

## Strategien der Natur als Vorbild für nachhaltige Biomaterialien

# Der „Sekundenkleber“ der Stummelfüßer

ALEXANDER BAER | IVO DE SENA OLIVEIRA | STEPHAN SCHMIDT |  
MATTHEW J. HARRINGTON | GEORG MAYER

**ABB. 1** Stummelfüßer (Onychophora). Unsere „Modellart“ *Euperipatoides rowelli* (Peripatopsidae) stammt aus Australien.

*Wie kommt es dazu, dass sich eine Flüssigkeit plötzlich in einen zugfesten und klebrigen Faden verwandelt? Antworten hierauf liefern die Einblicke in die molekularen Mechanismen und kleinsten Strukturen des Beutefangsekrets der Stummelfüßer. Potenzial haben diese Erkenntnisse für die Produktion „intelligenter“ Polymermaterialien.*

Die Menschen sind mehr denn je auf der Suche nach neuen Materialien, die vor allem perfekt für spezielle Anwendungen optimiert werden können und gleichzeitig die Ressourcen unseres Planeten schonen. Eine wahre Fundgrube ist dabei die Natur, die durch die Evolution über Millionen von Jahren Strategien für die unglaublichsten Anforderungen gefunden hat [1]. Die Entdeckung und Erforschung dieser natürlichen Mechanismen erfährt daher einen großen Aufschwung und hat in den vergangenen Jahren zu ungeahnten Möglichkeiten der Materialentwicklung geführt. Mittlerweile ist man imstande, die Prinzipien, welche die Spinnenseide zu einem der robustesten

und gleichzeitig leichtesten Materialien machen, für kugelsichere Westen und Jacken für Extrembedingungen zu nutzen – eine beginnende Revolution in der Kunststoff-Branche. Obwohl sich diese noch in ihren Anfängen befindet (siehe z. B. bereits eingeführte Namen wie AMSilk Biosteel®, Spiber®, Bolt Threads), wurden diese Fortschritte erst durch biologische Grundlagenforschung und Biotechnologie ermöglicht. Ähnliche Erfolge sind bei der Erforschung der Haftfäden der Muscheln abzusehen, die eine enorme Reißfestigkeit, hohe Klebfähigkeit in Wasser und sogar die Fähigkeit zur Selbstheilung besitzen [2]. Um diese Eigenschaften auch mit synthetischen Materialien zu realisieren, werden die molekularen Mechanismen der natürlichen proteinbasierten Materialien weiter erforscht. Diese Entwicklung verspricht auch einen Weg in Richtung erdöl-unabhängiger und ressourcenschonender Produktion von speziellen sowie alltäglichen Materialien. Noch sind die naturinspirierten Materialien nur unter hohem technischen Aufwand und beachtlichen Kosten zu produzieren. Daher suchen Wissenschaftler immer weiter nach Ideen aus der Natur, um die Synthese biologischer Hochleistungspolymere zu vereinfachen [3, 4]. Ein vielversprechendes Vorbild dafür könnte das Beutefangsekret der Stummelfüßer (Onychophora, Abbildung 1) sein, das seit 2012 eingehend erforscht wird.

*This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.*

## Die Jagd- und Abwehrstrategie der Stummelfüßer

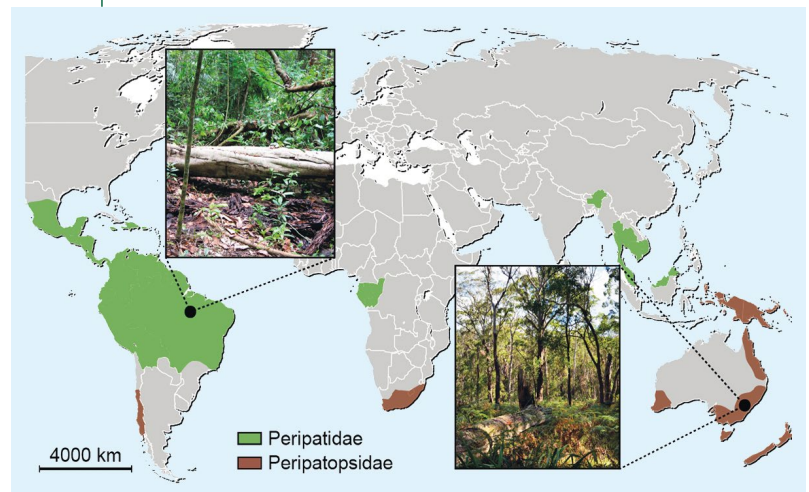
Die Stummelfüßer bilden eine eigenständige, stammesgeschichtlich sehr alte Gruppe von weichhäutigen, wirbellosen Tieren, die hauptsächlich in den Wäldern der südlichen Hemisphäre unserer Erde vorkommen (Abbildung 2). Dort leben sie in feuchten Lebensräumen, verborgen in verrotteten Baumstämmen oder in der Spreuschicht [5, 6]. Derzeit gibt es knapp über 200 beschriebene Arten, aber vor allem in Brasilien werden viele noch unbekannte Arten vermutet. Die äußere Gestalt dieser 0,5 bis 22 cm großen Tiere ist recht einheitlich. Doch auf den zweiten Blick haben sie eine Vielzahl an Anpassungen an ihre unterschiedlichen ökologischen Gegebenheiten entwickelt, ob im tropischen Regenwald des Amazonas oder im gemäßigten Eukalyptuswald Australiens [7]. Die markantesten Unterschiede treten zwischen den beiden Großgruppen der Stummelfüßer auf, welche entweder die südlicheren gemäßigten (Peripatopsidae) oder die nördlicheren tropischen Breiten (Peripatidae) der Südhalbkugel bewohnen (Abbildung 2).

Dennoch ist allen Arten eine Strategie gemeinsam, die sich vermutlich vor über 380 Millionen Jahren entwickelt hat. Sie nutzen zum Beutefang und zur Verteidigung ein stark klebriges und Fäden ziehendes Sekret, das durch zwei modifizierte Kopftremitäten kraftvoll auf Beute oder Angreifer geschossen wird (Abbildungen 3a–c und 4a, b). Das Opfer verfängt sich in dem sekundenkleberartigen Schleim, welcher augenblicklich reißfeste, klebrige Fäden bildet. Je mehr es versucht, sich zu befreien, desto fester werden diese Fäden (Abbildung 3c). Selbst für Beutetiere, die größer als die Stummelfüßer selbst sind, gibt es dann kein Entkommen mehr. Üblicherweise stehen auf dem Speiseplan Heimchen, Schaben, Asseln, Hundertfüßer und andere Gliederfüßer inklusive großer Spinnen [6]. Sobald die Beute fixiert ist, reißt der Räuber die Körperhülle mit seinen kräftigen Kiefern auf und injiziert einen Cocktail aus Enzymen, welche das Innere der Beute verdauen. Der Stummelfüßer saugt dann die flüssige Nahrung aus, ähnlich wie es bei den Spinnen zu beobachten ist [5]. Die großen Mengen an versprühtem Beutefangsekret sind für die Tiere sehr wertvoll. Um die Proteinbausteine wiederzuverwenden, wird der Schleim beim Verzehr der Beute mitgefressen [6].

## Der „Sekundenkleber“ und die Verwandlung zur robusten Faser

Gebildet wird der Schleim in zwei riesigen Drüsen, die den gesamten Körper des Stummelfüßers durchziehen (Abbildung 4c). Zwei von Spiralmuskeln umwundene Reservoirs speichern die einzigartige Flüssigkeit für den gewaltigen Ausstoß, bei dem die gesamte Muskulatur des vorderen Körperteils und des Reservoirs kontrahiert (Abbildung 4d) [8]. Die Klebeeigenschaften dieses Stoffes sind nahezu universell. Nicht nur an allen möglichen Oberflächen in den natürlichen Lebensräumen haftet die-

ABB. 2 | VERBREITUNG DER STUMMELFÜßER



ser Kleber bei mechanischer Beanspruchung zuverlässig, sondern auch unter Wasser und selbst an stark wasserabweisenden Oberflächen wie dem Teflon® [9].

Interessanterweise ist der Kontakt mit ihrem eigenen Sekret für die Stummelfüßer nicht problematisch. Der Schleim haftet nämlich an anderen Oberflächen wesentlich effektiver als an ihrer eigenen Haut. Das liegt, soweit bislang bekannt, an den einzigartigen Mikrostrukturen der Stummelfüßerhaut, welche ähnlich wie der Lotuseffekt funktionieren (Abbildung 4e). Viele mikroskopisch kleine Erhebungen auf den Schuppen der Hautpapillen verhindern die effektive Benetzung der Haut, so dass die Tiere den Schleim leicht abstreifen können (Abbildung 4f). Wenn auf den Schleim allerdings Druck ausgeübt oder daran gezogen wird, verwandelt sich der zuvor flüssige Kleber urplötzlich in robuste, aber dennoch elastische Fasern (Abbildung 5a, b) [10]. Diese Fasern sind enorm belastbar. Der Elastizitätsmodul beschreibt eben diese Zugfestigkeit und liegt bei den getrockneten Fasern bei 4 GPa [10], ein bemerkenswert hoher Wert für eine biologische Faser, welcher mit dem von synthetischem Nylon®

**Gezeigt sind weltweite Verbreitung und typische Habitate der beiden Großgruppen der Onychophoren.**

Bild verändert aus [7], © 2014 Blackwell Verlag GmbH.

## IN KÜRZE

- Der biologische Sekundenkleber der Stummelfüßer dient in der Natur zur Jagd und Verteidigung, indem Beute sowie Feinde mit klebrigen und **enorm belastbaren Fasern** fixiert werden.
- Das proteinreiche Sekret ist zuerst flüssig, verwandelt sich aber augenblicklich in reißfeste Fasern, sobald daran gezogen wird. Die Bausteine der Fasern lassen sich **mit Hilfe von Wasser rückgewinnen**.
- Grundlage der Eigenschaften des Klebers ist die Faltung und Zusammenlagerung der Proteine in nanoskopisch kleine Speicherpartikel, welche **durch mechanische Belastung verschmelzen** und sich durch Entspannung wieder neu bilden.
- Auf molekularer Ebene bewirken **elektrostatische Wechselwirkungen** zwischen geladenen Proteinarealen und Ionen sowohl die selbständige Partikelbildung (Koazervation), als auch die Verschmelzung zur Faser.
- Diese Art der natürlichen Faserbildung wird zukünftig als Vorbild für die **nachhaltige Synthese von intelligenten Biomaterialien** von großem Nutzen sein.





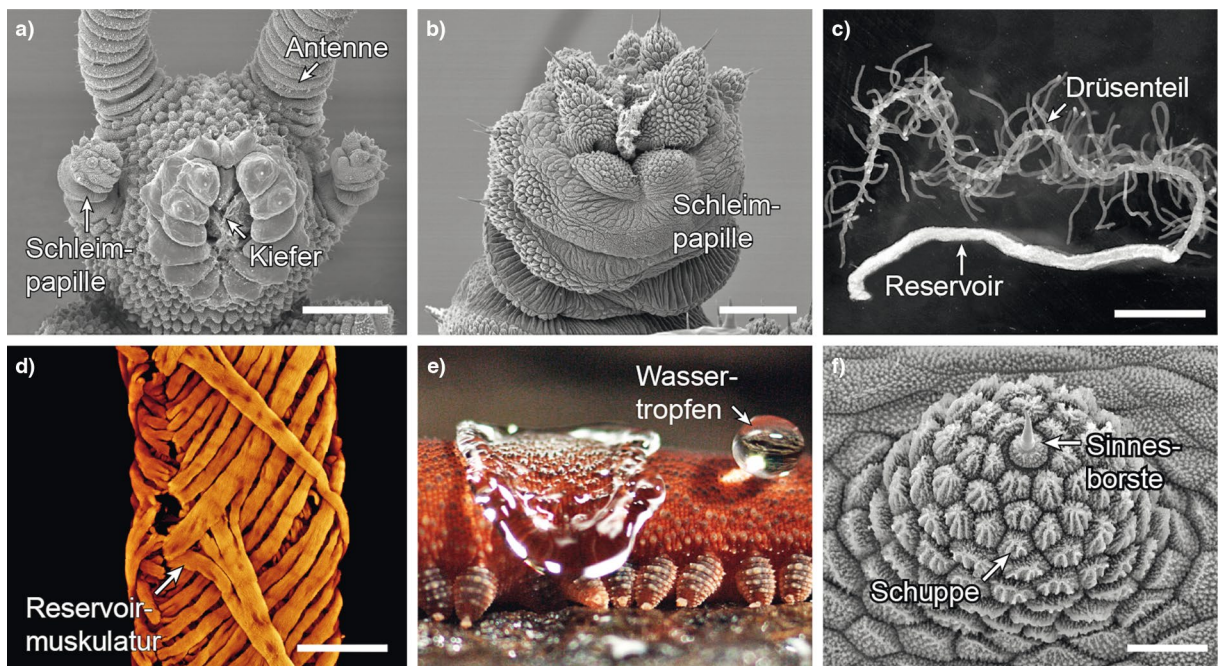
**ABB. 3** Beutefangmechanismus der Stummelfüßer. a) Schleim ausstoßendes Exemplar von *Principapillatus hitoyensis* (Peripatidae) aus Costa Rica. b) Netz aus zugfesten klebrigen Fäden. c) Schleimfäden fixieren die Beute (in diesem Fall ein Heimchen) am Untergrund. Bild a aus [5], © 2019 The Society for Integrative and Comparative Biology.

vergleichbar ist. Lediglich die Spinnenseide, die zugfester als Stahl ist, erreicht einen doppelt so hohen Wert [11]. Im Gegensatz zur Spinnenseide lässt sich diese aus dem flüssigen Sekret der Stummelfüßer geformte Faser innerhalb weniger Stunden vollkommen in Wasser auflösen. Faszinierend hierbei ist, dass sich aus der Lösung dieser zergangenen Fasern nach Aufkonzentrierung erneut funktionsfähige Fasern ziehen lassen (Abbildung 5g) [10].

Besonders relevant für die Wissenschaft sind vor allem zwei Eigenschaften des Schleims: einerseits die Geschwindigkeit, mit der aus einer Flüssigkeit ein stark belastbarer Feststoff gezogen werden kann, der vollständig regenerierbar ist, und andererseits, dass dieser Prozess lediglich durch einen mechanischen Stimulus außerhalb des tierischen Körpers und daher frei von jeglichem regulatorischen Eingriff stattfindet [10]. Welche Mechanismen sind wohl die Grundlage eines derartigen Transformationsprozesses? Die Beantwortung dieser Frage führt uns auf die Ebene der Nanostruktur und Wechselwirkungen der Moleküle in diesem ungewöhnlichen biologischen Sekundenkleber.

### Die Zusammensetzung und Nanostruktur des Fang- und Abwehrsekrets

Erste biochemische Analysen ergaben, dass der Schleim aus durchschnittlich 90 Prozent Wasser besteht. Die restlichen 10 Prozent sind Trockensubstanz und setzen sich zur Hälfte aus Proteinen sowie freien Aminosäuren (Bausteinen der Proteine) zusammen. Nur geringfügig sind



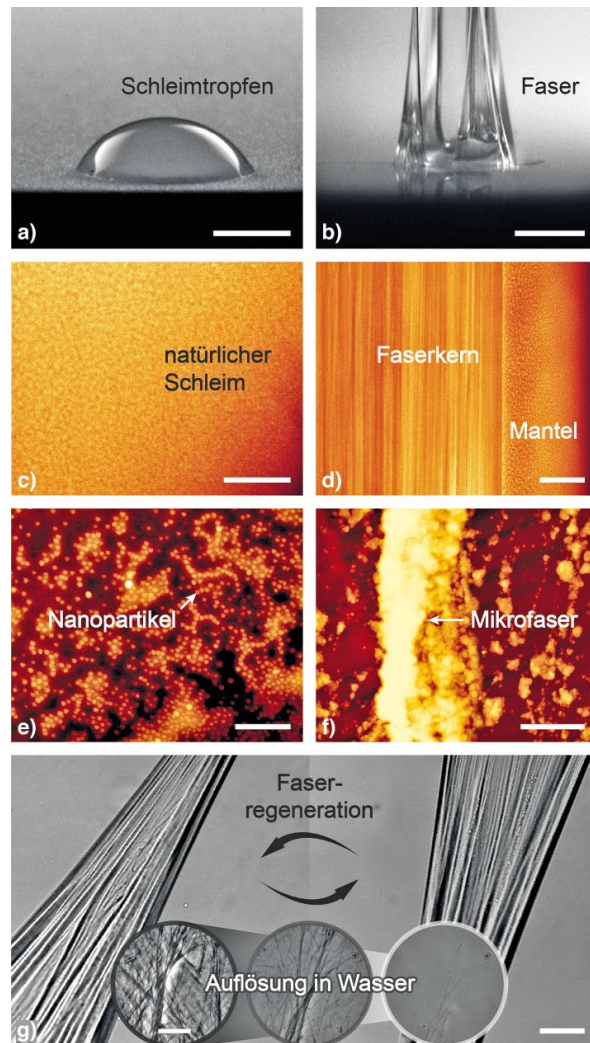
**ABB. 4** a) Elektronenmikroskopische Aufnahme des Kopfes mit seinen Schleimpapillen links und rechts von der Mundöffnung mit Kiefern. b) Detailaufnahme einer Schleimpapille. c) Herauspräparierte Schleimdrüse mit verzweigtem Drüsenteil und Reservoir zur Aufbewahrung des Sekrets. d) Dreischichtige Muskulatur der Wand des Reservoirs. e) Wasserabweisender Effekt der Haut eines Stummelfüßers. f) Hautpapille mit sensorischer Borste und zahlreichen Schuppen mit Feinstrukturen, die für die wasserabweisende Eigenschaft der Haut verantwortlich sind. Maßstab: a) = 500 µm, b) = 100 µm, c) = 4 mm, d) = 150 µm, f) = 20 µm. Bilder c und d aus [8], © 2012 Wiley Periodicals, Inc.



Fette und Zucker enthalten [9, 12, 13]. Die Proteine lassen sich in zwei Größenklassen einteilen. Am häufigsten sind sehr große Proteine im Bereich von 200–300 kDa. Artübergreifende Analysen der Schleimproteine zeigen, dass die großen Proteine zwischenartlich weitestgehend konserviert sind. Das bedeutet, dass es lediglich geringe Größenunterschiede zwischen den stammesgeschichtlich entfernt verwandten Arten gibt [7]. Hier ist also anzunehmen, dass die großen Proteine über die gesamte Stammesgeschichte der Stummelfüßer hinweg eine wichtige Funktion erfüllten und dies immer noch tun. Die kleineren Proteine im Schleim sind hingegen selbst zwischen nah verwandten Arten hoch variabel und beinhalten sogar stammesgeschichtliche Informationen, anhand derer eine Rekonstruktion der Verwandtschaftsverhältnisse möglich ist [7]. Die Schleimproteine bestehen zu einem Großteil aus gegensätzlich geladenen Aminosäuren (Aspartat, Glutamat, Lysin, Histidin) und Prolin. Im Sekret liegen Aminosäuren auch in freier Form vor (Glycin, Aspartat und Glutamat). Eine Elementanalyse ergab zudem, dass Phosphor, Calcium, Magnesium, Natrium und Kalium, welche nicht Bestandteil der Proteine sind, hochkonzentriert im Sekret vorliegen [9]. Es ist also davon auszugehen, dass diese Elemente gebunden oder als freie Ionen ebenfalls wichtige Funktionen im Schleim erfüllen.

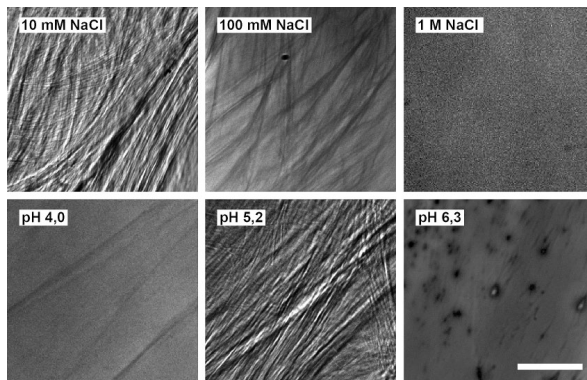
Doch um zu verstehen, welcher Mechanismus zu welchem Zeitpunkt des Transformationsprozesses von flüssig zu fest dominiert, wird Klarheit über die strukturellen Veränderungen bei der Bildung der Fasern aus dem Sekret benötigt. Verschiedene Methoden haben übereinstimmend ergeben, dass die Schleimproteine im natürlichen Sekret in Nanopartikeln der Größenordnung von 100 nm organisiert sind (Abbildung 5c, e) [10]. Überraschend und unüblich für einen Naturstoff ist dabei, dass diese Nanokügelchen uniform und nahezu gleich groß sind. Dicht an dicht gepackt schwimmen diese kleinen Proteinspeicher in der wässrigen Lösung. Doch damit aus dieser Flüssigkeit ein reißfester Faden werden kann, müssen sich die Faserbausteine miteinander verbinden. Dies geschieht, wenn Kompression und Scherkräfte die Abstoßungsbarrieren der Nanopartikel überwinden. Folglich entsteht erst ein festes Gel, welches dann durch weiteres Ziehen stärker zu einer Proteinfaser verdichtet wird (Abbildung 5d, f) [10]. Die Verdrängung von Wasser und noch nicht aggregiertem Restmaterial in die Peripherie der Faser scheint dabei eine Rolle zu spielen.

Genauere Untersuchungen der Makrostruktur der Fasern zeigen, dass sich beim Bildungsprozess Proteine zum zugfesten Faserkern verdichten und dass das übriggebliebene Material eine stark klebrige Ummantelung bildet (Abbildung 5c, d) [10]. Der Mantel enthält höchstwahrscheinlich noch ausreichend Faserbausteine, denn aus diesem klebrigen Material können weitere Fasern gezogen werden. Die Verbindung der Proteinbausteine im Faserkern ist allerdings nur stabil, solange Wasser aus dem System verbannt bleibt. Es wurde festgestellt, dass Wasser einen Auf-



**ABB. 5** Makro- und Nanostruktur im Faserbildungsprozess. **a)** Tropfen des natürlichen Sekrets. **b)** Schleimfäden nach mechanischer Einwirkung. **c)** Makrostruktur des unberührten Schleims. **d)** Makrostruktur nach der Transformation zur Faser. Der zugfeste Faserkern ist von einem klebrigen Mantel umgeben. **e)** Nanostruktur des natürlichen Sekrets. Proteine sind in Nanopartikeln organisiert. **f)** Die Nanopartikel aggregieren und bilden Fasern, wenn an dem Material gezogen wird. **g)** Die Fasern lassen sich im Wasser auflösen. Aus dieser Lösung lassen sich neue Fasern ziehen. Der gesamte Prozess der Faserbildung ist daher regenerierbar. Maßstab: **a, b)** = 500  $\mu\text{m}$ ; **c, d)** = 10  $\mu\text{m}$ ; **e, f)** = 1  $\mu\text{m}$ ; **g)** = 25  $\mu\text{m}$ . Alle Bilder verändert aus [10], Creative Commons (CC).

lösungseffekt auf die Bindungen zwischen den Eiweißmolekülen hat. Darüber hinaus wurde sogar nachgewiesen, dass sich die Proteine selbstständig wieder zu den ursprünglichen Nanopartikeln zusammenfinden [9]. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass die Bindungen zwischen den beteiligten Molekülen nicht fest (also nicht-kovalent) sind. Daraus resultiert ein hochdynamischer Prozess außerhalb des tierischen Körpers unter Umgebungsbedingungen, bei dem ein und derselbe Ausgangsstoff umkehrbar zwei verschiedene Zustände annehmen



**ABB. 6 Faserbildung bei veränderter Ionenstärke und pH-Wert. Oben: Effekt erhöhter Salzkonzentration auf die Faserbildung. Ab 100 mM NaCl ist die Faserbildung eingeschränkt. Bei 1 M NaCl sind sämtliche Ladungen abgeschirmt, so dass keine Faserbildung mehr möglich ist. Unten: Effekt von verändertem pH-Wert auf die Faserbildung. Nur bei physiologischem pH 5,2 können Fasern gebildet werden. Bereits bei einer Abweichung um  $\pm 1$  ist die Faserbildung nicht mehr zu beobachten.** Bilder nachgedruckt mit Erlaubnis von [9], © 2018 American Chemical Society. Maßstab: 20  $\mu\text{m}$ .

kann. Die „Anleitung“ für die Aggregation zu festen Fasern, deren Auflösung in Wasser und die Wiederauslagerung der Proteine zu Nanopartikeln wird jedoch nicht von außen vorgegeben; sie scheint vielmehr in den Molekülen selbst „einprogrammiert“ zu sein. Dadurch hebt sich der Faserbildungsprozess der Stummelfüßer von demjenigen anderer Organismen ab, wie z. B. Spinnen oder Muscheln, bei welchem der pH-Wert, die Salzkonzentration und die Zusammensetzung des Ausgangsstoffs vom Organismus präzise reguliert und genau angepasst wird [2]. Für uns stellt sich daraus die entscheidende Frage: Durch welche Wechselwirkungen zwischen den Molekülen im Stummelfüßer-Sekret werden diese komplexen Vorgänge ermöglicht?

### Faserbildung durch elektrostatische Wechselwirkungen

Einen ersten Hinweis auf die Art der Wechselwirkungen liefern Experimente, in denen die Faserbildung bei veränderter Ionenstärke und verändertem pH-Wert untersucht wurde. Die Änderung der Ionenstärke, beispielsweise durch die Zugabe von Kochsalz, hat vor allem einen großen Effekt auf positiv und negativ geladene Molekülreste in einem sol-

chen wässrigen System. Natrium- und Chlorid-Ionen sind in der Lage, die Ladungen abzuschirmen und damit unwirksam zu machen. Im natürlichen Schleim lassen sich zuverlässig und unkompliziert Fasern bilden, indem man mit einem Stäbchen durch die Flüssigkeit fährt. Bei einer Erhöhung der Salzkonzentration ist die Faserbildung erst stark beeinträchtigt und bald nicht mehr nachweisbar (Abbildung 6) [9]. Einen noch drastischeren Effekt auf die Faserbildung hat die Änderung des pH-Wertes. Die Ladung von Molekülen ist grundsätzlich abhängig vom umgebenden pH-Wert: So ist z. B. die Aminosäure Histidin bei pH 5,0 positiv geladen und bei pH 8,0 negativ. Im Schleim können bereits bei einer Abweichung vom physiologischen pH-Wert von 5,2 um  $\pm 1,0$  keine Fasern mehr gebildet werden (Abbildung 6). Daraus folgt, dass die Faserbildung stark von den Ladungsverhältnissen der beteiligten Moleküle abhängt.

Ein tieferes Verständnis der Funktionsweise ist möglich, wenn diese Effekte auf der Ebene der Nanopartikel betrachtet werden. Üblicherweise ist der natürliche Schleim leicht trüb und schimmert gelb bis rötlich, wenn Licht hindurchfällt. Im alltäglichen Leben ist dieser sogenannte Tyndall-Effekt wahrnehmbar, wenn zum Beispiel Sonnenstrahlen in den nebeligen Wald fallen. Winzig kleine Wassertröpfchen reflektieren das Licht und machen die Sonnenstrahlen dadurch sichtbar. Bei der Erhöhung der Salzkonzentration im Schleim verschwindet der Tyndall-Effekt Schritt für Schritt, was darauf hinweist, dass sich die Partikelanzahl in der Lösung verringert. Analytische Methoden bestätigen diese Annahme und zeigen darüber hinaus, dass die Nanopartikel von  $\sim 100$  nm Durchmesser in ihre kleineren Bausteine zerfallen, wodurch die Lösung klarer wird (Abbildung 7a, b) [9]. Änderungen des pH-Wertes hingegen haben einen deutlichen Einfluss auf die Größe und Homogenität der Partikel. Am kleinsten sind die Nanopartikel beim natürlichen pH-Wert von 5,2. Davon abweichend werden die Partikel vor allem bei höheren pH-Werten immer größer und weniger einheitlich, bis hin zum Verlust der partikulären Form. Bei pH 7,0 sind nur noch große, geradezu undefinierbare Aggregate zu sehen (Abbildung 7c). Messungen der Oberflächenladung der Partikel bei unterschiedlichem pH-Wert stützen und ergänzen diese Befunde. Im natürlichen Sekret sind die Partikel nach außen hin mit +13 mV leicht positiv geladen. Je mehr sich der pH-Wert in den basischen Bereich verschiebt, desto geringer wird die Oberflächenladung, bis bei pH 7,1 der isoelektrische Punkt erreicht ist, bei welchem sämtliche Oberflächenladungen im System ausgeglichen sind und ladungsbedingte Abstoßungen nicht mehr stattfinden können. An diesem Punkt vereinen sich die Nanopartikel zu undefinierten Aggregaten (Abbildung 7d) [9]. All das weist darauf hin, dass die Stabilisierung der Nanopartikel und damit die Faserbildung auf elektrostatischen Wechselwirkungen der Bausteine untereinander beruht.

### Speicherung der Faserbausteine

Die Ladungen im Schleim sorgen also als Voraussetzung für die Bildung von zugfesten Fasern dafür, dass sich die Pro-

## METHODEN ZUR STRUKTURANALYSE

Weitwinkel-Röntgenbeugung und Infrarotspektroskopie sind Methoden zur Analyse der räumlichen Struktur von Proteinen. Bei der Weitwinkel-Röntgenbeugung wird Röntgenstrahlung an den geordneten Strukturen von Proteinen gebeugt und klärt damit auf, ob kristalline Bestandteile vorliegen und wie diese aufgebaut sind. Bei der Infrarotspektroskopie nimmt die Probe Strahlung aus dem infraroten Bereich auf. Die Moleküle werden dadurch in mechanische Schwingungen gebracht. Die Auswertung dieser Schwingungen liefert Informationen über die molekulare Struktur.

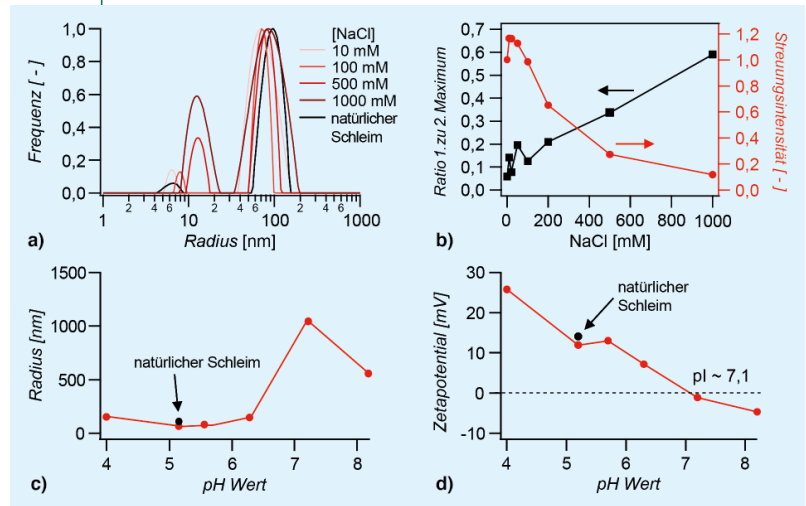
teine zu Nanopartikeln zusammenlagern (Koazervation) und stabilisieren. Kurz gesagt: ohne Partikel, keine Fasern. Diese Art von Entmischung oder auch Flüssig-Flüssig-Phasentrennung unterschiedlicher Moleküle aufgrund von gegensätzlichen Ladungen ist keineswegs eine Erfindung der Stummelfüßer. Besonders innerhalb von Zellen, in welchen verschiedenste Reaktionen im Zellplasma voneinander getrennt ablaufen müssen, beobachten Forscher zunehmend diese Art von räumlicher Separation [14]. Im Falle der Stummelfüßer dient diese Art der Phasentrennung zur separaten Speicherung der Bausteine, damit es nicht zur unkontrollierten Aggregation der hochreaktiven Einzelkomponenten kommt. Würden sich die gleichen Komponenten unkontrolliert miteinander verbinden, resultierte dies lediglich in einem zufälligen Proteinnetzwerk, das allerdings weit entfernt von einem stabilen und belastbaren Material wäre. Nur durch die Verschmelzung der Speicherpartikel unter Ausschluss von Wasser verbinden sich die Proteine perfekt zu dem zugfesten und robusten Kern der Faser. Es wurde noch ein weiterer Mechanismus identifiziert, welcher die vorzeitige Aggregation der Proteine verhindert und darüber hinaus die starken mechanischen Eigenschaften der Faser erklären könnte.

### Warum falten sich die Schleimproteine?

Die Proteine im natürlichen Schleim liegen wider Erwarten, statt lose und wirr geknäuel [13], in einer kompakt strukturierten Speicherform vor, den Beta-Faltblättern. Strukturanalytische Daten der Weitwinkel-Röntgenbeugung (WAXD) und Infrarotspektroskopie (Transmissions- und ATR-FTIR, siehe Kasten) zeigen, dass bestimmte Teile der Proteine eine Sekundärstruktur in Form einer gitterartigen Faltung besitzen, welche den Proteinmolekülen in sich eine enorme Zugfestigkeit verleiht, wie es bei der Spinnenseide nachgewiesen wurde [3, 11, 15]. Die restlichen Teile sind unstrukturiert, was die dehnbaren Eigenschaften der Proteinmoleküle und damit auch der Faser erklären könnte [13, 15]. Doch diese Proteinstruktur verändert sich während des Faserbildungsprozesses. Im Schleim der Stummelfüßer geht die Bildung der Fasern mit der teilweisen Entfaltung der Beta-Faltblätter einher. Auch wenn der exakte Mechanismus noch unbekannt ist, wird vermutet, dass durch die Scherkräfte während der Faserbildung die zuvor verborgenen Bindungsstellen frei werden, welche die Vernetzung mit anderen Molekülen erst ermöglichen. Weitaus mehr Proteinmoleküle können sich dadurch über elektrostatische Wechselwirkungen vernetzen, und die Belastbarkeit der Faser wird erhöht [15].

Offen bleibt hingegen noch die Frage, zwischen welchen Komponenten im Schleim diese elektrostatischen Wechselwirkungen auftreten. Erste Hinweise jedoch lassen vermuten, dass nicht nur die gegensätzlichen Ladungen der Proteine selbst interagieren. Die Proteine besitzen einen hohen Anteil an der Aminosäure Prolin, welche dafür bekannt ist, die Faltungen der Proteine einzuschränken. An dieser Stelle könnten Phosphatmodifikationen der Proteine

**ABB. 7 NANOPARTIKEL BEI VERÄNDERTER IONENSTÄRKE UND PH-WERT**



**a) Analyseergebnisse der Dynamischen Lichtstreuung (DLS) zeigen Nanopartikel mit einem hydrodynamischen Radius von 70 nm (entspricht einem Durchmesser von ~100 nm) und kleinere Aggregate freier Proteine. Kochsalz bewirkt die Destabilisierung der großen Partikel; sie zerfallen in freie Proteine. b) Die generelle Streuungsintensität der Probe nimmt ab. Die Lösung wird klar. c) Die Nanopartikel sind am kleinsten bei einem pH-Wert von 5,2. Bei pH 7,2 verschmelzen die Partikel zu formlosen Aggregaten. d) Die Oberflächenladung der Nanopartikel ist leicht positiv. Je basischer der pH-Wert, desto geringer die Oberflächenladung. Am isoelektrischen Punkt (~7,1) sind alle Ladungen ausgeglichen. Die Partikel verschmelzen durch fehlende elektrostatische Abstoßung. Bilder nachgedruckt mit Erlaubnis von [9], © 2018 American Chemical Society.**

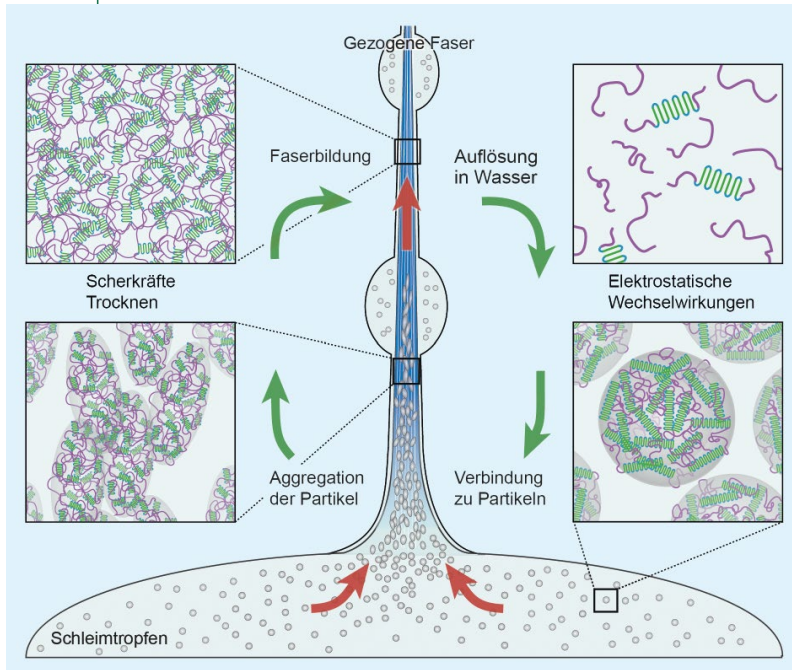
und freie Magnesium- und Calcium-Ionen eine entscheidende Rolle spielen. Proteine werden gebildet, indem die entsprechenden Gene im Erbgut abgelesen und nach dieser Anleitung Aminosäuren zu Proteinen zusammengebaut werden. Bei diesem Umschreibungsprozess vom Gen zum Schleimprotein werden Phosphatreste angefügt, welche eine stark negative Ladung aufweisen. Zusammen mit den positiv geladenen Magnesium- und Calcium-Ionen können so starke elektrostatische Wechselwirkungen innerhalb der Proteinmoleküle entstehen, obwohl sie viele strukturhemmende Proline beinhalten [9, 15]. Diese Art von nicht-fester Bindung hat einen großen Vorteil gegenüber starren und festen Bindungen zwischen Proteinarealen. Wenn durch starke ruckartige Belastung Bindungen reißen, kann nämlich an anderer Stelle über die Vermittlung der positiv geladenen Ionen eine neue, ebenso starke Bindung entstehen. Diese Eigenschaft macht die Fasern der Stummelfüßer zu einem selbstheilenden und erstaunlich dynamischen, „intelligenten“ Material [9, 10, 13, 15].

### Prinzipien der reversiblen Faserbildung

Der Sekundenkleber der Stummelfüßer basiert auf Proteinen mit gegensätzlich geladenen Arealen, welche sich durch die Vermittlung positiv geladener Ionen in Wasser phasenseparieren und zusätzlich durch Proteinfaltung zu Nanopartikeln zusammenlagern. Diese Speicherform ist



**ABB. 8 | REVERSIBLE FASERBILDUNG IM FANGSEKRET DER STUMMELFÜßER**



Gezeigt sind die Mechanismen der reversiblen Faserbildung durch Scherkräfte und Trocknen, sowie die selbstständige Partikelbildung aus freien Proteinen durch elektrostativen Wechselwirkungen (Flüssig-Flüssig-Phasentrennung, Koazervation). Rote Pfeile weisen in Richtung der aus dem Schleim gezogenen Faser. Grüne Pfeile markieren die reversiblen Vorgänge. Legende: Blaue Linien = Faserkern; violette Linien = unstrukturierte Proteinanteile; grüne Zickzacklinien = Beta-Faltblatt-Strukturen. Bilder zusammengestellt aus [10], Creative Commons (CC) und [15], © 2019 American Chemical Society.

die Grundlage für die Bildung robuster und hochbelastbarer Fasern. Lediglich ein mechanischer Reiz von außen initiiert den Aggregationsprozess und das Aufbrechen der Nanopartikel ohne weitere Regulation durch den tierischen Körper. Die aktivierten Proteine verdichten sich nun unter Ausschluss von Wasser zu einem festen Faserkern. Dabei entfalten sich die Proteine und gehen starke elektrostativen Bindungen untereinander ein. In Wasser lösen sich die Bindungen allerdings langsam wieder. Die nun gelösten Proteine falten, separieren und lagern sich erneut durch Umordnung der elektrostativen Wechselwirkungen zu den ursprünglichen Speicherpartikeln zusammen (Abbildung 8) [10, 15].

Diese Mechanismen beruhen im Wesentlichen auf physikalisch-chemischen Prinzipien. Mit einer weiteren, genauen Analyse dürften diese Prinzipien für die Synthese künstlicher Materialien nutzbar gemacht werden können. Revolutionär für die ökologisch verträgliche Anwendung, zum Beispiel als schnell härtender Kleber, ist die Eigenschaft des Schleims, zur Bildung fester Fasern gänzlich ohne den Einsatz giftiger Lösungsmittel auszukommen. Die Bildung der Fasern wird durch einen einfachen mechanischen Trigger ausgelöst, ohne weitere Änderungen der inneren und äußeren Bedingungen zu benötigen. An-

schließend können die Bausteine für die Faserbildung einfach durch Einwirken des „grünen“ Lösungsmittels Wasser zurückgewonnen werden. Mit dem Vorbild des Abwehr- und Beutefangsekrets der Stummelfüßer könnte daher ein neuer Weg für die Produktion polymerbasierter Materialien mit komplexen Funktionen, wie die Responsivität (Fähigkeit eines Systems auf einen Reiz von außen zu reagieren) und Reversibilität, geebnet sein.

### Zusammenfassung

Der biologische Sekundenkleber der Stummelfüßer ist eine Quelle der Inspiration für die nachhaltige Produktion „intelligenter“ polymerbasierter Materialien. In der Natur jagen die Stummelfüßer ihre Beute mit dem proteinreichen Sekret, welches in der Lage ist, enorm belastbare Fasern zu bilden. Die Anleitung für diese Transformation ist in den Bausteinen programmiert und läuft selbstständig ohne jegliche Regulation durch den tierischen Körper ab. Elektrostativen Wechselwirkungen zwischen geladenen Proteinarealen und Ionen bewirken die Faltung, Zusammenlagerung (Koazervation) und Stabilisierung der Bausteine in nanoskopisch kleine Speicherpartikel. Mechanische Einwirkung von außen löst den Umwandlungsprozess zu reißfesten Fasern aus. Die Speicherpartikel verschmelzen, die Proteine entfalten sich teilweise und gehen miteinander starke Bindungen ein. Die physikalisch-chemischen Prinzipien werden sich künftig extrahieren lassen und neue Wege der Biomaterialsynthese ermöglichen.

### Summary

#### Novel insights into the “superglue” of velvet worms

The biological “superglue” of velvet worms provides inspiration towards circular processing of advanced polymers. In nature, velvet worms employ a fluid, protein-rich secretion for hunting and defense, which forms rapidly into stiff fibers. The fluid-to-fiber transition occurs outside the body without regulations, indicating that the “instructions” for assembly are programmed into the protein building blocks. Electrostatic interactions between oppositely charged protein domains and free ions drive protein folding, self-organization (coacervation) and stabilization of the building blocks into nanoscale droplets. Yet, nanodroplets can be instantly transformed via simple mechanical stimulus as proteins partially unfold, merge together and form a strong network, which solidifies into a fiber. The mechanism is based on basic physico-chemical principles. Thus, by extracting these principles, new methods of synthesizing sustainable polymer-based materials can be developed.

### Schlagworte:

Onychophora, Stummelfüßer, Polymere, Proteine

### Danksagung

Wir danken Christine Martin für die Assistenz bei den Fotoaufnahmen. Unseren australischen Kollegen Noel N.Tait, Dave M. Rowell und Paul Sunnucks danken wir für ihre langjährige Unterstützung

mit ihrer Expertise sowie beim Sammeln im Feld. Unsere Erforschung der Schleimeigenschaften wäre ohne die Unterstützung zahlreicher weiterer Kolleginnen und Kollegen nicht möglich gewesen. Insbesondere bedanken wir uns für die erfolgreiche Zusammenarbeit bei Annette G. Beck-Sickinger, Max Steinhagen, Martin Schlegel, Michaela Eder, Sebastian Hänsch, Nils Horbelt, Marlies Nijmeisland, Santiago J. Garcia und Peter Fratzl.

## Literatur

- [1] P. Fratzl, Biomimetic materials research: What can we really learn from nature's structural materials? *Journal of the Royal Society, Interface*, 2007, 4, 637–642.
- [2] T. Priemel, et al., Rapid self-assembly of complex biomolecular architectures during mussel byssus biofabrication, *Nature Communications*, 2017, 8, 14539.
- [3] T. Lefèvre, M. Auger, Spider silk as a blueprint for greener materials: A review, *International Materials Reviews*, 2016, 61, 127–153.
- [4] J. von Byern, et al., Examples of bioadhesives for defence and predation, in: S.N. Gorb, E.V. Gorb (Eds.) *Functional Surfaces in Biology III: Diversity of the Physical Phenomena*, Springer International Publishing, Cham, 2017, pp. 141–191.
- [5] G. Mayer, et al., Capture of prey, feeding, and functional anatomy of the jaws in velvet worms (Onychophora), *Integrative and Comparative Biology*, 2015, 55, 217–227.
- [6] V.M.S. Read, R.N. Hughes, Feeding behavior and prey choice in *Macroperipatus torquatus* (Onychophora), *Proceedings of the Royal Society Series B, Biological Sciences*, 1987, 230, 483.
- [7] A. Baer, et al., Slime protein profiling: A non-invasive tool for species identification in Onychophora (velvet worms), *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2014, 52, 265–272.
- [8] A. Baer, G. Mayer, Comparative anatomy of slime glands in Onychophora (velvet worms), *Journal of Morphology*, 2012, 273, 1079–1088.
- [9] A. Baer, et al., Reversible supramolecular assembly of velvet worm adhesive fibers via electrostatic interactions of charged phosphoproteins, *Biomacromolecules*, 2018, 19, 4034–4043.
- [10] A. Baer, et al., Mechanoresponsive lipid-protein nanoglobules facilitate reversible fibre formation in velvet worm slime, *Nature Communications*, 2017, 8, 974.
- [11] A. Heidebrecht, et al., Biomimetic fibers made of recombinant spidroins with the same toughness as natural spider silk, *Advanced Materials*, 2015, 27, 2189–2194.
- [12] K. Benkendorff, et al., Characterisation of the slime gland secretion from the peripatus, *Euperipatoides kanangrensis* (Onychophora: Peripatopsidae), *Comparative Biochemistry and Physiology B, Biochemistry & Molecular Biology*, 1999, 124, 457–465.
- [13] V.S. Haritos, et al., Harnessing disorder: onychophorans use highly unstructured proteins, not silks, for prey capture, *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences*, 2010, 277, 3255–3263.
- [14] Y. Shin, C.P. Brangwynne, Liquid phase condensation in cell physiology and disease, *Science*, 2017, 357, eaaf4382.
- [15] A. Baer, et al., Shear-induced beta-crystallite unfolding in condensed phase nanodroplets promotes fiber formation in a biological adhesive, *ACS Nano*, 2019, 13, 4992–5001.

## Die Autoren:



Alexander Baer wurde 1987 in Leipzig geboren. An der Universität Leipzig schloss er sein Bachelor- und Master-Studium 2005–2011 in Biologie ab. 2012–2015 war er Stipendiat des „Transregionalen Sonderforschungsbereiches 67 für funktionelle Biomaterialien“ und wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Emmy-Noether-Gruppe von Georg Mayer an der Universität Leipzig. Seit 2016 ist er Doktorand in der Abteilung Zoologie an der Universität Kassel und untersucht die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Beutefangsekrets der Onychophoren für die Verwendung in der Produktion nachhaltiger Biomaterialien.



Ivo de Sena Oliveira wurde 1984 in Belo Horizonte (Brasilien) geboren. Nach seinem Bachelor-Studium 2002–2006 in Belo Horizonte und Master-Studium 2007–2009 in Rio de Janeiro zog er 2010 nach Deutschland um und schloss 2015 an der Universität Leipzig seine Promotion ab. 2010–2015 war er Promotionsstipendiat des Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq Brasil) und des Deutschen Akademischen Austauschdienstes (DAAD). Er ist seit 2015 als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung Zoologie an der Universität Kassel fest angestellt.



Stephan Schmidt wurde 1978 in Potsdam geboren. 2000–2005 studierte er Chemie und Polymerwissenschaften in Potsdam und Berlin. 2009 wurde er an der Universität Bayreuth am Institut für Physikalische Chemie promoviert. Nach seiner Zeit als Postdoc am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung und Fraunhofer IBMT in Potsdam begann er 2013 seine Karriere als unabhängiger Wissenschaftler an der Universität Leipzig. Seit 2016 hält er eine Juniorprofessur an der Universität Düsseldorf und untersucht dort Adhäsionsphänomene auf kolloidaler Ebene sowie schaltbare Polymermaterialien.



Matthew J. Harrington wurde 1980 in den USA geboren. Er wurde im Labor von J. Herbert Waite an der Universität von Kalifornien, Santa Barbara, promoviert. Nach seinem Postdoc als Humboldt-Stipendiat war er Gruppenleiter in der Abteilung für Biomaterialien am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung in Golm/Potsdam. Harrington hat seit 2017 den Canada Research Lehrstuhl für Green Chemistry und die Assistenzprofessur für Chemie an der McGill Universität, Montreal, inne. Seine Forschungsschwerpunkte liegen auf dem Zusammenhang zwischen biochemischer Struktur und Funktion, der Analyse der Bildung von polymerbasierten Materialien in der Natur sowie auf deren Nachahmung für die Produktion von nachhaltigen, intelligenten Materialien.



Georg Mayer wurde 1974 in Aktjubinsk (Kasachstan) geboren und immigrierte 1992 nach Deutschland. Nach dem Abitur in Münster und anschließendem Wehrdienst in Hamm und Ahlen (Westfalen) studierte er 1996–2001 Biologie in Bielefeld und schloss 2005 seine Promotion an der Freien Universität Berlin ab. 1999–2001 war er Stipendiat und 2002–2005 Promotionsstipendiat der Studienstiftung des deutschen Volkes. Mayer war bis Ende 2006 wissenschaftlicher Mitarbeiter (Postdoc) an der FU Berlin, 2007–2009 Forschungsstipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) an der University of Melbourne (Australien) und 2010–2015 Emmy-Noether-Gruppenleiter an der Universität Leipzig. Er lehrt seit 2015 Zoologie an der Universität Kassel.

## Korrespondenz

Prof. Dr. rer. nat. Georg Mayer  
Institut für Biologie – Fachgebiet Zoologie  
Universität Kassel  
Heinrich-Plett-Str. 40  
34132 Kassel  
Email: georg.mayer@uni-kassel.de