vom nanotechnologischen Standpunkt aus legt die beobachtete Sequenz-Promiskuität amyloidogener Proteine natürlich nahe, dass die Feineinstellung fibrillärer Materialien für spezifische mechanische Eigenschaften und biologische Wechselwirkungen erreichbar sein sollte.

Smith et al. studierten die mechanischen Eigenschaften Insulin-abgeleiteter faseriger β -Faltblatt-Anordnungen durch AFM, wobei sie eine überraschend hohe Stärke und Steifig-

keit verglichen mit anderen hervorragenden Strukturmaterialien wie Seide und Stahl feststellten.^[138] Weitere Studien deuteten darauf hin, dass die gemessenen Werte nahe dem für defektfreie Strukturen vorgeschlagenen Höchstwert liegen.^[139] Dies ist schwer vorstellbar für eine Struktur, die sich, obwohl grundsätzlich dynamisch, irreversibel mit hoher kinetischer Neigung anordnet. Die Autoren stellen heraus, dass beliebige Strukturdefekte bevorzugte Bruchstellen bilden, an denen das geordnete Wachstum wieder beginnen kann. Dieses selbstkorrigierende Verhalten, zusammen mit dem einzigartigen, ziemlich linearen Verhältnis von Steifigkeit zur Querschnittsform, spricht dafür, dass diese Strukturen eine eigene Materialklasse darstellen.^[140]

Trotz der Schwierigkeit, eine Struktur-Eigenschafts-Beziehung in großem Maßstab in einem unlöslichen System mit einem hohen Grad an struktureller Vielfalt zu finden, wurden über Molecular Modeling und AFM-Verfahren weitere Einblicke in die mikroskopischen Mechanismen hinter den besonderen mechanischen Eigenschaften amyloider und amyloidähnlicher Fasern ermöglicht. Eine Kernbeobachtung bezieht sich auf die kritische Länge der Wasserstoffbrücken-Anordnungen, die für einen kooperativen Bruch und hohe Stärke nötig ist. Atomistische Computerstudien mechanischer Proteinmodule durch Keten et al. haben gezeigt, dass unter einheitlicher Schubkraft der gleichzeitige Bruch von Wasserstoffbrücken lediglich bis zu einer maximalen Clustergröße von vier Bindungen erfolgt.^[141] Diese Grenze der maximalen Festigkeitserhöhung ist wahrscheinlich ein Ergebnis des „Energiegleichgewichts“-Konzepts der Bruchmechanik. Dieses Modell beschreibt die höchste mechanische Festigkeit als Funktion der Konkurrenz zwischen dem maßgeblichen dissoziativen Effekt der auf den Proteinhauptstrang wirkenden entropischen Zwänge durch die geordnete Struktur und der assoziativen Energie der kooperativen Wasserstoffbrückenbildung.^[142] Die β -Kreuz-Struktur besteht aus kurzen gestapelten β -Faltblatt-Wiederholungen, die ein dichtes Feld aus kleinen Wasserstoffbrücken-Clustern bilden, um so das mikroskopische kooperative Verhalten und die makroskopische mechanische Festigkeit bei größeren Längenskalen zu maximieren, ohne zu viel Entropie für jedes Strukturelement zu verlieren.^[130] Kooperative Brüche der kurzen β -Faltblatt-Wiederholungen wurden in adhäsiven Amyloiden von Algen auch auf Einzelmolekülebene beobachtet.^[143–145]

Moleküldynamik-Studien des Kompressionsverhaltens einzelner Amyloid-Protofibrillen zeigten, dass die Anordnung eines Proteinpolymers in einer amyloiden oder amyloidähnlichen Form zu einer mehrfachen Erhöhung der Persistenzlänge führt.^[146] Auch wenn dieses Maß an Steifigkeit eine Größenordnung kleiner ist als bei den ausschließlich kovalenten Kohlenstoff-Nanoröhren (CNT), sind β -Faltblatt-Fibrillen einfacher und umweltverträglicher herzustellen, und ihre einstellbare chemische Funktionalität bietet einen vielversprechenden Ansatz dafür, sich mit einer langjährigen Herausforderung in der Polymerchemie zu befassen: der gezielten Erzeugung einer makromolekularen Architektur durch Änderung von Länge, Sequenz, stereochemischer Konfiguration und Ladungsausgleich.^[147] Durch weitere Forschung sollten biomimetische β -Kreuz-Anordnungen über

mehrere Größenordnungen zugänglich sein für räumlich-zeitliche sowie für mechanische Eigenschaften spezifische „Bottom-up“-Mikrosynthesen.

3.2. β -Faltblatt-Fibrillen-Mimetika

3.2.1. Funktionale Materialien aus amyloidogenen Proteinen/Peptiden

Ein einfacher Zugang zu nützlichen Materialien unter hierarchischer Anordnung von β -Faltblättern ist es, die kontrollierte Anordnung eines rasch verfügbaren Wildtyp-Proteins mit amyloidogener Sequenz über externe thermische und chemische Signale zu erhalten. Obwohl solche Proteine die Tendenz haben, rasch unlösliche, nicht verwertbare Beläge und Aggregate zu bilden, gelang es Knowles et al. durch behutsame zeitliche Einstellung des pH-Werts und eine Plastifizierung nach dem Anordnungsschritt, in einem nanoskopisch kontrollierten Fibrillationsprozess hochleistungsfähige Filme zu erhalten (Abbildung 5 a).^[148] Sie inkubierten zuerst nichtmodifiziertes Hennen-Lysozym in verdünnter Salzsäure (3 Gew.-%) bei 65°C. Diese Kombination aus schonender Denaturierung und erhöhter Temperatur hemmte wesentlich die unkontrollierte (kinetische) Aggregation und begünstigte die langsame (thermodynamische) Selbstorganisation über einen Zeitraum von zwei Wochen. Von der Lösung getrennt und nach Zugabe von PEG400 als Plastifikator (0.8 Vol.-%) zeigten die Filme bei der polarisationsmikroskopischen Untersuchung eine flüssigkristalline nema-

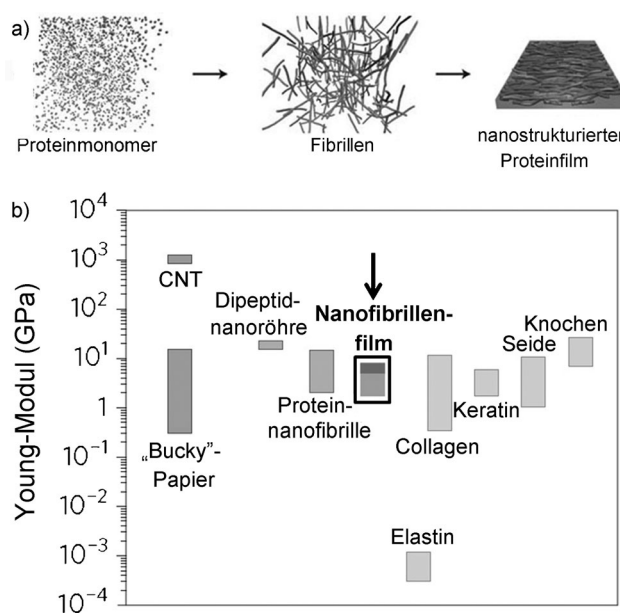


Abbildung 5. a) Proteinmonomere (Hennenlysozym) sind zuerst in Amyloid-ähnlichen Fibrillen angeordnet, die dann zu Filmen geschichtet werden. b) Ein Vergleich der Young-Moduln verschiedener Materialien zeigt, dass künstliche nanostrukturierte Proteinfilme hohe Moduln aufweisen. Der Modul-Abfall durch Assemblierung in Filmen ist bei proteinösen Nanofibrillen sehr viel geringer als bei anderen steifen Nanofibrillen wie Kohlenstoff-Nanoröhren. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [148]. Copyright 2010 Nature Publishing Group.

tische Ordnung. Röntgenbeugungsanalysen bestätigten die gesuchte Ordnung über mehrere Längenskalen: im Nanometerbereich als Ordnung der β -Kreuz-Strukturen innerhalb der Fibrillen und im Mikrometerbereich durch Stapelung der Fibrillen. Die Filme zeigten ein Young-Modul (E-Modul) in der Größenordnung von 6 GPa, das mit Werten für die stärksten biologischen Materialien wie Keratin, Kollagen und Seide vergleichbar ist. Zusätzlich führte die Verarbeitung zu Filmen mit individuellen β -Kreuz-Fibrillen zu makroskopischen Materialien mit nur wenig schlechteren mechanischen Eigenschaften als die individuellen mikroskopischen Strukturen (E-Modul 2–12 GPa). Dies bildet einen Kontrast zu Filmen aus hochleistungsfähigen Kohlenstoffmaterialien (z.B. „Bucky Paper“), bei denen E-Modul und Festigkeit gegenüber den einzelnen molekularen Komponenten drastisch reduziert sind (Abbildung 5b). Die Autoren schreiben dieses vorteilhafte Verhalten der hoch funktionalisierten Oberfläche der Proteinfibrillen zu, die robuste und effiziente Kontakte zwischen den Fibrillen begünstigt.

In einem anderen Ansatz wurde ein kleineres Fibrillenformendes Segment eines größeren nativen Proteins verwendet. Scheibel et al. wählten die N-terminale und Mittelregion von Hefe-Sup35p, das β -Kreuz-Fibrillen mit 9–11 nm Durchmesser bildet, die sich in Größe und Gestalt für Nano-Schaltungen eignen.^[149] Das bidirektionale Fibrillenwachstum konnte durch mechanisches Bewegen während der Anordnung kontrolliert werden. Die Fasern wurden in einem dreistufigen Prozess mit Gold metalliert, angefangen mit Cystein/Au-NP-Konjugation, gefolgt von zwei Anreicherungs-schritten, wodurch beständige metallische Verknüpfungen zwischen den Elektroden entstehen, wie die beobachteten Ohm'schen *I-V*-Charakteristiken belegen. Die Autoren merken an, dass die hohe Stabilität der Fasern gegenüber Einflüssen wie Temperatur, Salzgehalt, Denaturierungsmitteln, Säuren und Basen eine vielversprechende Voraussetzung für zukünftige Prozesse im industriellen Maßstab ist. Zusätzlich ermöglicht die proteinöse Natur des Fibrillengerüsts eine hohe chemische Diversität für zukünftige bionische und sensorische Anwendungen.^[150]

Gazit et al. konnten die Fibrillensequenz weiter vereinfachen. Mit der Vermutung, dass die π - π -Stapelung eine Schlüsselrolle bei der Fibrillenanordnung spielt, sammelten sie Sequenzen bekannter krankheitserregender Amyloide und stellten fest, dass die meisten mindestens zwei Phenylalanin- oder Tyrosinreste innerhalb des kürzesten aktiven Segments mit 5–10 Aminosäuren enthielten, obwohl diese aromatischen Reste zu den seltensten gehören und nur in 3.9 bzw. 3.3 % der verfügbaren Positionen in natürlichen Proteinen vorkommen.^[151] Des Weiteren zählen diese Reste zu den am besten konservierten, was auf spezifische und selektive Funktionen hindeutet. Also dispergierte die Arbeitsgruppe konzentrierte Lösungen von Di(phenylalanin) in wässrigem Medium und beobachtete die spontane Bildung persistenter langer Nanoröhren (Abbildung 6). Diese Röhren wurden dann verwendet, um Silberranodrähte zu gießen, die sich nach enzymatischem Abbau der als Gießform wirkenden Di(phenylalanin)-Nanoröhren durch große Einheitlichkeit auszeichneten.^[152] Für diese Röhren wurde durch AFM-Na-

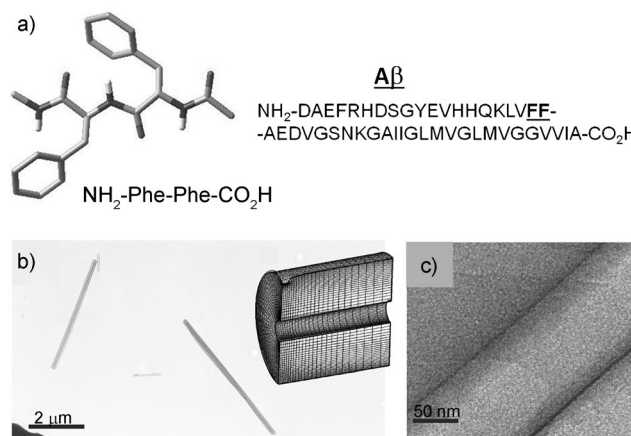


Abbildung 6. Selbstorganisation von Peptid-Nanoröhren über ein molekulares Erkennungsmotiv abgeleitet vom β -amyloiden Polypeptid. a) Der zentrale aromatische Kern des β -amyloiden Polypeptids ist in den molekularen Erkennungsprozess eingebunden, der zur Bildung von Amyloidfibrillen führt. b) TEM-Aufnahmen von Nanoröhren des Diphenylalanin-Peptids. c) HR-TEM-Aufnahmen der Peptidnanoröhren. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [152]. Copyright 2003 American Association for the Advancement of Science.

noidentierung ein Young-Modul von etwa 19 GPa ermittelt; der Vergleichswert für Mikrotubuli beträgt 1 GPa.^[153]

Die Artzner-Arbeitsgruppe erforschte ein einzigartiges β -Faltblatt-basiertes System, das spontan in einer Lösung des Octapeptids Lanreotid entsteht (Abbildung 7a).^[154] Das Peptid ist eine kurze β -Schleifeneinheit mit drei Wasserstoffbrücken, kovalent stabilisiert durch eine intramolekulare

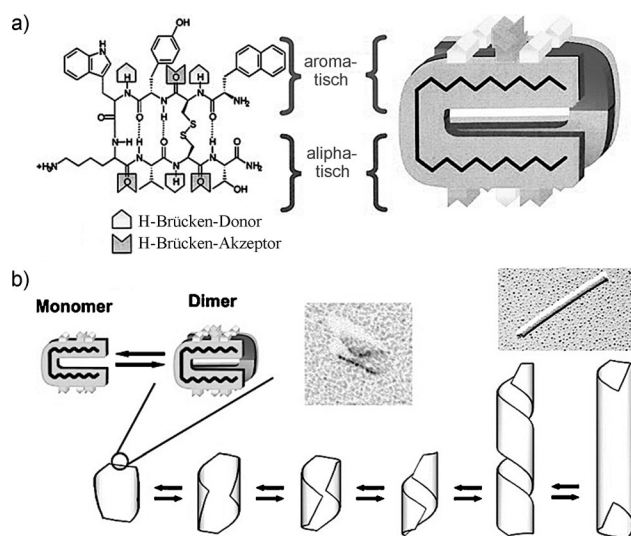


Abbildung 7. a) Das Lanreotid-Molekül in der planaren β -Haarnadel-Konformation, die durch die Disulfidbrücke stabilisiert wird, die β -Schleife und intramolekulare Wasserstoffbrücken. b) Zwischenprodukte und Sequenz der Selbstorganisation zur Nanoröhre. Die Bildung von Lanreotid-Nanoröhren wird durch eine Folge von Gleichgewichten zwischen den verschiedenen intermediären Spezies (Monomer, Dimer, offene Stränge, helikale Stränge und kurze Nanoröhren) beschrieben. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [154], Copyright 2003 National Academy of Sciences, und Lit. [155], Copyright 2010 American Chemical Society.

Disulfidbrücke, und bildet ein kooperatives D-A-D- und ein komplementäres A-D-A-Wasserstoffbrücken-Erkennungsmotiv am oberen bzw. unteren Rand der Schleifeneinheit. Systematische Segregation von aromatischen und aliphatischen Einheiten treibt die unidirektionale Dimerisierung der Schleifeneinheit unter Bildung von drei kooperativen Wasserstoffbrücken an jedem Rand, die zur spontanen β -Kreuz-Anordnung in mikrometerlangen hohlen Nanoröhren mit fest vorgegebenem Radius führt. Diese Röhren fügen sich weiterhin zu einem hexagonal gepackten Gitter zusammen. Der Schlüssel zu der bemerkenswerten Ordnung dieses Systems ist die zweifach positive Gesamtladung pro Peptid, die die Anziehungskräfte ausgleicht und eine unkontrollierte Aggregation verhindert.

Die Autoren vermuten, dass die entstandenen Nanoröhren-Strukturen, wie natürliche Amyloide, das Ergebnis eines kinetisch beeinflussten Gleichgewichtsprozesses sind, der letztlich zu fehlerfreien oder sogar selbstregenerierenden und selbstkorrigierenden Nanomaterialien führen könnte.^[155] Die Anordnung der Lanreotid- β -Kreuz-Nanoröhre dient als Modell für biomimetische hierarchische Systeme. Wegen der hohen Löslichkeit, der hochgeordneten und gleichförmigen Struktur sowie den raschen Nukleierung und Verlängerung ist die klare Beobachtung geordneter Zwischenzustände und Transformationen anders als bei natürlichen Anordnungen von Amyloiden einfach (Abbildung 7b). Konzentrations- und temperaturabhängige Röntgen- und Mikroskopiestudien enthüllten einen dreistufigen Reaktionsweg mit aufeinanderfolgenden Energiebarrieren: Gleichgewichte zwischen Monomer und Dimer, Dimer und offenem Band sowie offenem Band und Nanoröhre können eindeutig unterschieden werden. Die Autoren beobachteten, dass die „spontane Entstehung eines solchen wohldefinierten Komplexes und multiskaliger supramolekularer Architekturen sehr verstärkt wird, wenn der Bildungsweg“ durch stabile, wohldefinierte und langlebige Zwischenzustände unterbrochen ist, „von denen jeder einzelne den nächsten Anordnungsschritt vorbereitet. Weiterhin wird der präzise und eindeutige Selbstassoziationsprozess durch Ausgleich der Van-der-Waals-Anziehung und der elektrostatischen Abstoßung angetrieben.“^[155]

Während das nanoröhrenähnliche Aussehen der β -Kreuz-Amyloid-Mimetika sie zu vielversprechenden Kandidaten für hochleistungsfähige strukturelle und nanoelektrische Materialien sowie für nützliche Modellsysteme der Selbstassoziation machen, stellt die Neigung der β -Faltblätter, sich in weiträumigen, stark wechselwirkenden, hydrophilen Strukturen anzuordnen, eine wertvolle Eigenschaft zur Gewinnung neuartiger weicher Materialien wie Hydrogele dar. Dies ist ein vielversprechender Forschungsweg, da die resultierenden Materialien eine proteinähnliche Einstellbarkeit in die Nanostruktur einbringen, um die Funktionalität und mechanischen Eigenschaften zu kontrollieren, und die Materialien gänzlich aus reichlich vorhandenen natürlichen Ressourcen stammen.^[156]

Aggeli et al. stellten fest, dass die Peptide K24 und K27, beide mit zwei Di(phenylalanin)-Kernmotiven, leicht β -Faltblatt-Strukturen in Lipiddoppelschichten bilden. Röntgen- und FT-IR-Analysen zufolge ordneten sich die Peptide bei

der Extraktion in amphiphile Lösungsmittel in β -Faltblatt-Streifen mit einer maximalen Schichtdicke von 0.7 nm (abgeleitet aus rheologischen Messungen), was auf eine einmolekulare Schicht hinweist.^[157] Diese Streifen bildeten rasch ein stabiles Gel, das durch Zugabe von Natriumdodecylsulfat (SDS) zu einer einfachen Newton'schen Flüssigkeit denaturiert werden konnte. Das SDS verdeckt die Peptidamphiphilie und induziert die Bildung einer α -Helix. Aufgrund dieser Experimente und vorausgegangener Berichte empfiehlt die Arbeitsgruppe einige Kriterien für das rationale Design gelbildender Peptide: 1) Anziehungskräfte zwischen Seitenketten über mehrere Fasern, 2) beschränkte Anordnung, durch Erkennung lateraler β -Stränge auf eine Dimension begrenzt, und 3) Funktionalität der Streifenoberfläche, sodass die Löslichkeit während und nach der Anordnung erhalten bleibt.

Zhang et al. beobachteten auch helikale streifenartige Zwischenprodukte, die sich mit ihren amphiphilen KFE-8-Octapeptiden konzentrationsabhängig in Bändern, Fibrillen und Fasern anordnen.^[158] Dieses System, das Fasern mit identischer Chiralität und ähnlichen Dimensionen wie natürliche Amyloide ergibt, ist eine vereinfachte Version der dynamischen Amyloid-Anordnung. In weiteren Studien wechselten Vauthey et al. von der alternierenden Hydrophilie/Hydrophobie des KFE-8-Peptids zu hydrophil/hydrophoben „Kopf-Schwanz“-Mustern wie in V_6D_2 und fanden heraus, dass sich diese relativ billigen und funktionalisierbaren Peptide in langen Nanoröhren und Vesikeln aus β -Faltblatt-Doppelschichten anordnen.^[159] Deming et al. wendeten solche Kopf-Schwanz-Amphiphile ebenso erfolgreich an, um einstellbare, sich schnell wiederherstellende Hydrogele für potenzielle biotechnologische Anwendungen zu erhalten.^[160]

Aulisa et al. entwickelten das rationale Design β -Faltblattbildender amphiphiler Peptide weiter. Das Peptid $K_2(QL)_6K_2$ zum Beispiel, hat einen Kern aus wechselnden hydrophilen (Glutamin) und hydrophoben Elementen (Leucin), ein allgemeines β -Kreuz-Fibrillenmotiv.^[161] Um die Anordnung auf eine Dimension zu begrenzen, wurde die Kernsequenz von sich selbst abstoßenden geladenen Lysin- (positiv) oder Glutaminsäureresten (negativ) umgeben. In dem sie die Anziehung und Abstoßung fein abstimmten, konnten die Autoren die Gelbildung durch Einstellung des pH-Werts und der Ionenkonzentration steuern. Sie erhielten streng gleichförmige doppelseitige β -Kreuz-Bänder mit Längen von einigen Mikrometern, was die biomimetische Strategie der „molekularen Frustration“ als Methode zur kontrollierten Anordnung von funktionellen Materialien eindrucksvoll demonstriert.^[61] Weitere Faserverlängerung und -vernetzung könnte durch Zugabe zweiwertiger Kationen, um die flankierenden Säurereste zu verbinden, sowie durch kovalente Fixierung des Gel-Netzwerks durch Oxidation der Cysteinreste auf der exponierten hydrophilen Seite der Fasern erreicht werden. Wie in Aggeli's amphiphilem Peptidsystem zeigten die Gele thixotropes Verhalten, d. h. sie verdünnen sich bei Scherung, verfestigen sich jedoch nach Entfernen der Scherkraft rasch wieder. Daher können diese Gele leicht injiziert werden und ihre mechanischen Eigenschaften in situ spontan wieder herstellen. Eine weitere Verbesserung der kovalenten Anordnung und Festigkeit der β -Faltblatt-Gele wurde von Jung

et al. auf biokompatible Weise durch native chemische Ligation erreicht.^[162]

Obwohl geordnete Ladungen in amphiphilen Peptiden als Designstrategie für biomimetische amyloidähnliche Materialien vielversprechend sind, gibt es zweifelsfrei einige Anwendungen, bei denen die für die Löslichkeit notwendige Dimensionsbeschränkung der Anordnung unerwünscht ist. Um die Dimensionalität des Anordnungsprozesses zu erweitern, trotz Beibehaltung der Löslichkeit, die für die Kontrolle des Prozesses unerlässlich ist, wurden verschiedene chemisch ausgelöste Anordnungsstrategien entwickelt. So demonstrierten Collier et al. die extern ausgelöste Anordnung amyloid-imitierender Peptide durch Licht/Temperatur-induzierte Spaltung salzhaltiger Liposome, was zur Abschirmung der Abstoßungskräfte der geladenen Peptide und zur räumlichen und zeitlichen Aggregationskontrolle führte.^[163] Cao et al. nutzten ein „Schalter“-Peptid, um eine Anordnung auszulösen (Abbildung 8).^[164] Ser20 des IAPP(Amylin)-Amyloid-

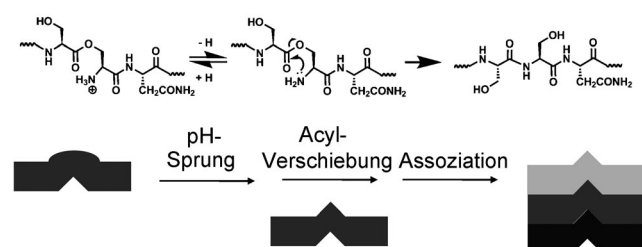


Abbildung 8. Durch ein „Schalter-Peptid“ ausgelöste Assemblierung. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [164]. Copyright 2010 American Chemical Society.

bildenden Peptids wurde über eine Esterbindung zwischen dem benachbarten Rest und der Serin-Hydroxygruppe in die Sequenz eingebaut, wodurch das Wasserstoffbrückensystem des β -Faltblatt-Kerns aufgebrochen wird. Wenn die freie Ammoniumgruppe der Aminosäure durch Erhöhung des pH-Werts deprotoniert wird, tritt eine rasche Transamidierung ein, die das Wasserstoffbrückensystem wiederherstellt und zur spontanen Faserbildung führt.^[164] Kürzlich entwickelten Bowerman et al. ein über terminale Cysteinreste cyclisiertes KFE-Derivat.^[165] Disulfidreduktion öffnete den Makrocyclus und löste eine amphipatisch vermittelte Filamentbildung aus.

Durch Einbau einer künstlichen β -Schleifeneinheit zwischen zwei amyloidimitierenden Peptiden ist es möglich, die resultierenden β -Kreuz-Strukturen zu stabilisieren. Zu diesem Zweck verwendeten Kelly et al. ihren zuvor entwickelten kationischen peptidomimetischen Rezeptor, der auf einer 2,8-Dibenzofuryl- β -Schleifen-Imitation beruht.^[166] Die Autoren führten anionische Peptide als Gastspezies ein, um eine weitreichende Anordnung zu katalysieren, unter bestimmten Bedingungen kam es aber zur Selbstassoziation des Rezeptors über Intercalation von β -Faltblättern und stabilisierende Wechselwirkungen zwischen kationischen und aromatischen Funktionen. Dabei wurden zahlreiche, stark amyloidähnliche Fibrillenmorphologien beobachtet, deren Struktur sehr einfach durch wechselnde pH-Werte oder Io-

nenstärken der zu mischenden Lösungen beeinflusst werden konnte. In einer ähnlichen Strategie verwendeten Schneider et al. eine künstliche D-Pro-D-Pro-Schleife, um die pH-abhängige Anordnung von β -Faltblatt-Hydrogelen des MAX1-Polypeptids zu erzielen.^[167]

Da die bisher angesprochenen biomimetischen Strategien zur Anordnung von β -Faltblatt-Fibrillen auf kurzen einzel- oder doppelsträngigen Aufbausequenzen sowie ganzen Proteinpolymeren beruhen, sind die resultierenden Anordnungen normalerweise entweder extrem hart und spröde, wie im Fall von Di(phenylalanin), oder sehr weich, wie von MAX1 abgeleitete Hydrogele. Es wäre demnach vorteilhaft, ein amyloidimitierendes System zu entwickeln, das die inhärente Härte der hierarchischen Amyloid-Nanostruktur mit der günstigen Einstellbarkeit und chemischen Funktionalität kurzer biomimetischer Systeme vereint. Zu diesem Zweck haben Yu et al. eine konvergente Synthesemethode entworfen, um β -Faltblatt-Fibrillen bildende Peptidpolymere mit hohem Molekulargewicht herzustellen und gleichzeitig die inhärente Komplexität der Biotechnologie zu vermeiden. Schlussfolgernd, dass die kovalente Bindung mehrerer kurzer, Band-bildender Sequenzen die starken mehrskaligen hierarchischen Anordnungen entropisch begünstigen würde, verwendeten die Autoren ihre zuvor entwickelte 1,3-Triazol-Schleifen-bildende Einheit,^[168] um viele kurze, synthetisch zugängliche Alanin-Wiederholungsböcke über eine Polymerisation durch Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloadditionen zu verbinden (Abbildung 9).^[169] Um eine vorzeitige Anordnung zu verhindern, wurde eine säurelabile Dimethoxybenzyl(DMB)-Amidschutzgruppe während der Synthese benötigt. Nach pH-induzierter Abspaltung ordneten sich die

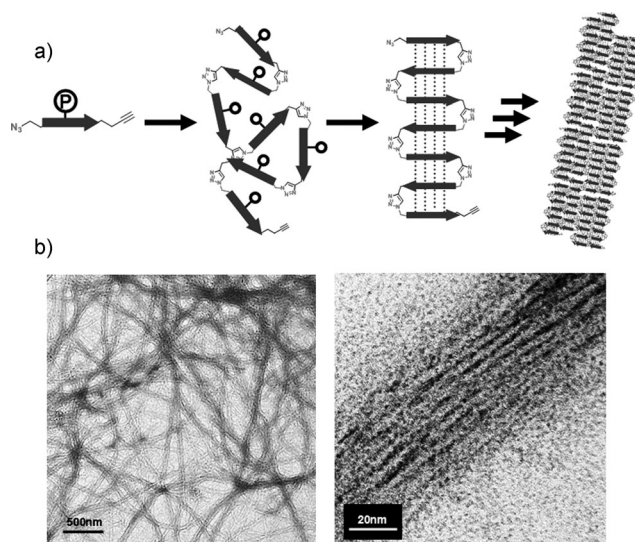


Abbildung 9. a) Durch Cycloaddition induzierte Faltung und Selbstassoziation: Eine [2+3]-Cycloaddition führt zur Polymerisation eines geschützten Peptidmonomers. Nach Entschützung falten sich die Polypeptide in definierte antiparallele β -Stränge, und durch Selbstorganisation mehrerer β -Faltblätter entstehen hierarchische Nanofibrillen. b) Eine typische TEM-Aufnahme von Nanofibrillen des β -Faltblatt-Polymers und eine stark vergrößerte Ansicht einer Nanofibrille. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [169].

Peptidpolymere in langen, hierarchisch organisierten Fibrillen an. Von weiteren Sequenzvariationen und besser kontrollierter Weiterverarbeitung versprechen sich die Autoren ein β -Faltblatt-Polymer mit einstellbaren hochentwickelten funktionalen Eigenschaften.

3.2.2. Funktionale Materialien aus Oligomer/Polymer-Peptid-Hybriden

Ein anderer Weg zu amphiphilen selbstassoziierenden β -Faltblatt-Systemen ist die Einführung eines nichtpeptidischen Strukturteils als weiterer Einflussparameter der Assoziation. Dieser Ansatz wurde elegant von Hartgerink et al. demonstriert.^[170,171] Wird die Ladungsabstoßung durch Einstellung des pH-Werts ausgeglichen, ordnen sich die Peptid-Alkyl-Konjugate reversibel in gleichmäßigen Fasern an, wobei die β -Faltblätter senkrecht zur Faserachse orientiert und die lipophilen Dodecylgruppen ins Innere gerichtet sind. Der Einbau von Cystein in die Sequenz ermöglichte eine permanente Fixierung dieser Strukturen durch Bildung intermolekularer Disulfidbrücken. Paramonov et al. illustrierten weiterhin die Bedeutung der β -Kreuz-Wasserstoffbrücken-Anordnung nahe des Faserkerns, im Gegensatz zur einfachen hydrophoben Packung, aufgrund der Beobachtung, dass selektive Methylierung der Amide in Nachbarschaft zum Alkylende die Anordnung zu Fibrillen verhinderte. IR-spektroskopische Messungen parallel und senkrecht zur Faserachse sprechen für einen Zustand zwischen gewundener Helix und β -Schichtstruktur und enthüllten damit die molekulare Basis für die Stabilität der Nanofasern und die Streckung entlang der z-Achse.^[172] Kürzlich zeigten Pashuck et al. die Möglichkeit der Feineinstellung dieser Stabilität (Steifigkeit) durch Variation der V/A-Sequenz und somit dem Grad der hierarchischen kooperativen Konnektivität der β -Faltblätter innerhalb der Fibrille.^[173] Zur weiteren Kontrolle der Anordnungseigenschaften wurde eine photolabile o-Nitrobenzyl-Schutzgruppe in nächster Nähe zum Alkylende eingebaut.^[174]

Smeenk et al. nutzten ebenfalls den Hybridansatz, aber mit entgegengesetzter Polarität. Die Arbeitsgruppe exprimierte einen Polyalanin- β -Faltblatt-Kern mit strategisch platzierten Glutaminsäuregruppen, um nach der Anordnung die Aggregation entlang der breiteren Fibrillenachse durch Ladungsabstoßung zu blockieren. PEG-Blöcke wurden dann an terminale Cysteine konjugiert, womit die Anordnung auf eine Dimension beschränkt wurde, was zu gleichförmigen, einige Mikrometer langen Fibrillen führte.^[175]

Moderne kontrollierte Polymerisationstechniken nutzend, wurden Hybridstrategien zur Anordnung von Fibrillen weiterentwickelt. Hentschel et al. verwendeten eine von einem Schalter-Peptid ausgelöste Anordnung mit hydrophobem Poly(*n*-butylacrylat)^[176] oder hydrophilem PEG^[177] in Peptid-Polymer-Konjugaten, um geordnete Bandstrukturen in organischen bzw. wässrigen Medien zu erhalten. Enzymatisch induzierte Anordnung wurde ebenfalls demonstriert^[178] sowie zerstörungsfreie chemische Modifizierung nach Aggregation.^[179] Dieselbe Gruppe führte Oligothiophen-Einheiten ein^[180] mit dem endgültigen Ziel der kontrollierten Anordnung von Nanostrukturen zu molekularen Drähten.

Die Arbeitsgruppen von Frauenrath^[181,182] und van Hest^[183] verfolgten eine ähnliche Strategie, indem sie die Polyacetylen-Synthese über β -Faltblatt-bildende Oligopeptidanordnungen erfolgreich kopierten und höchst gleichförmige, amyloidähnliche helikale molekulare Bandleitungen erhielten.

Trotz der Schwierigkeiten, die bei der Erforschung solcher unlöslicher Systeme auftreten, wurden wesentliche Fortschritte im Verständnis und bei der Nachahmung von Materialien aus β -Faltblatt-Fibrillen erzielt. Mit weiterem Einsatz ist zu erwarten, dass sowohl die einstellbare Anordnung als auch die leistungsfähigen mechanischen Eigenschaften dieser vergleichbar einfachen Nanostruktur zu tiefgreifenden technologischen Fortschritten führen werden.

4. β -Faltblatt-Nanoverbundstoffe

Seide ist ein bemerkenswertes Proteinmaterial, das in der Natur bereits seit 400 Millionen Jahren verwendet wird, vor ein paar tausend Jahren für die Massenproduktion der Seidenfasern angepasst, aber erst vor kurzem abgebaut und in vivo synthetisiert wurde. Die eingeschränkte Verfügbarkeit dieses nützlichen Materials im Verlauf des Zweiten Weltkriegs gab den Anstoß zur Synthese der „künstlichen Seide“ Nylon, womit die Entwicklung von Materialien aus petrochemischen Rohstoffen einsetzte.^[184] Da die Proteingrundbausteine dieser Fasermaterialien für bestimmte mechanische Eigenschaften entworfen wurden und weniger für die katalytischen und Erkennungsfunktionen der meisten globulären Proteine, bilden sie faszinierende Gerüste für fortgeschrittene Biomaterialien.^[185] Die variable Designstrategie und umweltverträgliche Synthese macht Seide zu einer fast universellen Basis für ein großes Spektrum an Materialien.^[186] Die hoch repetitive Primärsequenz und die makroskopischen Eigenschaften verschiedener Seidenproteine wurden kürzlich behandelt.^[187]

4.1. Spinnenabseilfadenseide

Mehrere natürliche Strukturproteinpolymer-Fasern werden als Seide klassifiziert. Die Motte *Bombyx Mori* produziert beispielsweise einen steifen, aber spröden Seidenfaden zum Schutz ihrer Larvenkokons.^[188] Spinnen sind andere bekannte Seideproduzenten. Das entsprechende Organsystem der Spinne hat sich über hunderte Millionen Jahre weiterentwickelt, und oft kann derselbe Organismus ungewöhnliche Fasern mit stark variierenden mechanischen Eigenschaften spinnen, die jeweils an spezifische Aufgaben angepasst sind.^[189] Neben der Abseilfadenseide, die Fangnetze mechanisch unterstützt und die Mobilität der Spinne erhöht, synthetisieren viele Spinnen beispielsweise eine Elastin-ähnliche Seide, die sich nach dem Spinnen, dem Beschichten mit einem spezifischen Molekülcocktail und Anfeuchten mit Wasser zu einer idealen ballistischen Falle entwickelt.^[190–192] In jedem Fall sind die mechanischen Eigenschaften der Seide eine direkte Folge aus der spezifischen Polypeptid-Sequenz und den Extrusionsbedingungen (Abbildung 10).

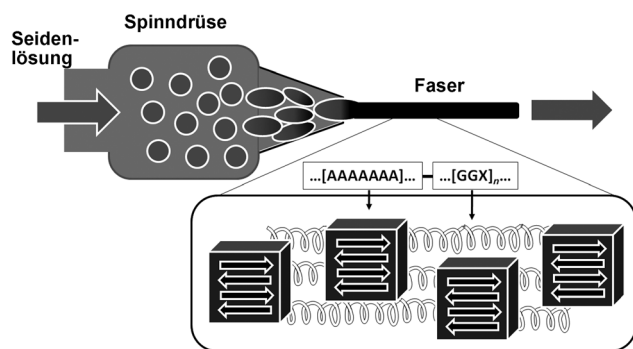


Abbildung 10. Synthese einer β -Faltblatt-Superfaser mit Nanoverbundstruktur: Spinnprozess und Morphologie der selbstorganisierten Spinnabseilfaden-Seide.

Die Abseilfadenseide der Spinne ist eines der wirklich multifunktionellen Materialien der Natur (Tabelle 2).^[193] Unter Zug oder Druck übertrifft es die meisten von Men-

Tabelle 2: Vergleich der mechanischen Eigenschaften gebräuchlicher hochfester Fasern.^[a]

Material	Zugfestigkeit [MPa]	Bruchdehnung [%]	Zähigkeit [MJ m ³]
Kokonseide von <i>Bombyx mori</i>	600	18	70
Abseilfadenseide von <i>Araneus diadematus</i> ^[b]	1100	27	160
Nylon	900	18	80
Kevlar 49	3600	2.7	50
Hochfester Stahl	1500	0.8	6

[a] Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [193], Copyright Portland Press Limited. [b] Spinnen-Abseilfadenseide ist das zähste bekannte natürliche und künstliche Fasermaterial.

schon gemachten Materialien (Young-Modul: 10–50 GPa; maximale Streckung bis zum Bruch: 10–30 %; Zugstärke: 1.1–1.4 GPa)^[193–195] und weist zudem andere hochentwickelte Eigenschaften, z. B. ein Formgedächtnis, auf.^[196] Das seidene Abseilfaden-Biopolymer ist lange erforscht worden und früh als ideales Modell für anspruchsvolle biomimetische Materialien identifiziert worden. Wie bei den anderen beschriebenen Materialien haben neuere Fortschritte in hochauflösender Mikroskopie und Spektroskopie sowie in der Computermodellierung signifikante Einblicke in den molekularen Mechanismus geliefert, der hinter den bemerkenswerten Eigenschaften der Seide steht.^[197–199]

Obwohl der hohe β -Faltblatt-Anteil in der Abseilfadenseide schon früh durch Röntgenbeugungsstudien an Seiden-Fibroin bekannt war,^[200] konnte die Aminosäuresequenz der Proteinvorstufe der stärksten und härtesten Seidenfaser, der der großen Ampullendrüse (Major Ampullate Silk), bis 1990 nicht genau bestimmt werden.^[201] Erst Xu und Lewis gelang die Sequenzierung eines cDNA-Fragments, das durch reverse Transkription einer mRNA erhalten wurde, die sie durch erzwungene Seidenproduktion in *Nephila clavipes*, einem Abseilfadenseide-produzierenden Modellorganismus, gewonnen hatten.^[202] Die Forscher stellten fest, dass die Proteinsequenz

im Allgemeinen nicht starr konserviert war, aber sie identifizierten zwei deutliche repetitive Segmente: eine Reihe sich wiederholender Module aus 4–6 Alaninresten, flankiert von 3–4 GGX-Wiederholungen. Deshalb ähnelt die Proteinstruktur einem segmentierten Multiblock-Copolymer.

In einem vereinfachten Modell kann man sich die Struktur eine Abseilfadenseide als halbkristallines Material aus miteinander wechselwirkenden amorphen Proteinketten vorstellen, die physikalisch vernetzt sind und durch starke und steife antiparallele β -Faltblatt-Nanokristalle verstärkt werden.^[203,204] Diese Kristallite nehmen 20–35 % des Materialvolumens ein.^[205] Essenziell für die ungewöhnlich hohe Druckfestigkeit der Seidenfaser sind sowohl streng orientierte Kristallite als auch schwach orientierte „Protokristalle“,^[206] möglicherweise um die Vorteile eines „gestaffelten“ Moduls zu nutzen und die Wahrscheinlichkeit eines vorzeitigen Abreißen an einer Grenzfläche zu verringern. Ebenso wichtig ist die Größe der Kristallite, die durch strategisch platzierte Glutamin- und andere polare sperrige Reste, die eine weiter reichende Kristallpackung unterbrechen, auf < 10 nm beschränkt ist. Atomistische Simulationen von Keten et al. haben gezeigt, dass diese Beschränkung der Kristallitgröße die Zahl gleichzeitig bestehender Wasserstoffbrücken auf etwa 4 pro Faltblatt begrenzt, was der stabilsten Zahl für Interstrang-Wechselwirkungen entspricht. Durch diese Wachstumsbegrenzung wird die Bildung von Defekten während des Kristallitaufbaus effizient beschränkt. Eine anschließende Deformation wird daher gleichmäßig verteilt, und bei einer Maximalbelastung kommt es zu einem konzentrierten Versagen.^[207]

Obwohl die selbstorganisierte Nanopartikelkomponente für die endgültigen mechanischen Compositeigenschaften ausschlaggebend ist, nimmt sie nur einen Bruchteil des Materialvolumens ein. Zusätzlich zum Elastin-ähnlichen GPGXX-Motiv ist das „weiche“ GGX-Wiederholungssegment ein wichtiger Bestandteil des hierarchischen Verbundmaterials und seine Sekundärstruktur daher sehr bedeutsam für die mechanische Leistung der Abseilfadenseide. Die Polymerketten dieser Matrix können gewissermaßen als amorph betrachtet werden, obwohl eine lokale Variabilität im Modul der Matrix essenziell für die Modellgenauigkeit ist. Kürzlich haben Röntgenstrukturstudien auf einen relativ hohen Grad an Ausrichtung und sekundärer Ordnung innerhalb der „amorphen“ Seidenkomponente hingewiesen, was zu dem „Zweiphasen“-Matrizenmodell von Jelinski et al. führte.^[208] Anhand der Daten schlugen die Autoren eine gestreckte 3₁-Helix-Konformation für die GGX-Wiederholungssegmente vor, im Einklang mit der Dehnströmung der Seide-Gel-Lösung während des Spinnens. Dieser Aufbau führt zu einer effizienten, aber nicht kristallinen Packung durch Bildung von Interstrang-Wasserstoffbrücken, was die mechanischen Eigenschaften verglichen mit einer rein amorphen Matrix signifikant verbessern könnte, während die für die Elastizität benötigte konformative Flexibilität erhalten bleibt. Um den Ordnungsgrad dieser Matrixkomponente besser beurteilen zu können, fütterten van Beek et al. Spinnen mit ¹³C-angereicherten Aminosäuren und studierten die resultierenden Seiden als Festkörper durch NMR-spektroskopische 2D-Korrelationstechniken.^[209] Nach Analyse der α -Kohlenstoff-

Torsionen fanden die Autoren in Übereinstimmung mit dem „Zweiphasen“-Matrix-Konzept eine „Ordnungskorrelationsfunktion“ von 0.742. Die mechanischen Eigenschaften von Seide können daher als Funktion des Volumenanteils von streng geordneter Komponente (β -Kristallit) und weniger geordneter Komponente (Matrix) modelliert werden.^[210]

Weil Abseilfaden-seide ein modulares selbstorganisiertes Nanoverbundmaterial ist,^[211] lassen sich Kristallitgröße, Seitenverhältnis und Grenzflächenenergie genau einstellen, wobei die üblichen Hindernisse auf dem Weg zum idealen Nanoverbundmaterial vermieden werden, wie hohe Mischungsviskosität oder Abblättern der Partikelaggregate. Daher ist die Spinne in der Lage, die gewünschte Balance zwischen Anfangsmodul, Zugfestigkeit, Dehnbarkeit und Belastbarkeit für jede spezifische Anwendung herzustellen.

Im Unterschied zu künstlichen Hochleistungspolymeren wie Kevlar, die harsche und umweltschädliche Verarbeitungsbedingungen erfordern,^[212] ordnet sich das Seiden-Proteinpolymer aus einer wässrigen Lösung bei Umgebungstemperatur hierarchisch zu einer funktionalen Faser. Die Literatur über den Spinnprozess von Seide wurde erst kürzlich in Übersichten zusammengefasst.^[198] Anders als die anderen natürlichen Materialien, die in hier besprochen werden, wird Spinnenseide in vivo durch einen komplexen Spinnprozess ausgestoßen. Daher sind die chemischen, mechanischen und thermischen Bedingungen, unter denen die stabile vorgesponnene Polymerlösung dehydratisiert wird, um eine trockene Faser zu bilden (die „Verarbeitungsbedingungen“) mindestens genauso wichtig für die endgültigen mechanischen Eigenschaften der Seide wie die Primärsequenz des polymeren Ausgangsmaterials.^[213,214] Es gibt zwei primäre Modelle für das Spinnen der Abseilfaden-seide: 1) Die Proteinvorstufen liegen in einem geordneten, flüssigkristallinen vorgesponnenen Zustand vor, der die Viskosität der Spinnlösung optimiert und die Bildung von Defekten während der Kristallisation unterdrückt,^[199] und 2) eine lyotrope Aufteilung ergibt kolloidale Zwischenzustände, die eine frühzeitige Aggregation während des Kristallitbaus verhindern.^[215] Beide beruhen auf der genauen räumlichen Kontrolle über eine Reihe chaotroper/kosmotroper chemischer Parameter (wie Ionenkonzentration und pH-Wert), die durch spezielle Zellen entlang des Spinnkanals vermittelt wird.

Zwei neuere Studien liefern wichtige Erkenntnisse zum molekularen Mechanismus, der die Anordnung der Seidenfasern lenkt.^[216] Die Untersuchungen konzentrierten sich auf die Rolle der nichtrepetitiven (NR) N- und C-Termini der Proteinvorstufe des Seiden-Spinnstoffs, die erwiesenermaßen eine seltene α -helikale Falt-Tertiärstruktur einnehmen. Askarieh et al. konstruierten „Mini-Spidroine“ mit nur vier wiederholten Cosegmenten zwischen den Termini, um die Hypothese zu testen, dass die N-terminale NR-Region die pH-abhängige Spidroin-Aggregation auslöst.^[217] Durch Beobachtung der thermodynamischen und chemischen Stabilität des gefalteten Proteins sowie des LCST-Verhaltens haben Hagn et al. bewiesen, dass die C-terminale Region als primärer räumlicher Regulator der geordneten Faserbildung dient (Abbildung 11).^[218] Bemerkenswerterweise haben beide Arbeitsgruppen herausgefunden, dass die terminale Region des Spidroins nicht nur für den geordneten Aufbau der Faser

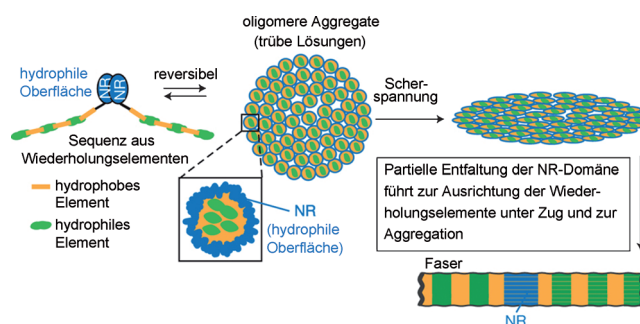


Abbildung 11. Die Schlüsselrolle der nichtrepetitiven (NR-) Domäne des Seidenfibroins bei der Assoziation von Seidenfasern. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [218]. Copyright 2010 Nature Publishing Group.

verantwortlich ist, sondern auch die unerwünschte Aggregation und katastrophale Aushärtung im konzentrierten Speicherzustand des Seidenspinnstoffs hemmt.

4.2. Spinnenabseilfaden-Mimetika

4.2.1. Rekombinante Seide-Mimetika

Die rekombinante DNA-Proteinexpression von Seide-imitierenden Proteinen und die anschließende Verarbeitung sind ausführlich beschrieben worden.^[219] Durch den biotechnologischen Ansatz konnten 1) die Kettenkonformation, 2) die Lamellendicke, 3) die Struktur einer Zelleinheit und 4) die lamellare Oberflächenstruktur von Nanokristallen in einem monodispersen Material systematisch variiert werden.^[220] Krejchi et al. nutzten diesen biosynthetischen Weg, um gezielte Struktur-Eigenschafts-Studien an isolierten β -Faltblatt-Nanokristallsegmenten durchzuführen. Ihr Ziel war es, den hohen Grad an Kontrolle über die Kettenarchitektur und die supramolekulare Organisation der Spinnen-Abseilfaden-seide nachzuahmen.^[221]

Qu et al. entwickelten dann auf biotechnologischem Weg ein modulares Proteinpolymer, das sowohl die β -Faltblatt-Form als auch Elastin-ähnliche Wiederholungen enthält.^[222] Die Arbeitsgruppe wählte das von Zhang et al.^[223] entwickelte lösliche amphiphile Oligopeptid (AEAKEAKAK)₂ für die harten Blöcke, die den pH-induzierten Wechsel von der α -Helix- zur β -Faltblatt-Konformation eingehen sollten. Das GPGQQ-Elastin-Mimetikum wurde als Weichblock-Wiederholungseinheit eingesetzt. Unter Bedingungen, die die Bildung der α -Helix-Struktur in den Hartblock-Wiederholungen nicht begünstigten, zeigte das Polymer, wie vorhergesagt, eine irreversible Hydrogelierung durch β -Faltblatt-Aggregation.^[222]

Ein Hauptproblem bei der Arbeit mit größeren biotechnologisch hergestellten Seide-Mimetika ist die vorzeitige und irreversible Aggregation der Alanin-reichen Segmente. Um diese Komplikation zu vermeiden, entwickelten Valluzzi et al. ein Seidenprotein mit strategisch platzierten Methioninresten.^[224] Diese können oxidiert werden, um die Polarität des Proteins zu erhöhen, sodass anstelle eines sonst hydrophoben Rests ein polares Sulfoxid reversibel angefügt wird. Die Autoren stellten fest, dass der Methionin-„Trigger“, sobald er

reduziert ist, um die Aggregation einzuleiten, nicht in den Organisationsprozess der Seide eingreift, was eine einfache Handhabung des ansonsten heiklen Seidenproteins ermöglicht. Im Unterschied zu natürlicher Seide und den meisten Mimetika konnte zudem die Anordnung durch erneute Oxidation des Methionins wieder aufgelöst werden.^[225] Da die Bedingungen dieses Auslösungsschritts ziemlich scharf sind, haben Winkler et al. Serin-Phosphorylierungs/Dephosphorylierungs-Stellen eingebaut, um die Aggregation durch ein milderer enzymatisches Signal zu vermitteln.^[226]

Nagapudi et al. schlugen einen alternativen Weg ein, der wesentlich vom natürlichen Aufbau abwich. Sie entwickelten ein ABA(hart-weich-hart)-Polypeptid-Seidenmimetikum, das analog zu synthetischen Polystyrol-*b*-polybutadien-*b*-polystyrol-Systemen ist und drei große Blöcke anstelle vieler kleiner Segmente aufweist. Dieses „thermoplastische Protein-elastomer“ konnte zu mechanisch robusten Filmen verarbeitet werden, deren Festigkeit, Härte und Dehnbarkeit durch Variation von Lösungsmittel, Temperatur und pH-Wert einfach eingestellt werden konnten.^[227]

Bei der Herstellung von Abseilfadenseide-Mimetika im industriellen Maßstab ergeben sich zusätzliche Herausforderungen. Beispielsweise verhindert der repetitive Sequenzaufbau die Verwendung von PCR, und die Anordnung der Codons erschwert eine Expression in Prokaryoten.^[228] In den 1990er Jahren konnten Forscher von DuPont komplette Abseilfadenseiden-Gene in einem bakteriellen Vektor erfolgreich klonen und exprimieren,^[229] wodurch – unter Einsatz moderner Mikrofabrikationstechnologie – Spinnprozesse mit unterschiedlichen Graden an mechanischer und chemischer Kontrolle möglich wurden.^[230] Lazaris et al. gelang ein bemerkenswerter Durchbruch durch Verwendung von Säuge-tierzellen, die lösliche Seidenproteinpolymer-Mimetika mit hohem Molekulargewicht in der Milch transgener Ziegen produzieren,^[231] allerdings verhinderten die geringe Ausbeute und die Aggregation während der Speicherung den kommerziellen Einsatz dieser Technologie. Kürzlich verwendeten Huemmerich et al. eine Kombination aus Festphasen-DNA-Synthese und PCR, um Gene zu erhalten, die sich für die Expression in *E. coli* eignen, um die inhärenten Syntheseprobleme zu umgehen.^[232] Neben Studien zur Struktur-Eigenschafts-Beziehung der nichtrepetitiven Domänen haben die Autoren auch einen biomimetischen Spinnprozess entwickelt, der möglicherweise synthetische Seidenfasern mit den besten mechanischen Eigenschaften liefern könnte.^[233]

4.2.2. Seide-Hybrid-Mimetika

Die Entwicklung von Spinnenabseilfaden-Mimetika erfreut sich eines anhaltenden Interesses, doch die inhärenten Probleme, die mit der Steuerung der Kristallisation der β -Faltblatt-Peptide einhergehen, und die Bedeutung des komplexen Spinnprozesses machen dies zu einer extrem anspruchsvollen Aufgabe. Aufgrund der Feststellung, dass sich thermoplastische Elastomere und Abseilfadenseiden vom Aufbau her grundsätzlich ähneln, nutzten Rathore et al. eine Diamin-Diisocyanat-Polymerisation, um kurze β -Faltblatt-bildende AGAG-Wiederholungseinheiten mit verschiedenen weichen PEG-Regionen zu verbinden.^[234] Die In-situ-Bildung

von Isocyanat aus PEG-Disäuren mit nachfolgender Kondensation ergab Polyharnstoffe mit hohem Molekulargewicht (8–16 kDa) in guter Ausbeute. Einfaches Gießen konzentrierter Trifluorethanol-Lösungen lieferte mikrophasengetrennte Filme mit einem hohen Anteil an β -Faltblättern, wie durch AFM, FTIR- und ¹³C-NMR-Spektroskopie sowie Röntgenstrahlbeugung belegt wurde. In nachfolgenden Zugversuchen beobachtete die Arbeitsgruppe vielversprechende mechanische Eigenschaften, die (ohne Prozessoptimierung) eine Größenordnung kleiner sind als bei Spinnenseide. Shao et al. folgten einem ähnlichen Ansatz, sowohl mit einem kurzen aliphatischen Abstandhalter^[235] als auch einem längeren weichen Polyisoprenblock, was ebenfalls zu Polymeren mit hohem β -Faltblatt-Anteil führte.^[236]

Trotz dieser eleganten Studien bleibt der Aufbau eines synthetischen Polymers, das sowohl die Struktur als auch die mechanischen Eigenschaften der Spinnen-Abseilfadenseide imitieren kann, eine große Herausforderung. Ein feiner Abgleich der verschiedenen molekularen Parameter, die die Sekundärstruktur des Polymers bestimmen, wird benötigt, um optimale mechanische Eigenschaften zu erreichen.^[237] Außerdem ist der Spinnprozess der Faser extrem wichtig, um die gewünschten mechanischen Charakteristika zu erhalten.^[238,239] Weitere Fortschritte auf diesem Gebiet werden wahrscheinlich aus einer engen Zusammenarbeit zwischen Chemikern, Biologen, Materialwissenschaftlern und Ingenieuren hervorgehen.

5. α -Helix-basierte Fasern

5.1. Natürliche α -Helix-basierte hierarchische Fasern

Die α -Helix ist eine der wichtigsten Sekundärkonformationen von Peptid- und Proteinpolymeren. Pauling et al. haben diese α -Helix-Struktur im Jahr 1951 vorgeschlagen und damit den Weg für die moderne Proteinstrukturaufklärung geebnet.^[240] Vom Standpunkt der Materialwissenschaft ist die federartige Molekülstruktur einfach und überzeugend. α -Helikal hierarchisch angeordnete Faserproteine wie Vimentin und Keratin spielen eine Schlüsselrolle als Gerüstelemente der eukaryontischen Zelle, die unter Stress die mechanische Integrität der Zelle erhalten^[241] und die strukturelle Basis für robuste Materialien wie Haare, Hörner und Hufe bilden.^[242]

Im Kern basiert die α -Helix, wie viele andere hier beschriebene Proteinmaterialien, auf O...H-N-Wasserstoffbrücken. Die nächste Stufe, eine vollständige Helix-Windung mit 3.6 Aminosäureresten, enthält drei dieser Wasserstoffbrücken, und viele Windungen bilden das α -helikale Filament.^[243] Filamente dieses Typs können sich weiter in Dimeren oder Doppelwindeln anordnen. Das intermediäre Filament (IF) Vimentin des Cytoskeletts beispielsweise ist eine homodimere Doppelwindel zweier α -helikaler Proteine. Das Dimer ist polarisiert mit einem „Kopf“ und einem „Schwanz“, und diese Orientierung kodiert zusammen mit kurzen exohelikalen Proteinfaltungen die endgültige Anordnung weitreichender, mechanisch robuster Fibrillen.^[244,245]

Anders als synthetische Materialien, wo selbst kleinste Defekte oder Risse typischerweise gewaltige Einbußen an

mechanischer Festigkeit nach sich ziehen, zeigen natürliche Materialien wie Haare eine bemerkenswerte Fehlertoleranz. Kürzlich zeigten Moleküldynamiksimulationen idealisierter α -Helix-Netzwerke ein ähnliches Verhalten, als die drei Wasserstoffbrücken der helikalen Windung gezielt reversibel gebrochen wurden. Dieser Entfaltungsvorgang läuft in Form einer „Elongationswelle“ das Filament entlang, wobei Energie umgewandelt und verborgene Länge freigelegt wird, bis die Helix komplett abgewickelt ist und die Belastung an das nächste α -Helixmodul in dem Netzwerk weitergegeben wurde. Die Organisation dieser helikalen Module in hierarchische Nanostrukturen liefert Materialien mit hoher Festigkeit und exzellenter Fehlertoleranz.^[34]

Ordnen sich zwei dieser Helices zu einer, zeigen die resultierenden Materialien „Superelastizität“: Sie können starke Deformationen bei hoher Festigkeit kompensieren. Dieses Verhalten ist analog zur zunehmenden Festigkeit eines Seils mit steigender Zahl eingeflochtener Schnüre. Außerdem zeigen α -helikale Dimere mit „Coiled-Coil“-Struktur eine nichtlineare Spannungs-Dehnungs-Kurve, bekannt als Kaltverfestigung, jenseits des von einer entropischen Feder mit einer „Random-Coil“-Struktur oder von einer Einzelhelix erwarteten Verhaltens. Dieses Phänomen wurde einem α - β -Übergang zugeschrieben,^[246] der bei Röntgenbeugungsuntersuchungen an gespannten Keratinfasern beobachtet wurde.^[247,248] Im Wesentlichen induziert eine solvophobe Triebkraft nach Entfaltung der proximalen α -Helices die erneute Dimerisierung der beiden Stränge, diesmal als steife β -Faltblatt-Konformation.

Vor kurzem identifizierten Waite et al. ein neues superelastisches „Coiled-Coil“-Material im Eierbeutel der Meeresschnecke *Busycon Canaliculum*. Anders als Keratin, das sich nur langsam wieder herstellt, erlangt dieser biologische Verkapselungsstoff nach Entlastung spontan seine ursprüngliche α -helikale Dimerstruktur wieder und kehrt die α - β -Umwandlung um (Abbildung 12).^[249] Durch diesen Mechanismus kombiniert das Material eine hohe Dehngrenze und

reversible Dehnbarkeit mit Schlag- und Energiedissipation, ideal für schadensanfällige Isolierstoffe. Die Autoren konnten zudem zeigen, dass dieses Material der Clausius-Clapeyron-Gleichung bezüglich der freien Energie der Polymerfasern unter Belastung gehorcht, was die kürzlich angenommene Existenz einer eher enthalpischen als entropischen Elastizitätsform beweist.

5.2. α -Helix-basierte Mimetika

5.2.1. α -Helix-Modellsysteme

Auf dem „Coiled-Coil“- α -Helix-Motiv beruht eine leistungsfähige Designstrategie für biomimetische hierarchische Materialien. Die Dimerisierung kurzer α -helikaler Peptidsegmente ist eine der häufigsten Triebkräfte für die Proteinfaltung und somit maßgeblich für viele wichtige biologische Prozesse. Folglich wurden die grundlegenden Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, die die Kinetik und Thermodynamik beim Aufbau der Doppelwendel-Struktur bestimmen, ausführlich untersucht,^[250–254] wodurch Wissenschaftlern und Ingenieuren ein definierter Satz an Methoden zum hierarchischen Materialdesign zur Verfügung steht.

Die Forschung zur Aufklärung der Parameter für die „Coiled-Coil“-Anordnung ist gut beschrieben.^[255–258] Crick hatte eine Struktur angenommen,^[259] in der zwei rechtsgängige α -Helices mit einer leicht linksgängigen Verdrehung umeinander geschlungen sind. Die von Hodges^[260], McLachlan und Stewart^[261] aufgeklärt Sequenz besteht aus periodisch wiederholten amphipathischen Heptaden, deren Positionen als **(abcdefg)**, definiert sind. Wie von O'Shea et al. beschrieben,^[262] zeigen die Positionen der „Innengruppe“ **a** und **d** in den „Supercoil“ hinein und bilden die primäre Triebkraft für die Dimerisierung (Abbildung 13).^[263] Diese Positionen kodieren typischerweise den hydrophoben „Leucin-Zipper“-Kern des „Coiled-Coil-Peptid-Velcro“,^[264] obwohl oft auch verdeckte polare Reste wie Arginin oder Asparagin enthalten sind, um Spezifität und Orientierung zu kontrollieren.^[265] An den Positionen **e** und **g** stehen normalerweise geladene Aminosäuren, die intra- und interhelikale elektrostatische Wechselwirkungen und somit das Gleichgewicht zwischen Dimeren, Trimeren und höheren Oligomeren herbeiführen^[266,267] und oft so angeordnet sind, dass sie ungewünschte Paarbildungen destabilisieren. Die pH-abhängige Beschaffenheit dieser geladenen Positionen dient als komfortabler Auslöseimpuls zur externen Kontrolle der Peptiddimerisierung. Die Positionen **b**, **c** und **f** bilden die „Außengruppe“; sie erleichtern den zerstörungsfreien Einbau einer solubilisierenden Gruppe für Modelldimere und bieten einen günstigen Ausgangspunkt für die Programmierung weiterer hierarchischer Organisation. Computergestützte^[268–271] und biologische^[272,273] Studien wurden ausgeführt, um mehr über das „Interaktom“ zu erfahren;^[274] dabei handelt es sich um eine umfassende Reihe molekularer α -helikaler „Tektone“,^[275] die sich mit begrenztem „Crosstalk“ aus komplexen Mischungen selbst organisieren und damit die Gestaltung komplexer, hierarchischer Strukturnetzwerke versprechen.

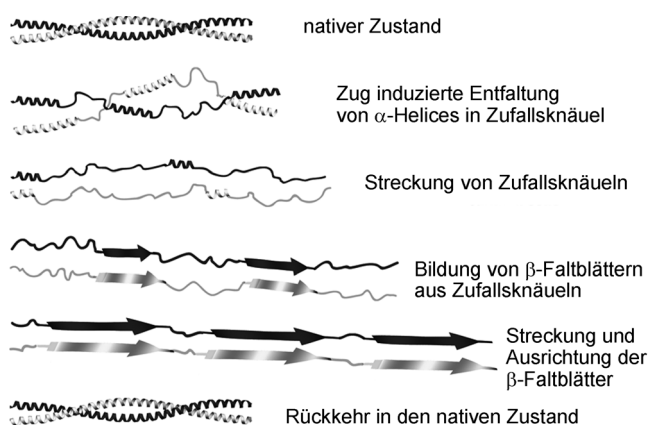


Abbildung 12. Übergang einer α -Helix in ein β -Faltblatt unter Zugbelastung. Dieser eher enthalpische als entropische Mechanismus führt zu hoher Energieumwandlung und rascher Erholung, einer notwendigen Kombination mechanischer Eigenschaften für das Leben in der Gezeitenzone. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [249]. Copyright 2009 Nature Publishing Group.

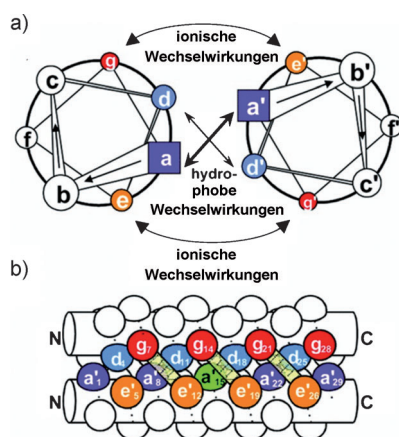


Abbildung 13. Eine parallele dimere Doppelwendel. a) Aufsicht: Anordnung der Heptaden. b) Seitenansicht: Die Helixrückgrate sind als Zylinder dargestellt, die Seitenketten als Noppen. Während Reste an den Positionen a und d die hydrophobe Grenzfläche bilden, dichten die Reste an den Positionen e und g gegen den hydrophoben Kern ab. Sie können an interhelikalen elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen dem Rest i (Position g) einer Helix und dem Rest i'+5 der anderen Helix (Position e') teilnehmen, dargestellt durch die schraffierten Balken. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [263]. Copyright 2000 Elsevier.

5.2.2. Hierarchische α -Helix-basierte Materialien

Petka et al. waren unter den ersten, die das „Leucin-Zipper-Coiled-Coil“-Motiv zur kontrollierten Synthese funktioneller biomimetischer Materialien nutzten.^[276] Mit rekombinanten Techniken synthetisierten sie ein Triblock-Proteinpolymer, das aus einem hydrophoben „Coiled-Coil-Zipper“-Modul besteht, flankiert von hydrophilen „Random-Coil“-Polyelektrolyt-Domänen, was eine unabhängige Gestaltung von kettenübergreifenden und Solvens-Wechselwirkungsparametern ermöglicht. Die Dreierblöcke wurden dann durch Oxidation der terminalen Cysteinreste polymerisiert. Der Großteil der e- und g-Positionen der helikalen Heptaden wurde mit Glutaminsäure versehen, um die Doppelwendel-Struktur in basischer Lösung zu destabilisieren und eine pH-gesteuerte Gelbildung zu erleichtern.

Die Bildung einer höher geordneten Faser aus maßgeschneiderten „Coiled-Coil“-Peptiden beobachteten Kojima et al.^[277] Anfangs wollte man einfache „Coiled-Coil“-Faserbündel herstellen, stellte dann aber fest, dass sich das α 3-Peptid in Fasern aus kleinen Fibrillen anordnet, die sich bei Erhöhung der Salzkonzentration entlang der langen Achse der Faser orientieren. Während man hydrophobe Effekte als Haupttriebkraft für die höhere Organisation vermutete, schlossen die Autoren, dass die durch Ladungsabschirmung verminderte elektrostatische Abstoßung zwischen den Filamenten ebenfalls eine Rolle spielen muss.

Dieser frühen Arbeit folgend, haben sich einige Arbeitsgruppen mit dem De-novo-Design höher geordneter Fibrillen beschäftigt, die sich aus kurzen α -helikalen „Coiled-Coil“-Peptiden zusammensetzen. Potekhin et al. entwickelten das α -Fibrillen bildende Peptid (α FFP)^[278] mit dem Argument, dass die Wiederholung vieler identischer Heptaden die Anordnung zu verlängerten Faserbündeln über eine axial ver-

setzte Assoziation erleichtern könnten. Um die Dicke der Fibrillen zu steigern, wurde Alanin an Position e platziert, wo hydrophobe Reste die Bildung vier- und fünfsträngiger Doppelwendeln bekanntermaßen fördern. Glutaminsäure und Arginin wurden in den Positionen f und g eingebaut, um Salzbrücken zwischen f und g' verschiedener Helices zu fördern und damit wiederum die Organisation zugunsten dickerer, fünfsträngiger Doppelwendeln zu beeinflussen. Schließlich wurden Glutaminreste an die Positionen b und c gesetzt, um ein Netzwerk aus interhelikalen Wasserstoffbrücken zu bilden. Wie Röntgenbeugungsstudien bestätigten, ergab dieses neuartige Peptid gleichförmige lösliche Fibrillen mit Durchmessern von 2.5–3 nm, die mit dem fünfsträngigen Doppelwendel-Aufbau übereinstimmen, der von axial orientierten α -Helices gebildet wird. STEM-Studien zur Bestimmung der Masse pro Längeneinheit der Fibrillen zeigten, dass die Querschnitte zehn α -Helices enthielten, was vermuten lässt, dass die letztlich gebildeten Fibrillen eigentlich Dimere zweier fünfsträngiger Protofilamente sind, eine Struktur, die zwischen den Bündeln die Bildung eines ausgedehnten Wasserstoffbrückennetzes zwischen den Glutaminen auf den Positionen b und c ermöglichen würde.^[279] Die Autoren merken an, dass eine Fibrillogenese bei im neutralen pH-Bereich geplant war, diese aber erst unterhalb von pH 6 stattfand, was auf eine Überbewertung der f-g'-Salzbrücke hindeutet. Nach Substitution der Glutaminsäure durch Serin wurde eine umfassende geordnete Fibrillogenese im neutralen Bereich beobachtet.^[280] Conticello et al. arbeiteten dieses Modell weiter aus^[281] und bauten durch Austausch dreier Isoleucinreste durch Histidin einen reversiblen pH-empfindlichen Auslöser der Selbstorganisation innerhalb des hydrophoben Kerns ein.^[282] Diese Konfiguration ermöglichte auch eine selektive ioneninduzierte Fibrillenassoziation.^[283,284]

Anstatt sich auf die zufällige Stapelung von Homooligomeren zu verlassen, konstruierten Woolfson et al. ein gestapeltes Heterodimer, das eine Doppelwendel-Struktur bildet und dabei Überhänge („sticky ends“) aufweist, um die Barriere zu weiterer „Coiled-Coil“-Assoziation beim Vorliegen glatter Enden („blunt ends“) zu überwinden (Abbildung 14).^[285] Diese selbstassoziiierenden Faserpeptide, SAF-p1 und SAF-p2, basieren auf einer natürlichen 42-mer-Sequenz aus sechs Heptaden mit „Coiled-Coil“-Sequenz. SAF-p1 wurde an einem Ende um zwei Heptaden gekürzt, SAF-p2 um zwei Heptaden am anderen Ende, sodass die hydrophobe „Coiled-Coil“-Funktionalität im Zentrum der beiden Peptide erhalten blieb. Die Autoren stellten fest, dass Gemische dieser beiden nicht nur zu den gewünschten longitudinal angeordneten Fibrillen aus axial orientierten α -Helices führte, sondern auch zu beträchtlicher lateraler Anordnung in größere Fasern, die durch kovalente Thioester-Ligation fixiert werden konnten.^[286] Eine mögliche Erklärung für die höhere Organisation ist, dass sich bei Streckung der Fibrillen einzelne schwache Anziehungskräfte zu starken kooperativen interfibrillären Wechselwirkungen verbinden können (Aviditätseffekt). In der Tat lassen Computerstudien vermuten, dass die versetzte Anordnung paralleler Coiled-Coil-Dimere mit Überhängen alternierende Ladungsstellen ergeben würde, die zu einer weiteren Assoziation führen könnten.^[285] In der zweiten Generation der SAF-Peptide wurde daher gezielt

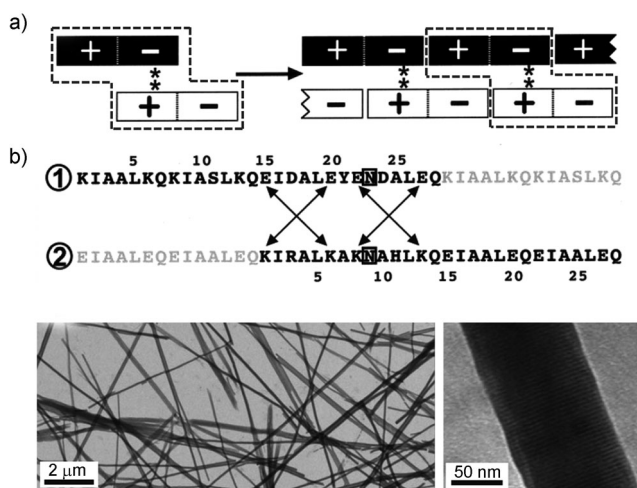


Abbildung 14. Aufbau und Sequenzen der selbstassemblierenden Faserpeptide (SAF). a) Konzept für einen Überhang-Anordnungsprozess mit den entwickelten Aminosäuresequenzen. Komplementärladungen in Begleitpeptiden lenken die Bildung versetzter paralleler Heterodimere; die resultierenden Überhänge („sticky ends“) sind ebenso komplementär und fördern die longitudinale Assoziation in verlängerte Fasern. b) Resultierende periodisch gestreifte Fibrillen. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [285], Copyright 2000 American Chemical Society, und Lit. [287].

komplementär geladene Reste eingebaut, die sich um die Außenseite der beiden „Coiled-Coil“-Peptide winden, um Stabilität und Dicke der Fibrillen zu steigern, was zu gleichförmigen gestreiften Fibrillen, ähnlich Intermediärfilamenten, führte.^[287,288] Die Arbeitsgruppe verwendete auch gebogene,^[289] verzweigte^[290] und hochverzweigte^[291] Monomere mit Überhängen, um zwei- und dreidimensionale Faserstrukturen zu erzeugen.

Eine Schwierigkeit bei der Schaffung höher geordneter Komponenten aus de novo synthetisierten „Coiled-Coil“-Strukturen ist, dass diese synthetischen Sequenzen meist signifikant kürzer sind als natürliche α -helikale fibrillen- oder faserbildende Peptide und somit von Natur aus schwächere Wechselwirkungen zeigen. Eine Strategie zur Überwindung dieses Problem stützt sich auf die kovalente Verbindung zweier Doppelwendel-bildender Motive. Wagner et al. verknüpften zwei GCN4-Diheptaden mit einem Dialanin-Zwischenstück und erhielten so orientierte α -helikale Fasern hoher Masse.^[292] Lazar et al. bauten natürliche β -Schleifeneinheiten zwischen den Diheptaden ein, was die intramolekulare Doppelwendel-Bildung und weitere Assoziation zu „ α -Kreuz“-Fibrillen zur Folge hatte, deren Helices senkrecht, nicht parallel, zur Fibrillenachse stehen.^[293] Die Autoren stellten fest, dass nur Prolin-enthaltende Schleifensequenzen eine fibrilleninduzierte „Coiled-Coil“-Bildung ergaben, nicht aber flexiblere natürliche Schleifeneinheiten oder ein PEG-Abstandhalter.

Dong et al. bauten Glutaminsäurereste ein, um doppelte e-g'-Wasserstoffbrücken zu erhalten und durch Stabilisierung der kurzen Diheptaden-„Coiled-Coils“ die minimale Sequenzlänge zu ermitteln, die zur Bildung fibrillärer Doppelwendeln notwendig ist.^[294] Anfangs wurden instabile Fibrillen

gebildet, die sich mit der Zeit in Amyloid-ähnliche β -Kreuz-Strukturen umwandelten. Daher wurde eine zusätzliche Heptade eingeführt, um stabile Fasern zu bilden. Dieselbe Arbeitsgruppe wies nach, dass die lange, durch Überhänge oder kovalent verbundene „Coil-Coil“-Struktur keine Voraussetzung für die Bildung von Fibrillen ist, da die Substitution von Lysin- oder Tyrosinresten an den äußeren Positionen **b** und **f** ausreichte, um stabile Fasern aus homo-oligomeren Triheptaden zu erhalten.^[295] Allerdings wurden keine Röntgenstrukturdaten veröffentlicht, die eine β -Kreuz-Struktur ausschlossen. Pagel et al. entwickelten eine Tetraheptade, die zwischen beiden Fibrillenmotiven (β -Faltblatt/ α -Helix) wechseln konnte, was die systematische Erforschung der Faktoren ermöglichte, die die endgültige Sekundär- und Tertiärstruktur beeinflussen.^[296]

Auch nach beachtlichen Fortschritten sowohl beim Verständnis als auch bei der Anwendung α -helikaler biomimetischer hierarchischer Materialien mit Doppelwendel-Struktur sind noch viele Hindernisse zu überwinden, bevor hochleistungsfähige Strukturmaterialien unter Verwendung dieser Bausteine verwirklicht werden können. Zu den interessanten Entwicklungen gehören nichtheptamere Wiederholungseinheiten (z. B. Hendecaden mit 11 Aminosäuren),^[297,298] lichtgesteuerte „Coil-Coil“-Dimerisierung^[299] und eine belastungsbedingte α - β -Umwandlung.^[300] Eine große Herausforderung auf dem Gebiet nicht biotechnologisch synthetisierter Systeme ist die geringe Stabilität von Doppelwendeln aus Sequenzen mit nur wenigen heptameren Wiederholungseinheiten. Ein bisher unerforschter Ansatz zur „Helixstapelung“ über kovalente Wechselwirkungen^[301,302] oder Chelatisierung^[303] könnte die Faltung kürzerer Peptide stabilisieren und die Zahl möglicher Angriffspunkte für Wechselwirkungen an der Außenseite der Doppelwendel-Strukturen steigern.

6. PPII-Helix-basierte Fasern

6.1. PPII-Helix-basierte hierarchische Fasern

Kollagen ist der wesentliche Grundbaustein des Bewegungsapparats.^[304] Es ist die Basis von Sehnen, sorgt für die Mineralisierung des Knochengewebes und ist die mechanische Schlüsselkomponente der extrazellulären Matrix.^[241] Die mechanischen Eigenschaften von Kollagen werden durch ausgezeichnete Resilienz bei geringen Dehnungen und ungewöhnlicher Zähigkeit bei starken Deformationen charakterisiert.

Die molekulare Kernstruktur (Abbildung 15) des Kollagens ist die X-Y-G-Wiederholungseinheit (üblicherweise Prolin-(Hydroxy)Prolin-Glycin), die eine linksgängige Polyprolin-Typ-II(PPII)-Helix-Konformation bildet. Drei solche Helices lagern sich zu einem rechtsgängig helikalen AAB- oder ABC-Tropokollagen(TC)-Heterotrimer zusammen.^[305–310] Derzeit erklärt man sich die im Vergleich mit anderen Kombinationen unerwartet hohe Stabilität der AAB-Dreifachhelix durch umfangreiche intermolekulare Wasser-vermittelte Wasserstoffbrücken^[311–314] der *trans/exo*-OH-Gruppen der Hydroxyprolinreste, der Mechanismus ist aber noch nicht vollständig verstanden. Außerdem wurden

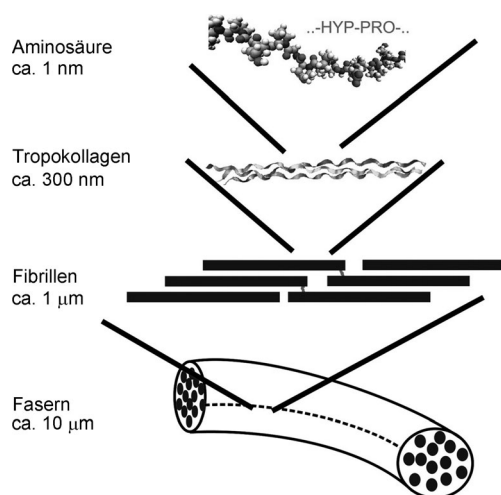


Abbildung 15. Der modulare hierarchische Aufbau von Kollagen von der nanoskaligen PPII-Struktur bis hin zur Kollagenfasern im Mikrometerraum. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [333]. Copyright 2008 National Academy of Sciences.

auch die elektronenziehenden und sterischen Effekte dieser Hydroxygruppen mit einbezogen,^[315–317] und es wurde ein Modell vorgeschlagen, das die Bedeutung kinetischer Effekte betont.^[318]

Anders als die α -helikalen „Coiled-Coil“-Protofibrillen von Keratin und Vimentin ordnet sich die PPII-Dreifachhelix zu einer gestreckten, kompakten stabförmigen Einheit mit einem dichteren Netzwerk interhelikaler Wasserstoffbrücken an. (Eine sogenannte Rich-Crick-Wasserstoffbrücke verbindet Glycin einer PPII-Helix über N \cdots H mit der C=O-Gruppe eines Prolins (X) auf einer benachbarten Kette.) Die resultierende protofibrilläre Vorstufe ist demzufolge eher für Elastizität im Nahbereich, Festigkeit und Zähigkeit geschaffen, weniger für sich wiederherstellende Dehnbarkeit. Der Mangel an voluminösen Seitenketten bei Glycerinresten schafft Raum, sodass die Bildung der eng gepackten Dreifachhelix möglich wird; schon der Austausch eines einzigen Glycins gegen Alanin in der zentralen Region des Peptids verringert die Stabilität der Dreifachhelix erheblich.^[319] Diese TC-Module organisieren sich selbst über strukturelle elektrostatische^[320] und entropische Signale,^[321–323] beginnend mit einer parallelen, axial ausgerichteten, gestaffelten Spirale aus fünf TC-Einheiten pro vollständiger Helixwindung und verlängert mit einer ausgeprägten „spitz zulaufenden“ Morphologie, ergibt sich letztlich eine mikrometergroße verlängerte Fibrille^[324–326] mit einer charakteristischen Mikrostreifen-Struktur. Bei diesem Vorgang werden permanente ionische^[25,327,328] und/oder kovalente^[329] Bindungen zwischen den TC-Untereinheiten geknüpft. Schließlich werden einige dieser Fibrillen in einer Glycol-Protein-Matrix verkapselt, um die lasttragenden Fasern zu bilden.

Die Kombination aus extremer Festigkeit und beträchtlicher Dehnbarkeit, die Kollagen-basierte Materialien charakterisiert, kann auf die semikristalline, aber noch etwas flüssige^[330] Beschaffenheit der Kollagenfibrille zurückgeführt werden.^[331] Drei Deformationsmechanismen, ermöglicht durch die hierarchische Nanostruktur der Kollagenfasern –

1) intermolekulare Scherung, wenn gleichförmige viskose Verschiebung der relativen Fibrillenpositionen zu einer Abweichung von der linearen elastischen Reaktion führt, 2) permanente plastische Verformung über Gleitimpuls-Übertragung und 3) der Bruch einzelner TC-Moleküle – bedingen die extreme Zähigkeit und Fehlertoleranz zum Beispiel bei Leder und dem Byssusfaden einiger Muscheln.^[332,333]

6.2. PPII-Helix-basierte Mimetika

6.2.1. PPII-Helix-Modellsysteme

Die Wiederholungssequenz der Tropokollagen-Protohelices ist gut erforscht, weshalb einfache Mimetika wie (Pro-Pro-Gly)_n und (Pro-Hyp-Gly)_n bereits zugänglich sind. Ein Großteil der Forschung an diesen Kollagen-imitierenden Peptiden hat sich auf die Strukturaufklärung der AAA-Homotrimere konzentriert, mit dem Ziel, den Stabilisierungsmechanismus der Dreifachhelix und somit die strukturelle Basis Kollagen-bezogener Krankheitsbilder zu verstehen.^[334–349]

Ein gut erforschter Ansatz zur Stabilisierung der Dreifachhelix ist, die Peptidvorstufen an ein kovalentes Gerüst zu heften, das die Kettendynamik begrenzt.^[350] So wird das Monomer-Oligomer-Gleichgewicht durch Entfernen der grundsätzlichen entropischen Barriere zur Trimerisierung in die gewünschte Richtung gedrängt. Daher können in diesen Modellsystemen kürzere, synthetisch leichter zugängliche Peptide verwendet werden. Zu den ersten Beispielen für Gerüste gehören von Amino-hexansäure abgeleitete Lysindimere^[351–354] und 1,2,3-Propantricarbonsäure.^[355] Goodman et al. erweiterten das Instrumentarium der templatunterstützten Dreifachhelix-Induzierung um vielseitiger verwendbare Gerüste wie *cis*-1,3,5-Trimethylcyclohexan-1,3,5-tricarbonsäure-Gly-OH (KTA),^[356–358] Tris-(2-Aminoethyl)amin-(suc-OH)₃ (TREN)^[359] und β -Ala-TRIS,^[360,361] letzteres abgeleitet von dem Tris(carboxyethylhydroxymethyl)amino-methan-Monomer von Newkome und Lin (Abbildung 16).^[362] Sie nutzten diese Template, um den Peptideinbau in Kollagen-Mimetika zu erforschen, wobei sie beobachteten, dass *N*-

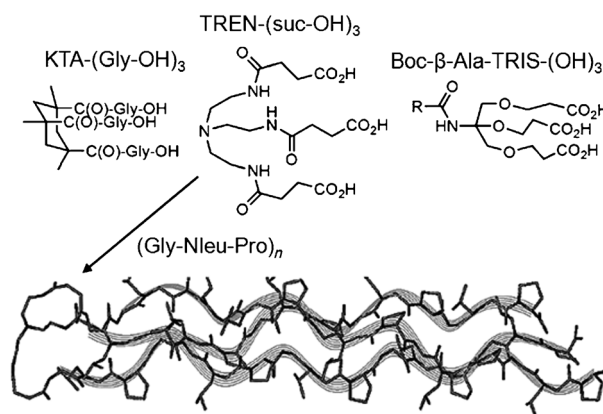


Abbildung 16. Template für Dreifachhelix-induzierende Gerüste. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [362]. Copyright 2002 American Chemical Society.

Isobutyllysine (NLeu) seinen sperrigen Rest hauptsächlich nach außen richtete und dass es die Dreifachhelixstruktur nicht störte, wenn es statt Prolin in die trimeren Wiederholungseinheiten eingebaut wurde; ein solcher Austausch könnte in Biomaterial-Anwendungen vor dem Abbau durch Proteasen schützen.^[363–366] Dieselbe Gruppe demonstrierte die Bildung einer Dreifachhelix durch Metallkomplexierung von Peptiden mit Catechinsäure-Endgruppen,^[367] wobei sie ähnlichen Studien von Koide et al. folgte, die das Bipyridin-Motiv (bpy) verwendeten.^[368]

Im Streben nach besserer Übereinstimmung mit dem natürlichen System sowie vielseitigeren Gerüsten für potenzielle weitere Anordnung haben Guaba et al. eine Reihe dekamerer Tropokollagen-Mimetika entwickelt, die einzig aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Ladungen ihrer Aminosäuren spontan in AAB- und ABC-Dreifachhelices assoziieren.^[369] In 1:1-Mischungen der Peptide (EOG)₁₀ und (PRG)₁₀ bildeten sich ausschließlich hochstabile Heterotrimeren ($T_m > 54^\circ\text{C}$), wohingegen die einzelnen Peptide wegen des Mangels an Konformationsbeschränkungen durch Prolinreste keine stabilen Dreifachhelices bilden können. Außerdem entstanden stabile ABC-Dreifachhelices aus 1:1:1-Mischungen der beiden gegensätzlich geladenen Peptide und dem gewöhnlichen neutralen Wiederholungspeptid (POG)₁₀, wahrscheinlich wegen der Gesamtladungsneutralisation. Die Autoren fanden ferner heraus, dass, im Unterschied zu anderen TC-Imitationen, auch Nicht-Prolin-Substitutionen sowohl an der X- als auch an der Y-Position der X-Y-G-Triade toleriert wurden.^[370] Die Stabilität dieser ABC-Heterotrimeren ist vergleichbar mit der von klassischen homotrimeren neutralen (POG)₁₀-Tropokollagen-Mimetika. Daher waren im Unterschied zu früheren Systemen, bei denen partielle Entfaltung^[372] und/oder der Mangel an Spezifität in Bezug auf die Zusammensetzung^[313] oder Register^[373] waren daher umfangreiche hochaufgelöste NMR-Konformationsanalysen möglich.^[371] Die Leistungsfähigkeit dieses Systems zeigte sich, als geladene Nachbarregionen eingesetzt wurden, um den Effekt von Glycinmutationen auf eine zentrale Kollagen-Typ-I-Sequenz mit wohldefinierten heterotrimeren Zusammensetzungen zu untersuchen.^[374] Kürzlich beschrieb die Arbeitsgruppe eine ähnliche selektive Anordnung zu einem hochstabilen AAB-Heterotrimer aus einem (PRG)₁₀-Peptid und zwei (EOGPOG)₅-Peptiden (Ladung jeweils –5; Abbildung 17).^[375]

6.2.2. Hierarchische PPII-Helix-basierte Materialien

Aufgrund der Biokompatibilität und exzellenten mechanischen Eigenschaften von Kollagen besteht großes Interesse daran, ausgehend von einfachen Modellen durch Assemblierung zu höher geordneten Fasern als TC-Protofilament-Mimetika zu gelangen. Ein einfacher Ansatz ist die Polymerisation von Deca-(X-Y-G)-Tripeptiden. Paramonov et al. erreichten dies durch native chemische Ligation,^[376] während Kishimoto et al. optimierte EDC-Kupplungsbedingungen anwendeten.^[377] Beide Methoden führten zu monodispersen fibrösen Formen.

Kotch et al. nutzten strategisch platzierte Cysteinreste, die eine spontane verschobene („out-of-register“) Dreifachhelix-

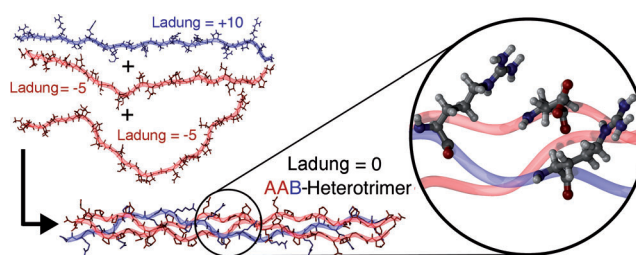


Abbildung 17. Die Kombination von Peptiden, die der anerkannten (X-Y-Gly)_n-Aminosäurewiederholeinheit in einem Verhältnis von 2:1 folgen, in der die Ladung des häufiger auftretenden Peptids $-1/2$ der des anderen entspricht, führt zur Bildung einer heterotrimeren AAB-Kollagenhelix. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [375]. Copyright 2010 American Chemical Society.

Bildung aus kurzen X-Y-G-Peptidwiederholungen bewirkten und eine weitere thermodynamische Selbstorganisation, vermittelt durch DNA-Überhänge, ermöglichen.^[378] Cejas et al. trieben die Anordnung der TC-Imitationen voran, indem sie Phenylalanin- und Pentafluorphenylalanin-Reste an den Termini einbauten, was infolge des hydrophoben Effekts zur spontanen supramolekularen Fibrillenbildung führte.^[379] Przybyla et al. bauten eine chelatisierende Bipyridylgruppe im Zentrum von TC-imitierenden Peptiden ein und erhielten dadurch seitlich verknüpfte Homodimere.^[380] Longitudinale Anordnung gelang durch den Einschluss von Trisäure- und Diimidazol-Chelatoren an beiden Enden der TC-imitierenden Module.^[381] Eine kontrollierte Anordnung zu Partikel reproduzierbarer Größe wurde durch Variation der Metallionen-Konzentration erreicht, und durch Zugabe von EDTA wurden die Partikel wieder aufgelöst. Auslöser der lateralen und longitudinalen Selbstorganisation wurden kombiniert, um fibröse Filme mit einer einstellbaren Morphologie herzustellen.^[382]

Schließlich beschrieben Rele et al. das bisher einzige Beispiel für selbstorganisierte Fibrillen eines geladenen homotrimeren TC-Mimetikums mit ähnlichen D-Perioden wie Kollagen. Dieser Erfolg wurde durch Einführung eines positiv geladenen Argininrests in die Y-Position der ersten vier Triadenwiederholungen eines synthetischen 24-mers sowie einer Glutaminsäure in der X-Position der letzten vier Triadenwiederholungen erreicht, eine einfache POG-Tetratriade flankierend, was zu der elektrostatischen Kollagen-ähnlichen Anordnung führte.^[383]

Während signifikante Fortschritte hin zu Kollagen-ähnlichen biomimetischen Materialien gemacht wurden, verbleiben wesentliche Herausforderungen vor allem auf dem Gebiet der kontrollierten Anordnung, zum Beispiel die eingeschränkte Auswahl an Sequenzen und chemischen Funktionalitäten der primären und sekundären Baueinheiten. Eine vielversprechende Perspektive ist die mögliche Nutzung von Polyharnstoffen und anderen gut untersuchten, synthetisch zugänglichen helikalen Foldameren^[384] sowie glykolysierter Hydroxyprolin-Derivate.^[385]

7. Domänen mit Tertiärstruktur

7.1. Titin-Modell modularer Polymerdomänen

Bei allen modularen Biopolymeren, die wir in den vorangegangenen Abschnitten untersucht haben, basieren die Wiederholungsmodule auf Sekundärstrukturen gefalteter Proteine, dazu gehören β -Schleife/Spirale (Elastin), β -Faltblatt (Amyloid, Seide), α -Helix (Vimentin) und die PP-II-Helix (Kollagen). In diesem Abschnitt werden wir modulare Biopolymere besprechen, deren Wiederholungsmodule aus tertiär gefalteten Proteindomänen bestehen.

Die mechanochemische Transduktion spielt eine wichtige Rolle in lebenden Systemen. Viele mechanosensitive druck- und zugempfindliche Proteine enthalten eine modulare Domänenstruktur mit Tandemanordnungen tertiär gefalteter Proteindomänen. Auf mikroskopischer Ebene können Zellen eine Bandbreite mechanischer Kräfte spüren und in einen bestimmten Satz an biochemischen Signalen transduzieren, die letztlich zelluläre Prozesse, einschließlich Adhäsion, Proliferation, Differenzierung und Apoptose regeln.^[241, 386, 387] Auf makroskopischer Ebene ermöglicht die mechanochemische Transduktion eine breite Vielfalt an physiologischen Prozessen, inklusive Tastsinn und Gehör sowie Gleichgewicht und Muskelkontraktion.^[388–390]

Um die ständig wechselnden externen Reizen verarbeiten zu können, hat die Natur eine breite Auswahl an polymeren Materialien mit eingebetteten mechanosensitiven Motiven entwickelt, die dynamisch auf Stress reagieren. Beispielsweise koppelt Fibronectin, ein für Mechanotransduktion wichtiges Protein der extrazellulären Matrix (ECM), die ECM einer

Zelle über Integrine an das Cytoskelett. Studien haben gezeigt, dass mechanische Kräfte die Fibronectinmodule teilweise entfalten können, um Konformationsänderungen an Zellerkennungsstellen einzuleiten, verborgene Bindungsstellen zu präsentieren und den Abstand zwischen synergistischen Bindungsstellen zu reduzieren.^[386, 391] Deshalb kann eine mechanische Belastung der ECM die Bindung verschiedener Integrine regulieren, was wiederum nachgeordnete intrazelluläre Signalkaskaden auslöst.

Ein großartiges Beispiel für modulare Domänengestaltung wird im Skelettmuskelprotein Titin demonstriert (Abbildung 18). Dieses gigantische Protein (3000 kDa, 1 mm lang) des Muskelsarkomers besteht aus 300 Modulen in zwei Motivtypen, Immunglobulin(Ig)- und Fibronectin-Typ-III-Domänen.^[392, 393] Während Aktin und Myosin als Motorproteine für die Muskelkontraktion zuständig sind, trägt Titin zur mechanischen Festigkeit, Zähigkeit und Elastizität des Muskels bei.^[394–396] Studien einzelner Moleküle haben gezeigt, dass Titin eine bemerkenswerte Kombination aus hoher mechanischer Festigkeit, Bruchfestigkeit und Elastizität aufweist.^[119, 397–401] Weitere Studien haben ergeben, dass diese besondere Kombination auf der einzigartigen modularen Domänenstruktur von Titin beruht.^[402–407] Sequenzielles Entfalten der Domänen resultiert in einer Kraft-Dehnungskurve mit Sägezahnmuster, was die molekulare Basis für die kombinierte hohe Festigkeit, Bruchfestigkeit und Elastizität dieser Materialien bildet. Viele Zelladhäsionsproteine^[408] wie Fibronectine oder Cadherine teilen die Tandem-Domänenstruktur von Titin.

Die mechanistische Erklärung für die außergewöhnliche Kombination mechanischer Eigenschaften modularer Bio-

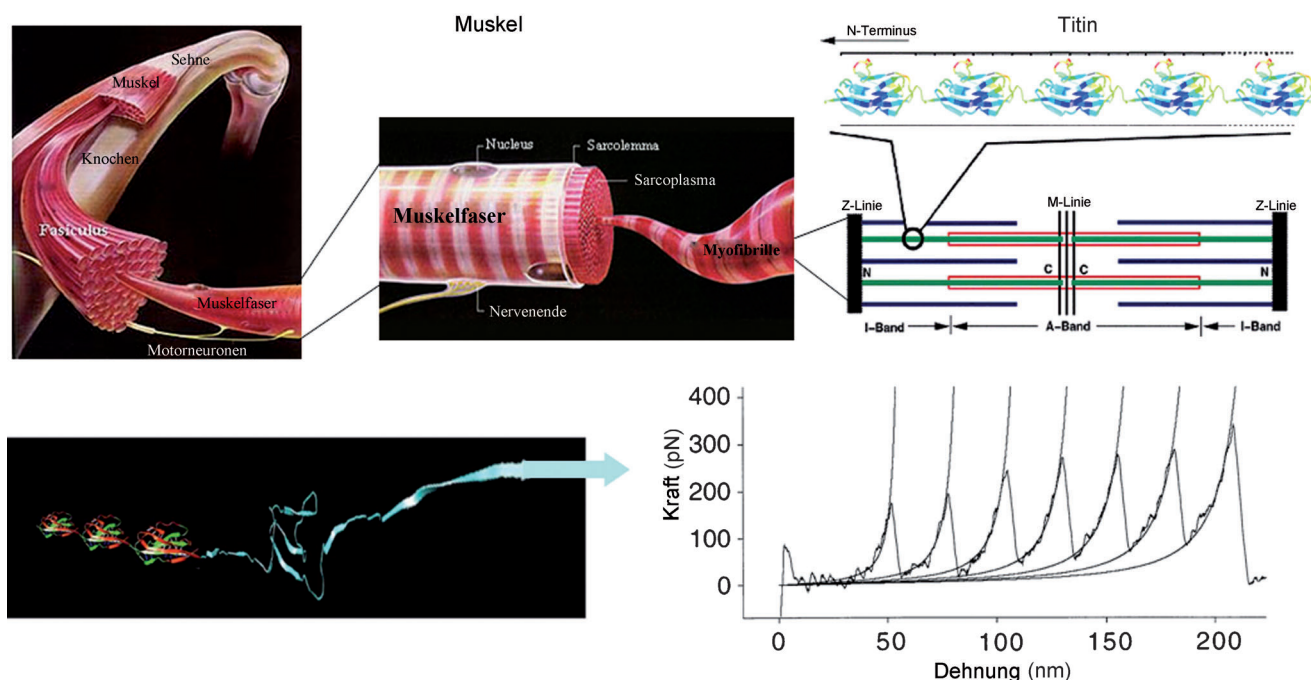


Abbildung 18. Titin ist ein 3000-kDa-Protein mit wiederholten gefalteten Domänen, das die wesentliche „Federsystem“-Funktionalität für die hierarchisch assoziierte Muskelmasse einbringt. Das charakteristische „Sägezahn“-förmige Zugprofil bewirkt die außergewöhnliche Festigkeit, Zähigkeit und Elastizität der Säugetiermuskeln. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [400]. Copyright 1997 American Academy for the Advancement of Science.

polymere kann anhand der unterschiedlichen Zugeigenschaften 1) einer kurzen Kette oder einem starren Stab, 2) einer langen Kette mit mehreren Domänen und 3) einem Zufallsknäuel-Polymer („random coil“) veranschaulichen.^[406] Für die kurze Kette und den starren Stab steigt die Kraft rasch bei relativ geringer Dehnung, sodass nur wenig Energie benötigt wird, um die Kette zu brechen. Dagegen kann ein langkettiges „Random-Coil“-Polymer stärker gedehnt werden; jedoch ist das Material nahe der maximalen Dehnung relativ weich. Bei einem langen Polymer, das aus einer Tandemanordnung von Modulen besteht, die über viele schwache Kräfte gefaltet sind, wie die Struktur von Titin,^[377–382] steigt die Kraft mit der Dehnung schnell an wie bei der kurzen Kette. Sobald die Kraft aber einen bestimmten Wert erreicht, entfalten sich die gefalteten Tandemmodule nacheinander, wobei verborgene Länge enthüllt und Energie umgewandelt wird, aber die kovalenten Bindungen der Kette erhalten bleiben. Das Ergebnis sind eine große Kraft während des gesamten Dehnungsprozesses, die das Polymer stark macht, sowie eine große Fläche unter der Kraft-Dehnungs-Kurve, die es auch zäh macht.^[406]

Als charakteristisches Beispiel modularer mechanosensitiver Tandemproteine demonstriert Titin eine faszinierende Strategie, bei der durch ein modulares Domänen-Design eine hohe Zugfestigkeit, Zähigkeit und Elastizität erreicht werden. Durch wiederholten Bruch der reversiblen sekundären Wechselwirkungen im Inneren jeder Domäne können die Polymere sehr viel Energie absorbieren, ohne dass kovalente Bindungen gespalten werden. Diese Tandemdomänengestaltung scheint ein allgemeiner natürlicher Mechanismus zu sein, um mechanische Eigenschaften zu kombinieren, und wurde in zahlreichen anderen biologischen Makromolekülen mit mechanischen Funktionen beobachtet.^[409] Neben Titin wurden mehrere andere Proteine mit Tandemdomänen-Struktur mit SMFS untersucht.^[394, 410–420]

7.2. Titin-Mimetika

7.2.1. Biosynthetische Titin-Mimetika

Li et al. entwickelten Titin-Mimetika, wobei sie anstelle der I27-Domänen des Titins Protein-Wiederholungseinheiten ohne bekannte mechanische Aufgaben in biologischen Systemen verwendeten.^[421] Sie stellten fest, dass Polyproteine mit einem GB1- β - α - β -Motiv (GB1 ist die B1-Immunglobulin-Bindedomäne im Streptokokken-Protein G) eine fast ideale Kombination mechanischer Eigenschaften auf der molekularer Ebene aufweisen, z.B. schnelle Faltungsprozesse, geringe mechanische Ermüdung und die Fähigkeit, sich unter verbleibender Belastung wieder zu falten.^[422] Sie untersuchten weiterhin die Abstimmbarkeit des Systems und verbesserten (im Unterschied zu der einfachen thermodynamischen Stabilisierung des Proteins) erfolgreich die mechanische Stabilität der GB1-Domäne durch den Einbau von Ionenbindenden Bereichen.^[423] Nach Anbringen eines „Leucin-Zipper“-artigen Konstrukts an jeder Seite des synthetischen Proteins mit modularen Domänen bildeten sich spontan Hydrogele.^[424] Kürzlich entwickelte diese Arbeitsgruppe künstliche elastische Proteine, die den molekularen Aufbau

von Titin durch Kombination von GB1 und Resilin nachahmen.^[425]

Guzman et al. berichteten vor kurzem über ein Titin-imitierendes Multidomänen-Polypeptid mit großer mechanischer Festigkeit.^[426] Durch bioinformatisches Screening, Moleküldynamik-Simulationen (SMD), Protein-Engineering und SMFS wurde ein Makrodomänen-Protein mit gemischter $\alpha + \beta$ -Topologie und außergewöhnlicher mechanischer Stabilität entdeckt. Die einzigartige Architektur dieses Proteins wird durch ein einzelnes siebensträngiges β -Faltblatt im Proteinkern bestimmt, das von fünf α -Helices flankiert wird. Im Unterschied zu anderen mechanisch stabilen Proteinen bietet die Makrodomäne den eindeutigen Vorteil, dass die wichtigen, lasttragenden Wasserstoffbrücken vor Wasser geschützt im hydrophoben Kern verborgen sind. Diese Besonderheit ermöglicht die direkte Messung der Kraft, die benötigt wird, um die lasttragenden Wasserstoffbrücken unter lokal hydrophoben Bedingungen zu brechen. SMD-Simulationen mit konstanten Geschwindigkeiten und Kräften sagten eine extrem hohe mechanische Stabilität der Makrodomäne voraus. SMFS-Experimente bestätigten die bemerkenswerte mechanische Festigkeit der Makrodomäne mit einer gemessenen Bruchkraft von 570 pN (Abbildung 19), die doppelt so hoch ist wie die Bruchkraft der I27-Domäne in Titin unter vergleichbarem Zug. Weiterhin untersuchten die Autoren durch selektive Deletion schützender Peptidsegmente dieselben Wasserstoffbrücken in hydrophilen Umgebungen, in denen die β -Stränge dem Lösungsmittel ausgesetzt waren, und bewiesen, dass die hohe mechanische Stabilität der Makrodomäne aus der Abschirmung der lasttragenden Wasserstoffbrücken vor konkurrierenden Wassermolekülen resultiert. Diese Studie zeigt, dass der Schutz der lasttragenden Stränge vor Wasser ein bestimmender Faktor für die Verbesserung der mechanischen Stabilität von Proteinen auf molekularer Ebene ist. Sie demonstriert außerdem, dass es möglich ist, Proteine zu identifizieren und zu konstruieren, die in der Natur keine mechanische Funktion erfüllen, aber

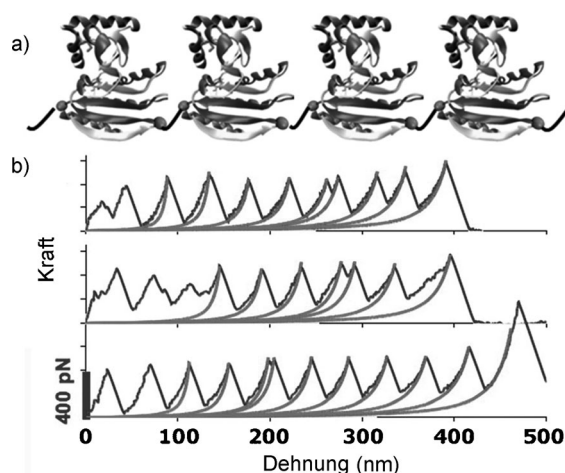


Abbildung 19. a) Schematische Darstellung des Afl521₁₁₋₁₇₇-Polyproteins. b) Charakteristische Kraftkurven bei 1000 nm s⁻¹ mit WLC-Form zeigen mehrere Entfaltungspfade auf. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [426]. Copyright 2010 National Academy of Sciences.

dennoch die mechanische Stabilität natürlicher Proteine übertreffen.

7.2.2. Chemisch synthetisierte Titin-Mimetika

Mit Titin als Modellsystem haben Guan et al. eine Reihe biomimetischer Polymere mit reversibel entfaltbaren Modulen entwickelt, um die drei grundlegenden mechanischen Eigenschaften – Zugfestigkeit, Bruchwiderstand und Elastizität – in einer Struktur zu vereinen.^[427] Zudem versucht diese Arbeitsgruppe, durch Nachahmung natürlicher Systeme dynamische Eigenschaften und Anpassungsfähigkeiten in synthetische Polymermaterialien einzuführen.^[168, 428, 429]

Die Gestaltung der synthetischen Module beruht auf der gründlichen Untersuchung der mechanischen Stabilität von Titin und des zugehörigen Mechanismus. Die Ig-Domäne von Titin liegt als doppelte β -Faltblatt-Struktur vor. Molecular-Modeling- und Einzelmolekülstudien zufolge enthält die lasttragende Region sechs Wasserstoffbrücken zwischen den β -Strängen A' und G, die für die mechanische Stabilität des Proteins wichtig sind.^[399, 408] Die mechanische Entfaltung ist ein zweistufiger „An/Aus“-Prozess: Sobald die lasttragenden Wasserstoffbrücken unterbrochen sind, entfaltet sich der verbleibende Teil des Proteins rasch. Vereinfacht kann man sich den Aufbau des Proteins als eine „Schleife“ mit einem „Reißverschluss“ vorstellen. Der Reißverschluss trägt die Last, und die Schleife entfaltet sich schnell, wenn der Reißverschluss geöffnet ist.

Aufgrund dieser Analyse konstruierten Guan et al. als erste ein modulares Polymer mit Schleifen, die über starke Wasserstoffbrücken gefaltet sind. Sie bauten ein starkes vierfaches Wasserstoffbrückenmotiv, 2-Ureido-4-pyrimidon (UPy), ein, um die Bildung von Schleifen entlang der Polymerkette zu lenken. Anfangs von Meijer und Mitarbeitern entwickelt,^[430] wurde UPy wegen seiner hohen Homodimerisierungskonstante zu einem beliebten supramolekularen Motiv für verschiedene Materialanwendungen.^[431–434] Aufgrund der hohen Dimerisierungskonstante beträgt die Freie Energie, die benötigt wird, um das UPy-Dimer zu spalten, mehr als 11 kcal mol^{-1} , was vergleichbar ist mit der Energie der Proteinentfaltung und geringer als die Energien typischer kovalenter Bindungen und somit den biomimetischen Ansprüchen genügt. Ein UPy enthaltendes Diol wurde als Monomer in ein lineares Polyurethan eingebaut. Durch die Homodimerisierung von UPy-Einheiten wurden in jeder Polymerkette viele gefaltete Schleifen gebildet (Abbildung 20).^[428] Auf molekularer Ebene zeigt SMFS das charakteristische Sägezahnmuster, ähnlich denen von Polydomänen-Proteinen. Auf makroskopischer Ebene de-

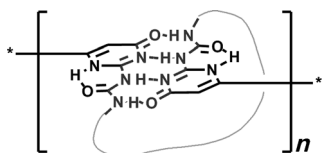


Abbildung 20. Modulares Polymer mit UPy-Domänen in der Hauptkette. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [428]. Copyright 2004 American Chemical Society.

monstriert das modulare UPy-Polymer eine Kombination aus hoher Festigkeit, Zähigkeit und Elastizität. Die makroskopischen mechanischen Daten korrelieren gut mit den Kraft-Verlängerungs-Beobachtungen an einzelnen Ketten, was das biomimetische Konzept bestätigt: Durch die Einführung von Strukturmodulen, die lediglich von schwachen Bindungen zusammengehalten werden, lassen sich die drei grundlegenden mechanischen Eigenschaften, hohe Zugfestigkeit, Zähigkeit und Elastizität in einer Polymerkette vereinen.

Um strukturelle Heterogenität und die Vernetzung von Ketten zu überwinden, wurde in einem biomimetischen modularen Design der zweiten Generation ein peptidomimetisches doppelt geschlossenes Schleifenmodul (DCL) synthetisiert.^[435] Das Modul in diesem System besteht aus einem β -Faltblatt-Duplex, der an beiden Enden mit Kohlenwasserstoff-Schleifen verbunden ist. Bei der Dehnung eines Moduls zerreißen die Wasserstoffbrücken innerhalb des Duplex, und die Schleifen werden auseinandergezogen. Nach Entlastung sollten die doppelt geschlossenen Schleifen sicherstellen, dass die Stränge sich zu ihren ursprünglichen Paaren verbinden (Abbildung 21 a). Das DCL-Modul wurde über eine vielstufige organische Synthese hergestellt und das modulare Polymer durch Polymerisation des DCL-Monomers mit 4,4'-Methylenbis(phenylisocyanat) gebildet (Abbildung 21 d).

Die modularen Polymere wurden, Literaturprotokollen folgend,^[439, 440] SMFS-Studien mit AFM unterzogen. Die Kraft-Verlängerungs-Kurven zeigten ähnliche Sägezahn-Muster wie entsprechende Kurven für natürliche und synthetische modulare Polymere (Abbildung 21 c). Die Muster in den Kraft-Verlängerungs-Kurven glichen in ihrer Form mehr denen des modularen DCL-Polymers als denen des ursprünglichen modularen Designs, was seiner gleichförmigeren Struktur zugeschrieben wird. Die Kette löst sich normalerweise nach einer Dehnung von 60–120 nm von der Oberfläche. Wahrscheinlich wird zur Entfaltung jedes Moduls eine Kraft von ungefähr 50 pN benötigt. Dieser Wert ist geringer als der unserer modularen UPy-Polymere, die eine Entfaltungskraft von etwa 100–200 pN aufwiesen. Dies stimmt mit der Bindungsstärke der beiden Module überein: Die Dimerisierungskonstanten K_{dim} für UPy und die peptidomimetischen β -Faltblatt-Einheiten betragen in Chloroform um 10^7 bzw. 10^4 .^[432, 438] Die Dehnungskurven passen in das klassische Modell einer wurmförmigen Kette für die einzelne Polymerketten (Abbildung 21 c).

Um weitere Erkenntnisse über den Einfluss der modularen Struktur auf die mechanischen Polymereigenschaften zu gewinnen, führten Guzman et al. nanomechanische Untersuchungen an einer homologen Reihe von β -Faltblatt-Mimetika durch. Drei β -Faltblatt-imitierende Module mit 4, 6 oder 8 komplementären Wasserstoffbrücken wurden für eine SMFS-Studie sowie SMD-Simulation verwendet, um die Beziehung zwischen molekularer Entfaltungskraft und chemischer Struktur zu verstehen.^[439] Die SMFS-Studie zeigte ein nichtlineares Verhältnis zwischen der Bruchkraft und der Zahl an Wasserstoffbrücken. SMD-Simulationen haben ergeben, dass die konformative Flexibilität in zu langen Strängen Fehler bei der Dimerisierung verursachen kann, was die im SMFS beobachteten Entfaltungskräfte verringert.

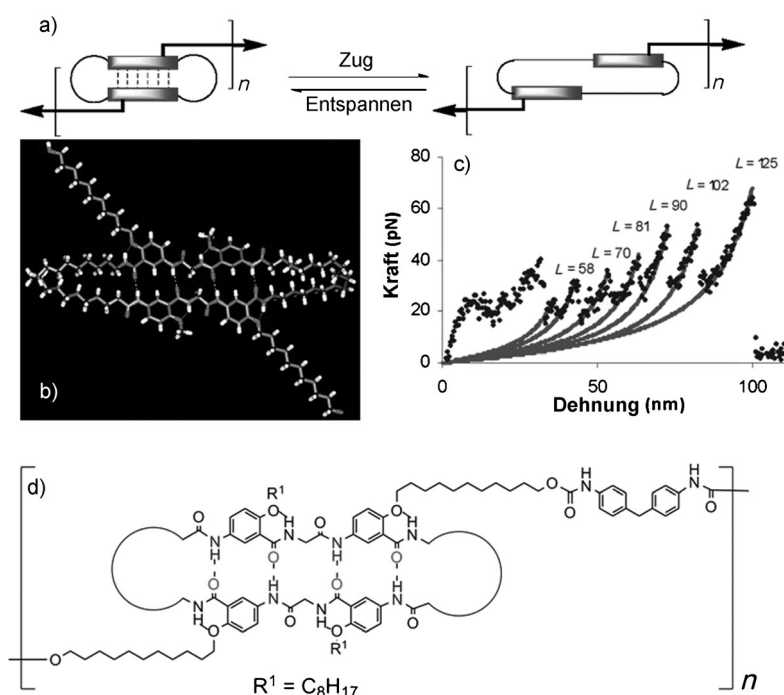


Abbildung 21. a) Skizzierte Darstellung des doppelt geschlossenen Schleifenmoduls (double-closed loop, DCL) in einem Polymer. b) Molekülmodell eines in dieser Studie verwendeten DCL-Moduls. c) AFM-Kraft-Dehnungskurve für ein einzelnes Polymer mit diesen DCL-Modulen. Die durchgezogene Linie beschreibt das WLC-Modell, eingepasst mit einer Persistenzlänge von 0.55 nm, L ist die Konturlänge während der Dehnung. d) Die chemische Struktur des DCL-Polymers. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [435]. Copyright 2004 American Chemical Society.

In der dritten Generation des modularen Designs nutzten Kushner et al. cyclische UPy-Module, um die Synthese zu vereinfachen und die mechanische Festigkeit zu verbessern (Abbildung 22).^[440] Das auf dem DCL des UPy-Dimers basierende modulare Polymer zeigt nicht nur Elastizität, eine hohe Dehngrenze und Festigkeit sondern ist auch selbstwiederherstellend und anpassungsfähig. Das modulare Polymer wurde über Metathese-Polymerisation acyclischer Diene (ADMET) aus einem Diolefin-UPy-DCL-Monomer synthet-

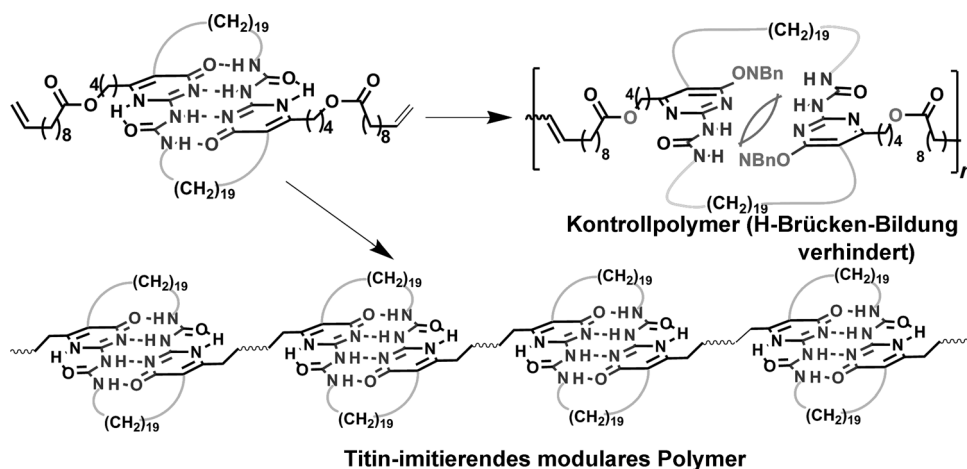


Abbildung 22. Struktur fester, zäher, elastischer und anpassungsfähiger ADMET-UPy-DCL-Polymere. Wiedergabe mit freundlicher Genehmigung nach Lit. [440]. Copyright 2009 American Chemical Society.

tisiert. Bei einer Dehnung von etwa 5% in Zugversuchen zeigt das modulare Polymer eine auffallend starke Deformation bei relativ geringer Belastungssteigerung als Konsequenz der fortlaufenden Entfaltung der gefalteten Module, was die Absorption einer großen Energiemenge zur Folge hat und das Polymer zäh macht. In weiteren Studien beobachteten Kushner et al. für dieses Polymer interessante Selbstwiederherstellungs- und Formgedächtniseigenschaften.

Für viele praktische Anwendungen mag es nicht notwendig sein, dass die mechanosensitiven Module (Mechanophore)^[441] in jeder Wiederholungseinheit vorhanden sind. Der Einbau weniger wasserstoffverbrückter mechanosensitiver Module könnte ausreichen, um Energie abzuführen und Brüche zu vermeiden. In diesem Sinn haben Kushner et al. ein dreidimensionales Poly(*n*-butylacrylat)-Netzwerk hergestellt, das einen kleinen Anteil (6 Mol-%) eines biomimetischen modularen Vernetzers enthielt.^[442] Der Vergleich der mechanischen Eigenschaften eines Netzwerks mit modularem Vernetzer und eines Kontrollnetzwerks mit normalem Vernetzer zeigt, dass die Einführung einer kleinen Menge eines biomimetischen Moduls in das Netzwerk die mechanischen Eigenschaften des Polymers drastisch verbessert.

8. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Aufsatz haben wir dargestellt, was über den molekularen Mechanismus bekannt ist, durch den natürliche Peptid-basierte Materialien ihre bemerkenswerten mechanischen Eigenschaften und deren Kombination erreichen können. Wir haben in jedem Abschnitt einen Überblick gegeben über die zahlreichen Versuche, auf biosynthetischem oder chemischem Weg neuartige funktionale Materialien nach natürlichem Vorbild zu gestalten. Am Ende dieses Beitrags werden wir einige entscheidende, von biologischen Materialien universell verwendete Gestaltungsprinzipien zusammenfassen und unsere Sichtweise auf die zukünftige Richtung und die Hauptaufgaben auf dem Gebiet der biomimetischen Materialien darlegen.

Vermutlich eines der wichtigsten Prinzipien beim Design natürlicher Materialien ist die Programmierung schwacher molekularer Kräfte in makromolekularen Systemen, um sowohl die intramo-

lekulare Faltung als auch die intermolekulare Selbstassoziation zu höheren Strukturen zu lenken. Moderne Synthesemethoden machen es einfach, starke kovalente Bindungen zu knüpfen, doch wir stehen noch am Anfang in unseren Versuchen, schwache molekulare Kräfte auf definierte und programmierte Weise in synthetische Makromoleküle einzufügen. Weiterhin bleibt eine grundlegende Herausforderung in der Zusammenführung von synthetischen und natürlichen Makromolekülen bestehen: Wir müssen mehr darüber erfahren, wie sekundäre molekulare Kräfte in Makromolekülen codiert werden, um lokale Strukturen in hochgeordnete zu übertragen und letztlich die Selbstassoziation über Größenordnungen von Nanometern und Mikrometern bis hin zur makroskopischen Ebene zu kontrollieren.

Ein zweites wichtiges Prinzip der natürlichen Materialgestaltung ist der Einsatz von starken kovalenten Bindungen und schwachen nichtkovalenten Wechselwirkungen, um eine Kombination scheinbar orthogonaler Eigenschaften zu erreichen, wie hohe mechanische Festigkeit und gleichzeitig dynamisches Verhalten und Anpassungsfähigkeit. In natürlichen Polymermaterialien bestehen die Hauptketten meist aus starken kovalenten Bindungen wie Amidbindungen (bei Peptiden), um die mechanische Festigkeit der Materialien zu gewährleisten. Dennoch sind es in vielen Fällen die akkumulativen schwachen Kräfte der Systeme, die verblüffende dynamische Eigenschaften und Anpassungsfähigkeiten (z.B. Zähigkeit, Reizempfindlichkeit, Formgedächtnis und/oder Selbstheilung). Bei der Gestaltung synthetischer Materialien bleibt es ein Hauptproblem, die kovalenten und nichtkovalenten Kräfte für das Design verbesserter Materialien mit Widerstands- und Anpassungsfähigkeit vorteilhaft zu kombinieren. Einerseits ermöglicht die moderne Polymerchemie den effizienten Zugriff auf viele künstliche Polymere mit starken kovalenten Bindungen, andererseits bietet die supramolekulare Chemie wichtige Motive, um schwache molekulare Kräfte in verschiedenen synthetischen Systemen zu kodieren. Eine aufkommende Forschungsrichtung in den Materialwissenschaften ist die nahtlose Verflechtung von supramolekularer Chemie und Polymerchemie, um eine neue Generation fortgeschrittener Materialien zu entwickeln.^[443,444]

Ein drittes wichtiges Prinzip, das in natürlichen Materialien weit verbreitet ist, ist der repetitive modulare Aufbau. Wie in den Abschnitten 2–7 untersucht, nehmen natürliche polymere Materialien oft einen modularen Weg, bei dem sich kurze Peptide zu wohldefinierten sekundären (β -Spirale, β -Faltblatt, α -Helix, PPII-Helix) oder sogar tertiären Modulen (Titin) falten und dann zu linearen Polymeren mit einer Tandemanordnung von Modulen polymerisieren. Vermutlich setzt die natürliche Evolution das modulare Design sowohl für die energieeffiziente Materialsynthese als auch für hochentwickelte funktionale Eigenschaften ein (siehe Abschnitt 7.1). Die modulare Gestaltung liefert auch eine praktische Lösung für die Kombination von Feinstrukturkontrolle und effizienter Synthese: Da die Sekundär- oder Tertiärstruktur innerhalb jedes Moduls genauestens vorgegeben wird, verbindet eine effiziente Polymerisation mehrere Module zu einem langen Polymer mit den gewünschten Ei-

genschaften. Das modulare Design bietet interessante Möglichkeiten für viele weitere biomimetische Anordnungen.

Wenngleich die biomimetische Materialwissenschaft enorme Möglichkeiten bietet, sind bei ihrer weiteren Entwicklung einige Herausforderungen zu meistern. Eine Hauptaufgabe ist die Entwicklung atomökonomischerer und umweltverträglicherer Synthesen für biomimetische Materialien, die nachhaltig in großem Maßstab und kostengünstig produziert werden können. Aktuelle chemische und biochemische Synthesen biomimetischer Materialien benötigen oft viele Stufen und produzieren giftige Abfälle, bei natürlichen Prozessen hingegen werden die meisten Materialien unter Umgebungsbedingungen in wässriger Lösung aufgebaut und verarbeitet. Eine zweite große Aufgabe ist es, optimale Verarbeitungsbedingungen und eine ausgezeichnete chemische Gestaltung und Synthese zu vereinbaren. Damit ein Material sein Potenzial voll entfalten kann, ist der Grad der strukturellen Organisation im kondensierten Zustand extrem wichtig. Zusätzlich zur wohldefinierten chemischen Gestaltung und Kodierung verschiedener molekularer Kräfte und hochgeordneter Strukturen, werden die optimalen Verarbeitungsbedingungen die strukturelle Organisation über mehrerer Größenordnungen unterstützen. In der Natur werden viele fantastische Materialien, z.B. Spinnenseide, durch die Kombination von biochemischem Aufbau und den besten Verarbeitungsbedingungen gewonnen. Ohne optimale Verarbeitung liegen die gemessenen Eigenschaften vieler biomimetischer Materialien weit unterhalb dessen, was aufgrund ihres Aufbaus möglich ist.

Auch nach großen Fortschritten in jüngster Zeit bleibt die direkte Verbindung von Einzelmolekül-Eigenschaften mit makroskopischen Eigenschaften eine Hauptaufgabe der biomimetischen Materialstudien. Zwar können die Produkte eines molekularen Designs jetzt mit Nanometerauflösung analysiert werden, doch es ist zu erwarten, dass sich, sobald mehrere Moleküle in einem kondensierten Zustand zusammenfinden, die Dynamik und die resultierenden Eigenschaften drastisch ändern werden, und die Methoden zur Vorhersage und Identifizierung dieser Eigenschaften sind zur Zeit begrenzt und ungenau.

Trotz dieser Herausforderungen sind die Aussichten des biomimetischen Materialdesigns glänzend. Dank wichtiger Entwicklungen die zu effizienteren Synthesemethoden und einem verbesserten Verständnis der molekularen Mechanismen natürlicher Materialien auf biologischer Ebene ermöglichen, zusammen mit den Fortschritten in computergestützter Modellierung komplexer biomimetischer Systeme und Verbesserungen im Bereich der Nanomaterialwissenschaften, sind wir so gut wie nie zuvor darauf vorbereitet, natürliche Designstrategien in synthetische Materialien umzusetzen. Durch die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Chemikern, Biologen, Biophysikern, Materialwissenschaftlern und Ingenieuren können viele entscheidende Fragen der Materialgestaltung angesprochen werden, beginnend auf molekularer Ebene bis hin zu fortgeschrittenen makroskopischen Anwendungen. Die Nachahmung natürlicher Vorbilder kann uns zu fortgeschrittenen Materialien führen, die den mit aktuellen Methoden erhältlichen Materialien bei weitem überlegen sein werden.

Wir danken dem US Department of Energy-Basic Energy Science (DE-FG02-04ER46162), den National Institute of Health (R01EB004936), der National Science Foundation (DMR-0135233) und der Arnold and Mabel Beckman Foundation für die finanzielle Unterstützung unseres biomimetischen Materialforschungsprogramms. Vielen Kollegen und Mitarbeitern, deren Namen in der zitierten Literatur erscheinen, danken wir für ihre wichtigen Beiträge zu diesem Forschungsgebiet. Wir entschuldigen uns bei Autoren, deren wichtige Beiträge aus Platzgründen in diesem Beitrag nicht berücksichtigt werden konnten.

Eingegangen am 16. Oktober 2010

Online veröffentlicht am 5. September 2011

Übersetzt von Dr. Margit Knauer, Bensheim

- [1] <http://www.merriam-webster.com/dictionary/biomimetics>, **2011**.
- [2] C. G. Gebelein, *Biomimetic Polymers*, Plenum Press, New York, **1990**.
- [3] P. C. Rieke, P. D. Calvert, M. Alper, *Materials Synthesis Utilizing Biological Processes*, Band 174, Materials Research Society, Pittsburgh, PA, **1990**.
- [4] K. P. McGrath, D. Kaplan, *Protein-Based Materials*, Birkhauser, Boston, **1997**.
- [5] J. Aizenberg, J. M. McKittrick, C. A. Orme, *Biological and Biomimetic Materials—Properties to Function*, Band 724, Materials Research Society, Warrendale, PA, **2002**.
- [6] A. K. Dillow, A. M. Lowman, *Biomimetic Materials and Design: Biointerfacial Strategies, Tissue Engineering, and Targeted Drug Delivery*, Marcel Dekker, New York, **2002**.
- [7] J. L. Thomas, K. L. Kiick, L. A. Gower, *Materials Inspired by Biology*, Vol. 774, MRS, Warrendale, PA, **2003**.
- [8] V. Nanda, R. L. Koder, *Nat. Chem.* **2010**, 2, 15.
- [9] J. Kofoed, J.-L. Reymond, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, 9, 656.
- [10] A. Mecke, C. Ditttrich, W. Meier, *Soft Matter* **2006**, 2, 751.
- [11] C. H. L. Nielsen in *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, Band 395, Springer, Dordrecht, **2009**, S. 697.
- [12] K. Kalyanasundaram, M. Graetzel, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2010**, 21, 298.
- [13] D. G. Gibson, J. I. Glass, C. Lartigue, V. N. Noskov, R.-Y. Chuang, M. A. Algire, G. A. Benders, M. G. Montague, L. Ma, M. M. Moodie, et al., *Science* **2010**, 329, 52.
- [14] I. Grunwald, K. Rischka, S. M. Kast, T. Scheibel, H. Bargel, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2009**, 367, 1727.
- [15] H.-A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, 43, 1.
- [16] H. G. Börner, H. Schlaad, *Soft Matter* **2007**, 3, 394.
- [17] J. C. M. van Hest, *Polym. Rev.* **2007**, 47, 63.
- [18] M. Cusack, A. Freer, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 4433.
- [19] W. Kunz, M. Kellermeier, *Science* **2009**, 323, 344.
- [20] C.-L. Chen, N. L. Rosi, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 1968; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1924.
- [21] J. Aizenberg, *MRS Bull.* **2010**, 35, 323.
- [22] L. C. Palmer, C. J. Newcomb, S. R. Kaltz, E. D. Spoerke, S. I. Stupp, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 4754.
- [23] L. B. Gower, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 4551.
- [24] W. J. Crookes-Goodson, J. M. Slocik, R. R. Naik, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 2403.
- [25] J. H. Waite, N. H. Andersen, S. Jewhurst, S. Chengjun, *J. Adhes.* **2005**, 81, 297.
- [26] S. Hui, N. B. Kent, J. S. Russell, *Macromol. Biosci.* **2009**, 9, 464.
- [27] B. Bhushan, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2009**, 367, 1445.
- [28] Y. Liu, J. P. Li, E. B. Hunziker, K. de Groot, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2006**, 364, 233.
- [29] M. P. Lutolf, J. A. Hubbell, *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 47.
- [30] J. Patterson, M. M. Martino, J. A. Hubbell, *Mater. Today* **2010**, 13, 14.
- [31] H. Bader, K. Dorn, B. Hupfer, H. Ringsdorf in *Polymer Membranes*, Springer, Heidelberg, **1985**, S. 62.
- [32] H. Ringsdorf, B. Schlarb, J. Venzmer, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 117; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 113.
- [33] Y. Bar-Cohen, *Biomimetics: Biologically Inspired Technologies*, Taylor & Francis, New York, **2006**.
- [34] T. Ackbarow, M. J. Buehler, *Nanotechnology* **2009**, 20, 075103.
- [35] J. Gosline, M. Lillie, E. Carrington, P. Guerette, C. Ortlepp, K. Savage, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, 357, 121.
- [36] J. Aizenberg, P. Fratzl, *Adv. Mater.* **2009**, 21, 387.
- [37] M. Antonietti, P. Fratzl, *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, 211, 166.
- [38] P. R. Shewry, A. S. Tatham, A. J. Bailey, *Elastomeric Proteins: Structures, Biomechanical Properties, and Biological Roles*, Cambridge University Press, Cambridge, **2003**.
- [39] M. E. Csete, J. C. Doyle, *Science* **2002**, 295, 1664.
- [40] M. Baer, E. Schreiner, A. Kohlmeyer, R. Rousseau, D. Marx, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 3576.
- [41] S. Zhang, *Mater. Today* **2003**, 6, 20.
- [42] J.-M. Lehn, *Science* **2002**, 295, 2400.
- [43] J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [44] M. J. Buehler, Y. C. Yung, *Nat. Mater.* **2009**, 8, 175.
- [45] D. W. Urry, T. Hugel, M. Seitz, H. E. Gaub, L. Sheiba, J. Dea, J. Xu, T. Parker, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, 357, 169.
- [46] W. R. Gray, L. B. Sandberg, J. A. Foster, *Nature* **1973**, 246, 461.
- [47] P. Brown-Augsburger, C. Tisdale, T. Broekelmann, C. Sloan, R. P. Mecham, *J. Biol. Chem.* **1995**, 270, 17778.
- [48] K. K. Kumashiro, J. P. Ho, W. P. Niemczura, F. W. Keeley, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 23757.
- [49] A. M. Tamburro, A. Pepe, B. Bochicchio, *Biochemistry* **2006**, 45, 9518.
- [50] C. A. J. Hoeve, P. J. Flory, *Biopolymers* **1974**, 13, 677.
- [51] D. A. Torchia, K. A. Piez, *J. Mol. Biol.* **1973**, 76, 419.
- [52] J. M. Gosline, *Biopolymers* **1978**, 17, 677.
- [53] J. M. Gosline, C. J. French, *Biopolymers* **1979**, 18, 2091.
- [54] T. Weis-Fogh, S. O. Andersen, *Nature* **1970**, 227, 718.
- [55] I. Pasquali-Ronchetti, M. Baccarani-Contri, C. Fornieri, G. Mori, D. Quaglino, Jr., *Micron* **1993**, 24, 75.
- [56] D. W. Urry, *J. Protein Chem.* **1988**, 7, 1.
- [57] D. W. Urry, *J. Protein Chem.* **1988**, 7, 81.
- [58] D. W. Urry, *J. Protein Chem.* **1984**, 3, 403.
- [59] S. Rimmer, S. Carter, R. Rutkaite, J. W. Haycock, L. Swanson, *Soft Matter* **2007**, 3, 971.
- [60] D. W. Urry, T. L. Trapane, M. Iqbal, C. M. Venkatachalam, K. U. Prasad, *Biochemistry* **1985**, 24, 5182.
- [61] H. Dong, S. E. Paramonov, L. Aulisa, E. L. Bakota, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12468.
- [62] B. Li, D. O. V. Alonso, B. J. Bennion, V. Daggett, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 11991.
- [63] B. Li, D. O. V. Alonso, V. Daggett, *J. Mol. Biol.* **2001**, 305, 581.
- [64] J. Carlos Rodríguez-Cabello, J. Reguera, A. Girotti, M. Alonso, A. M. Testera, *Prog. Polym. Sci.* **2005**, 30, 1119.
- [65] K. Okamoto, D. W. Urry, *Biopolymers* **1976**, 15, 2337.
- [66] D. Chow, M. L. Nunalee, D. W. Lim, A. J. Simnick, A. Chilkoti, *Mater. Sci. Eng. R* **2008**, 62, 125.
- [67] Y. Wu, J. A. MacKay, J. R. McDaniel, A. Chilkoti, R. L. Clark, *Biomacromolecules* **2009**, 10, 19.
- [68] R. Dandu, H. Ghandehari, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32, 1008.
- [69] E. R. Wright, V. P. Conticello, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, 54, 1057.

- [70] D. W. Lim, D. L. Nettles, L. A. Setton, A. Chilkoti, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 222.
- [71] W. F. Daamen, J. H. Veerkamp, J. C. M. van Hest, T. H. van Kuppevelt, *Biomaterials* **2007**, *28*, 4378.
- [72] L. Martín, M. Alonso, M. Moller, J. C. Rodriguez-Cabello, P. Mela, *Soft Matter* **2009**, *5*, 1591.
- [73] D. W. Urry, W. D. Cunningham, T. Ohnishi, *Biochemistry* **1974**, *13*, 609.
- [74] W. J. Cook, H. Einspahr, T. L. Trapane, D. W. Urry, C. E. Bugg, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5502.
- [75] D. W. Urry, T. L. Trapane, H. Sugano, K. U. Prasad, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2080.
- [76] C. M. Venkatachalam, D. W. Urry, *Macromolecules* **1981**, *14*, 1225.
- [77] X. L. Yao, M. Hong, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4199.
- [78] D. W. Urry, T. L. Trapane, K. U. Prasad, *Biopolymers* **1985**, *24*, 2345.
- [79] R. Henze, D. W. Urry, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 2991.
- [80] F. Leij, A. M. Tamburro, V. Villan, P. Grimaldi, V. Guantieri, *Biopolymers* **1992**, *32*, 161.
- [81] O. Arad, M. Goodman, *Biopolymers* **1990**, *29*, 1633.
- [82] O. Arad, M. Goodman, *Biopolymers* **1990**, *29*, 1651.
- [83] L. Y. Xiao, P. C. Vincent, H. Mei, *Magn. Reson. Chem.* **2004**, *42*, 267.
- [84] K. Ohgo, W. P. Niemczura, J. Ashida, M. Okonogi, T. Asakura, K. K. Kumashiro, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 3306.
- [85] T. Yamaoka, T. Tamura, Y. Seto, T. Tada, S. Kunugi, D. A. Tirrell, *Biomacromolecules* **2003**, *4*, 1680.
- [86] D. E. Meyer, A. Chilkoti, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 846.
- [87] C. Bouchiat, M. D. Wang, J. F. Allemand, T. Strick, S. M. Block, V. Croquette, *Biophys. J.* **1999**, *76*, 409.
- [88] A. Valiaev, D. W. Lim, S. Schmidler, R. L. Clark, A. Chilkoti, S. Zauscher, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 10939.
- [89] J. B. Leach, J. B. Wolinsky, P. J. Stone, J. Y. Wong, *Acta Biomater.* **2005**, *1*, 155.
- [90] R. A. McMillan, V. P. Conticello, *Macromolecules* **2000**, *33*, 4809.
- [91] M. Martino, T. Perri, A. M. Tamburro, *Biomacromolecules* **2002**, *3*, 297.
- [92] E. R. Welsh, D. A. Tirrell, *Biomacromolecules* **2000**, *1*, 23.
- [93] L. Huang, R. A. McMillan, R. P. Apkarian, B. Pourdeyimi, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Macromolecules* **2000**, *33*, 2989.
- [94] K. Nagapudi, W. T. Brinkman, J. E. Leisen, L. Huang, R. A. McMillan, R. P. Apkarian, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Macromolecules* **2002**, *35*, 1730.
- [95] K. Nagapudi, W. T. Brinkman, B. S. Thomas, J. O. Park, M. Srinivasarao, E. Wright, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Biomaterials* **2005**, *26*, 4695.
- [96] R. E. Sallach, W. Cui, J. Wen, A. Martinez, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Biomaterials* **2009**, *30*, 409.
- [97] E. M. Srokowski, K. A. Woodhouse, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **2008**, *19*, 785.
- [98] F. W. Keeley, C. M. Bellingham, K. A. Woodhouse, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, *357*, 185.
- [99] C. M. Bellingham, M. A. Lillie, J. M. Gosline, G. M. Wright, B. C. Starcher, A. J. Bailey, K. A. Woodhouse, F. W. Keeley, *Biopolymers* **2003**, *70*, 445.
- [100] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2056; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004.
- [101] S. E. Grieshaber, A. J. E. Farran, S. Lin-Gibson, K. L. Kiick, X. Jia, *Macromolecules* **2009**, *42*, 2532.
- [102] Y. Chen, Z. Guan, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4577.
- [103] L. Ayres, M. R. J. Vos, P. J. H. M. Adams, I. O. Shklyarevskiy, J. C. M. van Hest, *Macromolecules* **2003**, *36*, 5967.
- [104] L. Ayres, K. Koch, J. C. M. van Hest, *Macromolecules* **2005**, *38*, 1699.
- [105] R. Koningsveld, A. J. Staverman, *J. Polym. Sci. Part A-2* **1968**, *6*, 325.
- [106] F. Fernández-Trillo, J. C. M. van Hest, J. C. Thies, T. Michon, R. Weberskirch, N. R. Cameron, *Chem. Commun.* **2008**, 2230.
- [107] S. K. Roberts, A. Chilkoti, L. A. Setton, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 2618.
- [108] H. D. Maynard, S. Y. Okada, R. H. Grubbs, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 1275.
- [109] R. M. Conrad, R. H. Grubbs, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 8478; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8328.
- [110] D. W. Urry, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 11007.
- [111] M. Alonso, V. Reboto, L. Guiscardo, A. San Martin, J. C. Rodriguez-Cabello, *Macromolecules* **2000**, *33*, 9480.
- [112] I. W. Hamley, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8274; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8128.
- [113] O. Khakshoor, J. S. Nowick, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2008**, *12*, 722.
- [114] B. Caughey, P. T. Lansbury, *Annu. Rev. Neurosci.* **2003**, *26*, 267.
- [115] S. S. Ray, R. J. Nowak, K. Strokovich, R. H. Brown, T. Walz, P. T. Lansbury, *Biochemistry* **2004**, *43*, 4899.
- [116] D. E. Barlow, G. H. Dickinson, B. Orihuela, J. L. Kulp, D. Rittschof, K. J. Wahl, *Langmuir* **2010**, *26*, 6549.
- [117] A. J. Geddes, K. D. Parker, E. D. T. Atkins, E. Beighton, *J. Mol. Biol.* **1968**, *32*, 343.
- [118] S. J. Hamodrakas, A. Hoenger, V. A. Iconomidou, *J. Struct. Biol.* **2004**, *145*, 226.
- [119] H. Li, A. F. Oberhauser, S. B. Fowler, J. Clarke, J. M. Fernandez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 6527.
- [120] A. M. Smith, T. Scheibel, *Macromol. Chem. Phys.* **2010**, *211*, 127.
- [121] J. E. Bear, M. Krause, F. B. Gertler, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 158.
- [122] S. Inoué, *J. Struct. Biol.* **1997**, *118*, 87.
- [123] D. L. Cox, H. Lashuel, K. Y. C. Lee, R. R. P. Singh, *MRS Bull.* **2005**, *30*, 452.
- [124] A. Kishimoto, K. Hasegawa, H. Suzuki, H. Taguchi, K. Namba, M. Yoshida, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *315*, 739.
- [125] M. F. Perutz, J. T. Finch, J. Berriman, A. Lesk, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 5591.
- [126] C. Sachse, N. Grigorieff, M. Fändrich, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1343; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1321.
- [127] K. L. De Jong, B. Incledon, C. M. Yip, M. R. DeFelippis, *Biophys. J.* **2006**, *91*, 1905.
- [128] A. T. Petkova, Y. Ishii, J. J. Balbach, O. N. Antzutkin, R. D. Leapman, F. Delaglio, R. Tycko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16742.
- [129] C. Govaerts, H. Wille, S. B. Prusiner, F. E. Cohen, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 8342.
- [130] R. Paparcone, M. J. Buehler, *Appl. Phys. Lett.* **2009**, *94*, 243904.
- [131] J. L. Jimenez, E. J. Nettleton, M. Bouchard, C. V. Robinson, C. M. Dobson, H. R. Saibil, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 9196.
- [132] W. T. Astbury, S. Dickinson, *Biochem. J.* **1935**, *29*, 2351.
- [133] E. D. Eanes, G. G. Glenner, *J. Histochem. Cytochem.* **1968**, *16*, 673.
- [134] M. R. Sawaya, S. Sambashivan, R. Nelson, M. I. Ivanova, S. A. Sievers, M. I. Apostol, M. J. Thompson, M. Balbirnie, J. J. W. Wiltzius, H. T. McFarlane, et al., *Nature* **2007**, *447*, 453.
- [135] M. I. Ivanova, S. A. Sievers, M. R. Sawaya, J. S. Wall, D. Eisenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 18990.
- [136] R. Nelson, M. R. Sawaya, M. Balbirnie, A. O. Madsen, C. Riekel, R. Grothe, D. Eisenberg, *Nature* **2005**, *435*, 773.
- [137] L. Goldschmidt, P. K. Teng, R. Riekel, D. Eisenberg, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 3487.
- [138] J. F. Smith, T. P. J. Knowles, C. M. Dobson, C. E. MacPhee, M. E. Welland, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 15806.

- [139] T. P. Knowles, A. W. Fitzpatrick, S. Meehan, H. R. Mott, M. Vendruscolo, C. M. Dobson, M. E. Welland, *Science* **2007**, *318*, 1900.
- [140] F. Chiti, C. M. Dobson, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 333.
- [141] S. Ketten, M. J. Buehler, *Nano Lett.* **2008**, *8*, 743.
- [142] S. Ketten, M. J. Buehler, *Phys. Rev. E* **2008**, *78*, 061913.
- [143] A. Mostaert, M. Higgins, T. Fukuma, F. Rindi, S. Jarvis, *J. Biol. Phys.* **2006**, *32*, 393.
- [144] T. Fukuma, A. Mostaert, S. Jarvis, *Tribol. Lett.* **2006**, *22*, 233.
- [145] S. M. Anika, S. P. Jarvis, *Nanotechnology* **2007**, *18*, 044010.
- [146] S. Ketten, M. J. Buehler, *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* **2008**, *197*, 3203.
- [147] M. Lopez de La Paz, K. Goldie, J. Zurdo, E. Lacroix, C. M. Dobson, A. Hoenger, L. Serrano, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16052.
- [148] T. P. J. Knowles, T. W. Oppenheim, A. K. Buell, D. Y. Chirgadze, M. E. Welland, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 204.
- [149] T. Scheibel, R. Parthasarathy, G. Sawicki, X.-M. Lin, H. Jaeger, S. L. Lindquist, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 4527.
- [150] Y. Leng, H. P. Wei, Z. P. Zhang, Y. F. Zhou, J. Y. Deng, Z. Q. Cui, D. Men, X. Y. You, Z. N. Yu, M. Luo, et al., *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7401; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7243.
- [151] E. Gazit, *FASEB J.* **2002**, *16*, 77.
- [152] M. Reches, E. Gazit, *Science* **2003**, *300*, 625.
- [153] N. Kol, L. Adler-Abramovich, D. Barlam, R. Z. Shneck, E. Gazit, I. Rouso, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1343.
- [154] C. Valery, M. Paternostre, B. Robert, T. Gulik-Krzywicki, T. Narayanan, J.-C. Dedieu, G. Keller, M.-L. Torres, R. Cherif-Cheikh, P. Calvo, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 10258.
- [155] E. Pouget, N. Fay, E. Dujardin, N. Jamin, P. Berthault, L. Perrin, A. Pandit, T. Rose, C. Valery, D. Thomas, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4230.
- [156] A. Aggeli, M. Bell, L. M. Carrick, C. W. G. Fishwick, R. Harding, P. J. Mawer, S. E. Radford, A. E. Strong, N. Boden, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9619.
- [157] A. Aggeli, M. Bell, N. Boden, J. N. Keen, P. F. Knowles, T. C. B. McLeish, M. Pitkeathly, S. E. Radford, *Nature* **1997**, *386*, 259.
- [158] D. M. Marini, W. Hwang, D. A. Lauffenburger, S. Zhang, R. D. Kamm, *Nano Lett.* **2002**, *2*, 295.
- [159] S. Vauthey, S. Santoso, H. Gong, N. Watson, S. Zhang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 5355.
- [160] A. P. Nowak, V. Breedveld, L. Pakstis, B. Ozbas, D. J. Pine, D. Pochan, T. J. Deming, *Nature* **2002**, *417*, 424.
- [161] L. Aulisa, H. Dong, J. D. Hartgerink, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 2694.
- [162] J. P. Jung, J. L. Jones, S. A. Cronier, J. H. Collier, *Biomaterials* **2008**, *29*, 2143.
- [163] J. H. Collier, B. H. Hu, J. W. Ruberti, J. Zhang, P. Shum, D. H. Thompson, P. B. Messersmith, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 9463.
- [164] P. Cao, D. P. Raleigh, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4052.
- [165] C. J. Bowerman, B. L. Nilsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9526.
- [166] H. A. Lashuel, S. R. LaBrenz, L. Woo, L. C. Serpell, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5262.
- [167] J. P. Schneider, D. J. Pochan, B. Ozbas, K. Rajagopal, L. Pakstis, J. Kretsinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 15030.
- [168] K. Oh, Z. Guan, *Chem. Commun.* **2006**, 3069.
- [169] T.-B. Yu, J. Z. Bai, Z. Guan, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 1117; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1097.
- [170] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 5133.
- [171] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Science* **2001**, *294*, 1684.
- [172] S. E. Paramonov, H.-W. Jun, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7291.
- [173] E. T. Pashuck, H. Cui, S. I. Stupp, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6041.
- [174] T. Muraoka, H. Cui, S. I. Stupp, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2946.
- [175] J. M. Smeenk, M. B. J. Otten, J. Thies, D. A. Tirrell, J. C. M. van Hest, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2004; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1968.
- [176] J. Hentschel, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14142.
- [177] J. Hentschel, E. Krause, H. G. Börner, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7722.
- [178] H. Kühnle, H. G. Börner, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6552; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6431.
- [179] A. Verch, H. Hahn, E. Krause, H. Colfen, H. G. Börner, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8938.
- [180] E.-K. Schillinger, E. Mena-Osteritz, J. Hentschel, H. G. Börner, P. Bäuerle, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1562.
- [181] E. Jahnke, I. Lieberwirth, N. Severin, J. P. Rabe, H. Frauenrath, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5510; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5383.
- [182] E. Jahnke, N. Severin, P. Kreutzkamp, J. P. Rabe, H. Frauenrath, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 409.
- [183] M. van den Heuvel, D. W. P. M. Lowik, J. C. M. van Hest, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 1676.
- [184] *Scientific American* **1943**, 78.
- [185] G. H. Altman, F. Diaz, C. Jakuba, T. Calabro, R. L. Horan, J. Chen, H. Lu, J. Richmond, D. L. Kaplan, *Biomaterials* **2003**, *24*, 401.
- [186] F. G. Omenetto, D. L. Kaplan, *Science* **2010**, *329*, 528.
- [187] R. V. Lewis, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3762.
- [188] D. L. Kaplan, W. W. Adams, C. Viney, B. L. Farmer, *Silk Polymers: Materials Science and Biotechnology* (Hrsg.: D. Kaplan), American Chemical Society, Washington, DC, **1994**.
- [189] F. Vollrath, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2000**, *74*, 67.
- [190] F. Vollrath, W. J. Fairbrother, R. J. P. Williams, E. K. Tillinghast, D. T. Bernstein, K. S. Gallagher, M. A. Townley, *Nature* **1990**, *345*, 526.
- [191] F. Vollrath, E. K. Tillinghast, *Naturwissenschaften* **1991**, *78*, 557.
- [192] N. Becker, E. Oroudjev, S. Mutz, J. P. Cleveland, P. K. Hansma, C. Y. Hayashi, D. E. Makarov, H. G. Hansma, *Nat. Mater.* **2003**, *2*, 278.
- [193] J. G. Hardy, T. R. Scheibel, *Biochem. Soc. Trans.* **2009**, *037*, 677.
- [194] J. C. M. van Hest, D. A. Tirrell, *Chem. Commun.* **2001**, 1897.
- [195] F. K. Ko, J. Jovicic, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 780.
- [196] O. Emile, A. L. Floch, F. Vollrath, *Nature* **2006**, *440*, 621.
- [197] F. Vollrath, D. Porter, *Soft Matter* **2006**, *2*, 377.
- [198] M. Heim, D. Keerl, T. Scheibel, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3638; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3584.
- [199] F. Vollrath, D. P. Knight, *Nature* **2001**, *410*, 541.
- [200] J. O. Warwicker, *Trans. Farad. Soc.* **1956**, *52*, 554.
- [201] M. Xu, R. V. Lewis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1990**, *87*, 7120.
- [202] R. V. Lewis, *Acc. Chem. Res.* **1992**, *25*, 392.
- [203] Y. Termonia, *Macromolecules* **1994**, *27*, 7378.
- [204] H. Heslot, *Biochimie* **1998**, *80*, 19.
- [205] J. M. Gosline, M. E. DeMont, M. W. Denny, *Endeavour* **1986**, *10*, 37.
- [206] A. H. Simmons, C. A. Michal, L. W. Jelinski, *Science* **1996**, *271*, 84.
- [207] S. Ketten, Z. Xu, B. Ihle, M. J. Buehler, *Nat. Mater.* **2010**, *9*, 359.
- [208] L. W. Jelinski, A. Blye, O. Liivak, C. Michal, G. LaVerde, A. Seidel, N. Shah, Z. Yang, *Int. J. Biol. Macromol.* **1999**, *24*, 197.
- [209] J. D. van Beek, S. Hess, F. Vollrath, B. H. Meier, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 10266.
- [210] F. Vollrath, D. Porter, *Appl. Phys. A* **2006**, *82*, 205.
- [211] C. Y. Hayashi, R. V. Lewis, *J. Mol. Biol.* **1998**, *275*, 773.
- [212] D. R. Askeland, *The Science and Engineering of Materials*, PWS, Boston, **1994**.
- [213] D. Porter, F. Vollrath, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 487.

- [214] D. P. Knight, F. Vollrath, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, 357, 219.
- [215] H.-J. Jin, D. L. Kaplan, *Nature* **2003**, 424, 1057.
- [216] R. Silvers, F. Buhr, H. Schwalbe, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 5538; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 5410.
- [217] G. Askarieh, M. Hedhammar, K. Nordling, A. Saenz, C. Casals, A. Rising, J. Johansson, S. D. Knight, *Nature* **2010**, 465, 236.
- [218] F. Hagn, L. Eisoldt, J. G. Hardy, C. Vendrely, M. Coles, T. Scheibel, H. Kessler, *Nature* **2010**, 465, 239.
- [219] T. Scheibel, *Microb. Cell Fact.* **2004**, 3, 14.
- [220] S. A. Fossey, G. Némethy, K. D. Gibson, H. A. Scheraga, *Biopolymers* **1991**, 31, 1529.
- [221] M. T. Krejchi, E. D. T. Atkins, A. J. Waddon, M. J. Fournier, T. L. Mason, D. A. Tirrell, *Science* **1994**, 265, 1427.
- [222] Y. Ou, S. C. Payne, R. P. Apkarian, V. P. Conticello, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 5014.
- [223] S. Zhang, T. Holmes, C. Lockshin, A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 3334.
- [224] R. Valluzzi, S. Szela, P. Avtges, D. Kirschner, D. Kaplan, *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 11382.
- [225] S. Szela, P. Avtges, R. Valluzzi, S. Winkler, D. Wilson, D. Kirschner, D. L. Kaplan, *Biomacromolecules* **2000**, 1, 534.
- [226] S. Winkler, D. Wilson, D. L. Kaplan, *Biochemistry* **2000**, 39, 12739.
- [227] K. Nagapudi, W. T. Brinkman, J. Leisen, B. S. Thomas, E. R. Wright, C. Haller, X. Wu, R. P. Apkarian, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *Macromolecules* **2005**, 38, 345.
- [228] C. Vendrely, T. Scheibel, *Macromol. Biosci.* **2007**, 7, 401.
- [229] J. P. O'Brien, S. R. Fahnestock, Y. Termonia, K. H. Gardner, *Adv. Mater.* **1998**, 10, 1185.
- [230] A. Seidel, O. Liivak, L. W. Jelinski, *Macromolecules* **1998**, 31, 6733.
- [231] 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.
- [232] D. Huemmerich, C. Helsen, S. Quedzuweit, J. Oschmann, R. Rudolph, T. Scheibel, *Biochemistry* **2004**, 43, 13604.
- [233] S. Rammensee, U. Slotta, T. Scheibel, A. R. Bausch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, 105, 6590.
- [234] O. Rathore, D. Y. Sogah, *Macromolecules* **2001**, 34, 1477.
- [235] Y. Liu, Z. Shao, F. Vollrath, *Nat. Mater.* **2005**, 4, 901.
- [236] C. Zhou, B. Leng, J. Yao, J. Qian, X. Chen, P. Zhou, D. P. Knight, Z. Shao, *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2415.
- [237] L. T. J. Korley, B. D. Pate, E. L. Thomas, P. T. Hammond, *Polymer* **2006**, 47, 3073.
- [238] Z.-R. Chen, J. A. Kornfield, S. D. Smith, J. T. Grothaus, M. M. Satkowski, *Science* **1997**, 277, 1248.
- [239] W.-J. Zhou, J. A. Kornfield, V. M. Ugaz, W. R. Burghardt, D. R. Link, N. A. Clark, *Macromolecules* **1999**, 32, 5581.
- [240] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1951**, 37, 205.
- [241] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, 4. Aufl., Garland Science New York, **2002**.
- [242] H. G. M. Edwards, D. E. Hunt, M. G. Sibley, *Spectrochim. Acta Part A* **1998**, 54, 745.
- [243] T. Ackbarow, D. Sen, C. Thaulow, M. J. Buehler, *PLoS ONE* **2009**, 4, e6015.
- [244] T. Ackbarow, M. Buehler, *J. Mater. Sci.* **2007**, 42, 8771.
- [245] M. J. Buehler, T. Ackbarow, *Mater. Today* **2007**, 10, 46.
- [246] Z. Qin, L. Kreplak, M. J. Buehler, *Nanotechnology* **2009**, 20, 425101.
- [247] L. Kreplak, J. Doucet, F. Briki, *Biopolymers* **2001**, 58, 526.
- [248] L. Kreplak, J. Doucet, P. Dumas, F. Briki, *Biophys. J.* **2004**, 87, 640.
- [249] A. Miserez, S. S. Wasko, C. F. Carpenter, J. H. Waite, *Nat. Mater.* **2009**, 8, 910.
- [250] H. Herrmann, U. Aebi, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1998**, 8, 177.
- [251] D. N. Woolfson, T. Alber, *Protein Sci.* **1995**, 4, 1596.
- [252] C. Cohen, D. A. D. Parry, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1990**, 7, 1.
- [253] N. L. Ogiwara, M. S. Weiss, D. Eisenberg, W. F. Degrad, *Protein Sci.* **1997**, 6, 80.
- [254] G. G. Privé, D. H. Anderson, L. Wesson, D. Cascio, D. Eisenberg, *Protein Sci.* **1999**, 8, 1400.
- [255] A. Lupas, *Trends Biochem. Sci.* **1996**, 21, 375.
- [256] A. N. Lupas, M. Gruber, *Adv. Protein Chem.* **2005**, 70, 37.
- [257] D. N. Woolfson, *Adv. Protein Chem.* **2005**, 70, 79.
- [258] J. M. Mason, K. M. Arndt, *ChemBioChem* **2004**, 5, 170.
- [259] F. H. C. Crick, *Nature* **1952**, 170, 882.
- [260] R. S. Hodges, J. Sodak, L. B. Smillie, L. Jurasek, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1972**, 37, 299.
- [261] A. D. McLachlan, M. Stewart, *J. Mol. Biol.* **1975**, 98, 293.
- [262] E. K. O'Shea, R. Rutkowski, P. S. Kim, *Cell* **1992**, 68, 699.
- [263] K. M. Arndt, J. N. Pelletier, K. M. Müller, T. Alber, S. W. Michnick, A. Plückthun, *J. Mol. Biol.* **2000**, 295, 627.
- [264] E. K. O'Shea, K. J. Lumb, P. S. Kim, *Curr. Biol.* **1993**, 3, 658.
- [265] M. L. Diss, A. J. Kennan, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 1321.
- [266] S. Betz, R. Fairman, K. O'Neil, J. Lear, W. Degrad, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **1995**, 348, 81.
- [267] K. M. Campbell, A. J. Sholders, K. J. Lumb, *Biochemistry* **2002**, 41, 4866.
- [268] J. R. S. Newman, A. E. Keating, *Science* **2003**, 300, 2097.
- [269] G. Grigoryan, A. W. Reinke, A. E. Keating, *Nature* **2009**, 458, 859.
- [270] A. E. Keating, V. N. Malashkevich, B. Tidor, P. S. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 14825.
- [271] G. Grigoryan, A. E. Keating, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, 18, 477.
- [272] J. M. Mason, M. A. Schmitz, K. M. Muller, K. M. Arndt, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 8989.
- [273] J. R. Lai, J. D. Fisk, B. Weisblum, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10514.
- [274] A. W. Reinke, R. A. Grant, A. E. Keating, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 6025.
- [275] E. H. C. Bromley, R. B. Sessions, A. R. Thomson, D. N. Woolfson, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 928.
- [276] W. A. Petka, J. L. Harden, K. P. McGrath, D. Wirtz, D. A. Tirrell, *Science* **1998**, 281, 389.
- [277] S. Kojima, Y. Kuriki, T. Yoshida, K. Yazaki, K.-i. Miura, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **1997**, 73, 7.
- [278] S. A. Potekhin, T. N. Melnik, V. Popov, N. F. Lanina, A. A. Vazina, P. Rigler, A. S. Verdini, G. Corradin, A. V. Kajava, *Chem. Biol.* **2001**, 8, 1025.
- [279] A. V. Kajava, S. A. Potekhin, G. Corradin, R. D. Leapman, *J. Pept. Sci.* **2004**, 10, 291.
- [280] T. N. Melnik, V. Villard, V. Vasiliev, G. Corradin, A. V. Kajava, S. A. Potekhin, *Protein Eng.* **2003**, 16, 1125.
- [281] Y. Zimenkov, V. P. Conticello, L. Guo, P. Thiyagarajan, *Tetrahedron* **2004**, 60, 7237.
- [282] Y. Zimenkov, S. N. Dublin, R. Ni, R. S. Tu, V. Breedveld, R. P. Apkarian, V. P. Conticello, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6770.
- [283] S. Dublin, Y. Zimenkov, V. P. Conticello, *Biochem. Soc. Trans.* **2009**, 37, 653.
- [284] S. N. Dublin, V. P. Conticello, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 49.
- [285] M. J. Pandya, G. M. Spooner, M. Sunde, J. R. Thorpe, A. Rodger, D. N. Woolfson, *Biochemistry* **2000**, 39, 8728.
- [286] M. G. Ryadnov, D. N. Woolfson, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14074.
- [287] A. M. Smith, E. F. Banwell, W. R. Edwards, M. J. Pandya, D. N. Woolfson, *Adv. Funct. Mater.* **2006**, 16, 1022.
- [288] D. Papapostolou, A. M. Smith, E. D. T. Atkins, S. J. Oliver, M. G. Ryadnov, L. C. Serpell, D. N. Woolfson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 10853.

- [289] M. G. Ryadnov, D. N. Woolfson, *Nat. Mater.* **2003**, 2, 329.
- [290] M. G. Ryadnov, D. N. Woolfson, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 3129; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 3021.
- [291] M. G. Ryadnov, D. N. Woolfson, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12407.
- [292] D. E. Wagner, C. L. Phillips, W. M. Ali, G. E. Nybakken, E. D. Crawford, A. D. Schwab, W. F. Smith, R. Fairman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 12656.
- [293] K. L. Lazar, H. Miller-Auer, G. S. Getz, J. P. R. O. Orgel, S. C. Meredith, *Biochemistry* **2005**, 44, 12681.
- [294] H. Dong, J. D. Hartgerink, *Biomacromolecules* **2006**, 7, 691.
- [295] H. Dong, S. E. Paramonov, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 13691.
- [296] K. Pagel, S. C. Wagner, K. Samedov, H. von Berlepsch, C. Bottcher, B. Koks, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 2196.
- [297] M. R. Hicks, D. V. Holberton, C. Kowalczyk, D. N. Woolfson, *Folding Des.* **1997**, 2, 149.
- [298] D. A. D. Parry, *J. Struct. Biol.* **2006**, 155, 370.
- [299] F. Zhang, K. A. Timm, K. M. Arndt, G. A. Woolley, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 4035; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 3943.
- [300] M. Suzuki, K. Saruwatari, T. Kogure, Y. Yamamoto, T. Nishimura, T. Kato, H. Nagasawa, *Science* **2009**, 325, 1388.
- [301] P. T. Wilder, T. H. Charpentier, D. J. Weber, *ChemMedChem* **2007**, 2, 1149.
- [302] R. N. Chapman, G. Dimartino, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 12252.
- [303] J. T. Kellis, R. J. Todd, F. H. Arnold, *Nat. Biotechnol.* **1991**, 9, 994.
- [304] F. H. Silver, J. W. Freeman, G. P. Seehra, *J. Biomech.* **2003**, 36, 1529.
- [305] A. Rich, F. H. C. Crick, *Nature* **1955**, 176, 915.
- [306] A. Rich, F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 483.
- [307] G. N. Ramachandran, *Int. Rev. Connect. Tissue Res.* **1963**, 1, 127.
- [308] G. N. Ramachandran, G. Kartha, *Nature* **1955**, 176, 593.
- [309] G. N. Ramachandran, G. Kartha, *Nature* **1954**, 174, 269.
- [310] G. N. Ramachandran, *Nature* **1956**, 177, 710.
- [311] R. D. B. Fraser, T. P. MacRae, E. Suzuki, *J. Mol. Biol.* **1979**, 129, 463.
- [312] T. V. Burjanadze, *Biopolymers* **1992**, 32, 941.
- [313] D. A. Slatter, C. A. Miles, A. J. Bailey, *J. Mol. Biol.* **2003**, 329, 175.
- [314] E. Leikina, M. V. Merts, N. Kuznetsova, S. Leikin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, 99, 1314.
- [315] N. Panasik, Jr., E. S. Eberhardt, A. S. Edison, D. R. Powell, R. T. Raines, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, 44, 262.
- [316] M. L. DeRider, S. J. Wilkens, M. J. Waddell, L. E. Bretscher, F. Weinhold, R. T. Raines, J. L. Markley, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2497.
- [317] S. K. Holmgren, K. M. Taylor, L. E. Bretscher, R. T. Raines, *Nature* **1998**, 392, 666.
- [318] C. A. Miles, T. V. Burjanadze, A. J. Bailey, *J. Mol. Biol.* **1995**, 245, 437.
- [319] J. Bella, B. Brodsky, H. M. Berman, *Connect. Tissue Res.* **1996**, 35, 455.
- [320] B. L. Trus, K. A. Piez, *J. Mol. Biol.* **1976**, 108, 705.
- [321] J. Khoshnoodi, J.-P. Cartailier, K. Alvares, A. Veis, B. G. Hudson, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 38117.
- [322] C. C. Banos, A. H. Thomas, C. K. Kuo, *Birth Defects Res. Part C* **2008**, 84, 228.
- [323] K. A. Piez, B. L. Trus, *J. Mol. Biol.* **1977**, 110, 701.
- [324] F. Jiang, H. Hörber, J. Howard, D. J. Müller, *J. Struct. Biol.* **2004**, 148, 268.
- [325] W. Zhang, S. S. Liao, F. Z. Cui, *Chem. Mater.* **2003**, 15, 3221.
- [326] D. A. Cisneros, C. Hung, C. M. Franz, D. J. Muller, *J. Struct. Biol.* **2006**, 154, 232.
- [327] J. A. Spadaro, R. O. Becker, C. H. Bachman, *Nature* **1970**, 225, 1134.
- [328] J. A. Spadaro, R. O. Becker, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct.* **1972**, 263, 585.
- [329] N. Kuznetsova, S. Leikin, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 36083.
- [330] D. J. Prockop, A. Fertala, *J. Struct. Biol.* **1998**, 122, 111.
- [331] R. Puxkandl, I. Zizak, O. Paris, J. Keckes, W. Tesch, S. Bernstorff, P. Purslow, P. Fratzl, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, 357, 191.
- [332] K. J. Coyne, X.-X. Qin, J. H. Waite, *Science* **1997**, 277.
- [333] M. J. Buehler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 12285.
- [334] W. Yang, M. L. Battineni, B. Brodsky, *Biochemistry* **1997**, 36, 6930.
- [335] A. V. Persikov, R. J. Pillitteri, P. Amin, U. Schwarze, P. H. Byers, B. Brodsky, *Hum. Mutat.* **2004**, 24, 330.
- [336] X. Y. Liu, S. Kim, Q. H. Dai, B. Brodsky, J. Baum, *Biochemistry* **1998**, 37, 15528.
- [337] T. J. Hyde, M. A. Bryan, B. Brodsky, J. Baum, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 36937.
- [338] A. V. Buevich, T. Silva, B. Brodsky, J. Baum, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 46890.
- [339] M. Bhate, X. Wang, J. Baum, B. Brodsky, *Biochemistry* **2002**, 41, 6539.
- [340] K. Beck, V. C. Chan, N. Shenoy, A. Kirkpatrick, J. A. M. Ramshaw, B. Brodsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 4273.
- [341] J. Baum, B. Brodsky, *Folding Des.* **1997**, 2, R53.
- [342] M. L. Battineni, W. Yang, X. Y. Liu, J. Baum, B. Brodsky, *Matrix Biol.* **1996**, 15, 175.
- [343] K. Okuyama, S. Arnott, *J. Mol. Biol.* **1981**, 152, 427.
- [344] R. Berisio, L. Vitagliano, L. Mazzarella, A. Zagari, *Biopolymers* **2000**, 56, 8.
- [345] L. Vitagliano, R. Berisio, L. Mazzarella, A. Zagari, *Biopolymers* **2001**, 58, 459.
- [346] R. Z. Kramer, L. Vitagliano, J. Bella, R. Berisio, L. Mazzarella, B. Brodsky, A. Zagari, H. M. Berman, *J. Mol. Biol.* **1998**, 280, 623.
- [347] R. Z. Kramer, J. Bella, P. Mayville, B. Brodsky, H. M. Berman, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, 6, 454.
- [348] J. Bella, M. Eaton, B. Brodsky, H. Berman, *Science* **1994**, 266, 75.
- [349] J. Bella, B. Brodsky, H. M. Berman, *Structure* **1995**, 3, 893.
- [350] M. Goodman, M. Bhuralkar, E. A. Jefferson, J. Kwak, E. Locardi, *Pept. Sci.* **1998**, 47, 127.
- [351] C. G. Fields, B. Grab, J. L. Lauer, G. B. Fields, *Anal. Biochem.* **1995**, 231, 57.
- [352] W. Roth, E. Heidemann, *Biopolymers* **1980**, 19, 1909.
- [353] S. Thakur, D. Vadolas, H.-P. Germann, E. Heidemann, *Biopolymers* **1986**, 25, 1081.
- [354] B. Grab, A. J. Miles, L. T. Furcht, G. B. Fields, *J. Biol. Chem.* **1996**, 271, 12234.
- [355] Y. Greiche, E. Heidemann, *Biopolymers* **1979**, 18, 2359.
- [356] Y. Feng, G. Melacini, J. P. Taulane, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10351.
- [357] G. Melacini, Y. Feng, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10359.
- [358] M. Goodman, Y. Feng, G. Melacini, J. P. Taulane, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 5156.
- [359] J. Kwak, A. De Capua, E. Locardi, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 14085.
- [360] G. A. Kinberger, W. Cai, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 15162.
- [361] W. Cai, D. Wong, G. A. Kinberger, S. W. Kwok, J. P. Taulane, M. Goodman, *Bioorg. Chem.* **2007**, 35, 327.
- [362] G. R. Newkome, X. Lin, *Macromolecules* **1991**, 24, 1443.
- [363] G. Melacini, Y. Feng, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 10359.

- [364] G. Melacini, Y. Feng, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 10725.
- [365] G. Melacini, Y. Feng, M. Goodman, *Biochemistry* **1997**, *36*, 8725.
- [366] Y. Feng, G. Melacini, J. P. Taulane, M. Goodman, *Biopolymers* **1996**, *39*, 859.
- [367] W. Cai, S. W. Kwok, J. P. Taulane, M. Goodman, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15030.
- [368] T. Koide, M. Yuguchi, M. Kawakita, H. Konno, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9388.
- [369] V. Gauba, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 2683.
- [370] V. Gauba, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15034.
- [371] J. A. Fallas, V. Gauba, J. D. Hartgerink, *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 26851.
- [372] S. Fiori, B. Saccà, L. Moroder, *J. Mol. Biol.* **2002**, *319*, 1235.
- [373] D. A. Slatter, L. A. Foley, A. R. Peachey, D. Nietlispach, R. W. Farndale, *J. Mol. Biol.* **2006**, *359*, 289.
- [374] V. Gauba, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7509.
- [375] L. E. Russell, J. A. Fallas, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3242.
- [376] S. E. Paramonov, V. Gauba, J. D. Hartgerink, *Macromolecules* **2005**, *38*, 7555.
- [377] T. Kishimoto, Y. Morihara, M. Osanai, S.-i. Ogata, M. Kamitakahara, C. Ohtsuki, M. Tanihara, *Biopolymers* **2005**, *79*, 163.
- [378] F. W. Kotch, R. T. Raines, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 3028.
- [379] M. A. Cejas, W. A. Kinney, C. Chen, J. G. Vinter, H. R. Almond, K. M. Balss, C. A. Maryanoff, U. Schmidt, M. Breslav, A. Mahan, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 8513.
- [380] D. E. Przybyla, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12610.
- [381] M. M. Pires, J. Chmielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2706.
- [382] M. M. Pires, D. E. Przybyla, J. Chmielewski, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 7953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7813.
- [383] S. Rele, Y. Song, R. P. Apkarian, Z. Qu, V. P. Conticello, E. L. Chaikof, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14780.
- [384] L. Fischer, P. Claudon, N. Pendem, E. Miclet, C. Didierjean, E. Ennifar, G. Guichard, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1085; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1067.
- [385] N. W. Owens, J. Stetefeld, E. Lattova, F. Schweizer, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5036.
- [386] V. Vogel, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2006**, *35*, 459.
- [387] M. Ito, H. Ishikawa, S. Nonomura, M. Fujita, *Seitai no Kagaku* **2000**, *51*.
- [388] A. S. French, *Annu. Rev. Physiol.* **1992**, *54*, 135.
- [389] P. G. Gillespie, R. G. Walker, *Nature* **2001**, *413*, 194.
- [390] B. Martinac, *J. Cell Sci.* **2004**, *117*, 2449.
- [391] V. Vogel, G. Baneyx, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2003**, *5*, 441.
- [392] K. Maruyama, *FASEB J.* **1997**, *11*, 341.
- [393] K. Wang, *Adv. Biophys.* **1996**, *33*, 123.
- [394] H. P. Erickson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 10114.
- [395] S. Labeit, B. Kolmerer, *Science* **1995**, *270*, 293.
- [396] H. Granzier, M. Helmes, K. Trombitas, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 430.
- [397] M. S. Z. Kellermayer, S. B. Smith, H. L. Granzier, C. Bustamante, *Science* **1997**, *276*, 1112.
- [398] P. E. Marszalek, H. Lu, H. Li, M. Carrion-Vazquez, A. F. Oberhauser, K. Schulten, J. M. Fernandez, *Nature* **1999**, *402*, 100.
- [399] H. Li, A. F. Oberhauser, S. D. Redick, M. Carrion-Vazquez, H. P. Erickson, J. M. Fernandez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 10682.
- [400] M. Rief, M. Gautel, F. Oesterhelt, J. M. Fernandez, H. E. Gaub, *Science* **1997**, *276*, 1109.
- [401] L. Tskhovrebova, J. Trinick, J. A. Sleep, R. M. Simmons, *Nature* **1997**, *387*, 308.
- [402] F. Oesterhelt, D. Oesterhelt, M. Pfeiffer, A. Engel, H. E. Gaub, D. J. Müller, *Science* **2000**, *288*, 143.
- [403] P. E. Marszalek, H. Li, A. F. Oberhauser, J. M. Fernandez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 4278.
- [404] H. Li, W. A. Linke, A. F. Oberhauser, M. Carrion-Vazquez, J. G. Kerkvliet, H. Lu, P. E. Marszalek, J. M. Fernandez, *Nature* **2002**, *418*, 998.
- [405] H. Clausen-Schaumann, M. Rief, C. Tolksdorf, H. E. Gaub, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1997.
- [406] B. L. Smith, T. E. Schaffer, M. Viani, J. B. Thompson, N. A. Frederick, J. Kindt, A. Belcher, G. D. Stucky, D. E. Morse, P. K. Hansma, *Nature* **1999**, *399*, 761.
- [407] H. Lu, K. Schulten, *Biophys. J.* **2000**, *79*, 51.
- [408] C. Chothia, E. Y. Jones, *Annu. Rev. Biochem.* **1997**, *66*, 823.
- [409] T. E. Fisher, M. Carrion-Vazquez, A. F. Oberhauser, H. Li, P. E. Marszalek, J. M. Fernandez, *Neuron* **2000**, *27*, 435.
- [410] A. F. Oberhauser, P. E. Marszalek, H. P. Erickson, J. M. Fernandez, *Nature* **1998**, *393*, 181.
- [411] D. Craig, A. Krammer, K. Schulten, V. Vogel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 5590.
- [412] M. Gao, D. Craig, V. Vogel, K. Schulten, *J. Mol. Biol.* **2002**, *323*, 939.
- [413] S. P. Ng, R. W. S. Rounsevell, A. Steward, C. D. Geierhaas, P. M. Williams, E. Paci, J. Clarke, *J. Mol. Biol.* **2005**, *350*, 776.
- [414] E. Klotzsch, M. L. Smith, K. E. Kubow, S. Muntwyler, W. C. Little, F. Beyeler, D. Gourdon, B. J. Nelson, V. Vogel, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 18267.
- [415] K. A. Walther, F. Gräter, L. Dougan, C. L. Badilla, B. J. Berne, J. M. Fernandez, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 7916.
- [416] M. Gao, D. Craig, O. Lequin, I. D. Campbell, V. Vogel, K. Schulten, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 14784.
- [417] A. E. X. Brown, R. I. Litvinov, D. E. Discher, P. K. Purohit, J. W. Weisel, *Science* **2009**, *325*, 741.
- [418] W. Liu, L. M. Jawerth, E. A. Sparks, M. R. Falvo, R. R. Hantgan, R. Superfine, S. T. Lord, M. Guthold, *Science* **2006**, *313*, 634.
- [419] C. M. Kielty, C. Baldock, D. Lee, M. J. Rock, J. L. Ashworth, C. A. Shuttleworth, *Philos. Trans. R. Soc., London, Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B* **2002**, *357*, 207.
- [420] M. Rief, J. Pascual, M. Saraste, H. E. Gaub, *J. Mol. Biol.* **1999**, *286*, 553.
- [421] H. Li, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 2643.
- [422] Y. Cao, H. Li, *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 109.
- [423] Y. Cao, T. Yoo, H. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 11152.
- [424] Y. Cao, H. Li, *Chem. Commun.* **2008**, 4144.
- [425] S. Lv, D. M. Dudek, Y. Cao, M. M. Balamurali, J. Gosline, H. Li, *Nature* **2010**, *465*, 69.
- [426] D. L. Guzman, A. Randall, P. Baldi, Z. Guan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 1989.
- [427] *Comprehensive Polymer Science: The Synthesis Characterization, Reactions, and Applications of Polymers*, Vol. 2 (Eds.: C. Booth, C. Price), Pergamon, New York, **1989**.
- [428] Z. Guan, J. T. Roland, J. Z. Bai, S. X. Ma, T. M. McIntire, M. Nguyen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2058.
- [429] Z. Guan, *Polym. Int.* **2007**, *56*, 467.
- [430] R. P. Sijbesma, F. H. Beijer, L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, J. H. K. K. Hirschberg, R. F. M. Lange, J. K. L. Lowe, E. W. Meijer, *Science* **1997**, *278*, 1601.
- [431] H. Ohkawa, G. B. W. L. Ligthart, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Macromolecules* **2007**, *40*, 1453.
- [432] K. Yamauchi, J. R. Lizotte, T. E. Long, *Macromolecules* **2003**, *36*, 1083.
- [433] C. L. Elkins, T. Park, M. G. McKee, T. E. Long, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, *43*, 4618.
- [434] T. Park, S. C. Zimmerman, S. Nakashima, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6520.

- [435] J. T. Roland, Z. Guan, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14328.
 [436] Z. R. Guan, J. T. Roland, J. Z. Bai, X. S. Ma, T. M. McIntire, M. Nguyen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2058.
 [437] D. Zhang, C. Ortiz, *Macromolecules* **2004**, *37*, 4271.
 [438] B. Y. Gong, Y. Yan, H. Q. Zeng, E. Skrzypczak-Jankunn, Y. W. Kim, J. Zhu, H. Ickes, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5607.
 [439] D. L. Guzmán, J. T. Roland, H. Keer, Y. P. Kong, T. Ritz, A. Yee, Z. Guan, *Polymer* **2008**, *49*, 3892.
 [440] A. M. Kushner, J. D. Vossler, G. A. Williams, Z. Guan, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8766.
 [441] S. L. Potisek, D. A. Davis, N. R. Sottos, S. R. White, J. S. Moore, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 13808.
 [442] A. M. Kushner, V. Gabuchian, E. G. Johnson, Z. Guan, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14110.
 [443] D. W. P. M. Löwik, E. H. P. Leunissen, M. van den Heuvel, M. B. Hansen, J. C. M. van Hest, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 3394.
 [444] H. G. Börner, *Prog. Polym. Sci.* **2009**, *34*, 811.

Neugierig?

Sachbücher von  WILEY-VCH

GERHARD GOTTSCHALK

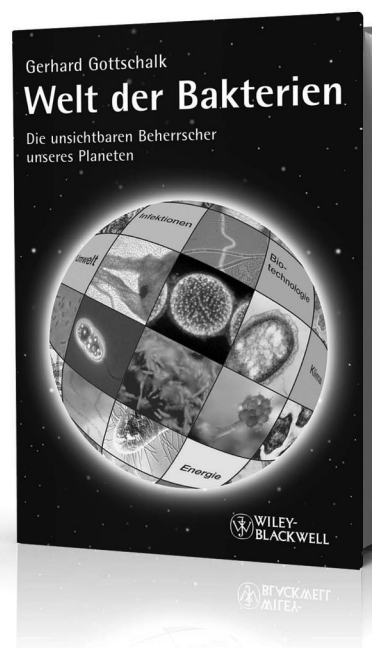
Welt der Bakterien**Die unsichtbaren Beherrscher
unseres Planeten**

ISBN: 978-3527-32520-7

April 2009 274 S. mit 75 Abb., davon
49 in Farbe Broschur € 24,90

Gerhard Gottschalks Buch gibt überraschende Einblicke in die erstaunliche Welt der Bakterien. Diese Mikroorganismen haben unsere Erde in einem Ausmaß verändert, wie keine andere Lebensform und sie zu dem Planeten gemacht, auf dem wir leben können. Jedoch haben Bakterien auch ihre „schlechten“ Seiten: Sie verursachen Krankheiten und produzieren die stärksten Gifte, die es überhaupt gibt.

Was Sie schon immer über Bakterien wissen wollten und nie zu fragen wagten; was es an faszinierenden Leistungen dieser Kleinstlebewesen zu bestaunen gibt, das beschreibt einer der bekanntesten Mikrobiologen unserer Zeit.



532550908_bu

 WILEY-VCH

Wiley-VCH • Tel. +49 (0) 62 01-606-400 • Fax +49 (0) 62 01-606-184 • E-Mail: service@wiley-vch.de

www.wiley-vch.de/sachbuch