



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2005 008 102 A1** 2006.08.24

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2005 008 102.9**

(22) Anmeldetag: **21.02.2005**

(43) Offenlegungstag: **24.08.2006**

(51) Int Cl.⁸: **C07K 14/195** (2006.01)

C12N 15/31 (2006.01)

C12N 1/00 (2006.01)

(71) Anmelder:

Huber, Robert, Prof. Dr., 94405 Landau, DE

(72) Erfinder:

**Huber, Robert, Prof. Dr., 94405 Landau, DE;
Moissl, Christine, 84178 Kröning, DE**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

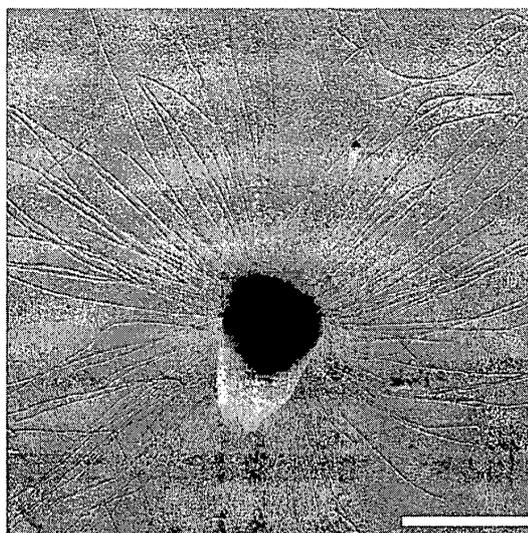
Der Inhalt dieser Schrift weicht von den am Anmeldetag eingereichten Unterlagen ab

(54) Bezeichnung: **Mikrobielles Nanowerkzeug**

(57) Zusammenfassung: Die Zelloberflächenstrukturen des natürlich vorkommenden, kälteliebenden SM1 Euryarchaeons besitzen eine außergewöhnlich hohe, bei Prokaryonten bisher nie entdeckte Komplexität mit einer genau definierten Basis-Spitze Organisation. Jedes Filament (Länge ca. 2 μm) zeigt eine stacheldrahtähnliche Morphologie und trägt einen dreizähligen, mit Widerhaken besetzten "Enterhaken" an seinem Ende (\varnothing : 60 nm). Aufgrund der offensichtlichen Neuheit dieser Nanostruktur wurde die Bezeichnung "Hamus" (lat. Haken, Widerhaken, Angel; plural: Hami) vorgeschlagen.

Neben der morphologischen Einzigartigkeit besitzen die Hami extreme Adhäsivität gegenüber Oberflächen unterschiedlichster chemischer Natur und weisen eine enorme Festigkeit gegenüber physikalischen Kräften auf. Die dreidimensionale Struktur ist extrem pH-(pH 0,5-11) und temperaturstabil (bis 70°C).

Das Hamus-Hauptprotein besteht aus einem 120 kDa-Protein, dessen zugehöriges Gen identifiziert wurde. Die Sequenz codiert für ein 40 kDa-Protein, was auf einen trimeren Charakter schließen lässt. Das 40 kDa-Protein wurde in einen Expressionsvektor kloniert und in *E. coli* exprimiert. Mit den Hami hat die Natur ein perfektes mechanisches Nano-Werkzeug geschaffen, welches aufgrund seiner außergewöhnlichen Eigenschaften für vielfältige Anwendungen interessant ist. Als mögliche Einsatzgebiete wären z. B. Anwendungen im Bereich Nano-Stacheldraht, Nano-Faden, Klebstoffe, Medizin (Wundverband; schneller Verschluss von Blutgefäßen), ...



Beschreibung

1. Einleitung

[0001] Nanostrukturen zeigen einzigartige physikalisch-chemische Eigenschaften, welche man sich für viele wichtige technologische Anwendungen zunutze machen kann (Roukes, 2002). Für die Nanotechnologie ist das Synthetisieren solcher nanostrukturierter Oberflächen von grundlegender Bedeutung. Dabei werden die komplexesten funktionalen Strukturen im Nanomaßstab effizient von Biomolekülen in biologischen Systemen gebildet, besonders von Nukleinsäuren, Polysacchariden und Proteinen. Vorwiegend Mikroorganismen besitzen neue und interessante Strukturen, die für eine technologische Verwendung benutzbar sind. Auch auf der Zelloberfläche eines neuartigen, bisher im Labor unkultivierten Mikroorganismus (SM1 Euryarchaeon) wurde eine ungewöhnliche Struktur entdeckt, welche möglicherweise neue Felder im wachsenden Gebiet der Nanobiotechnologie eröffnet.

Stand der Technik

2. Rahmenbedingungen für die Entdeckung des außergewöhnlichen mikrobiellen Nanowerkzeugs

[0002] Im Rahmen ökologischer und molekularbiologischer Untersuchungen besonderer Mikrobenpopulationen in kalten Schwefelquellen (10°C) des bayerischen Raumes, wurde von der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Robert Huber, Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität Regensburg, ein neuartiger, ungewöhnlicher Mikroorganismus identifiziert. Dieses sogenannte SM1 Euryarchaeon, ein Vertreter der wenig analysierten kälteliebenden Archaeen (Archaea) sind einzellige Organismen, die eine der drei Domänen bilden, in die alle zellulären Lebewesen eingeteilt werden. Sie unterscheiden sich in vielen Merkmalen von den Bakterien (Bacteria) und den Eukaryoten (Eucarya). Mit letzteren sind sie jedoch näher verwandt als mit den Bakterien. Bis vor wenigen Jahren wurden diese Mikroorganismen 'extremen' Lebensräumen zugeordnet, jedoch sind sie, wie molekulare Untersuchungen zeigen, auch in gemäßigten Biotopen weit verbreitet, kommt in verschiedenen Lebensformen in Quellen des Regensburger Gebiets vor (Rudolph et al., 2001, Rudolph et al., 2004). Im Fließwasser der Quellen bildet es zusammen mit filamentartigen Bakterien die sogenannte 'Perlenkettengemeinschaft': makroskopisch sichtbare, kleine, weiße Perlen (\varnothing ca. 3 mm) sind an einem mikrobiellen Faden aneinander gereiht (Rudolph et al., 2001, Moissl et al., 2002). In tieferen, sauerstoffarmen Bereichen von Quellen bildet das SM1 Euryarchaeon schleimartige Biofilme, ohne erkennbaren bakteriellen Partner.

[0003] Bisher ist die Kultivierung des Archaeons im Labor ohne Erfolg geblieben, jedoch konnte eine in situ-Kultivierung entwickelt werden, welche dessen Zucht im natürlichen Biotop und die anschließende physikalische Abtrennung von Begleitorganismen erlaubte (Moissl et al., 2003). Dadurch kann dieser Mikroorganismus nun periodisch in gleich bleibender Qualität und Menge direkt aus der Natur gewonnen werden. Dies ermöglichte bisher schon eine detaillierte biologische Analyse, wobei der Fokus (auch) auf der strukturellen Charakterisierung des SM1 Euryarchaeons lag.

[0004] Die strukturellen Analysen wurden vorwiegend auf Basis elektronenmikroskopischer Methoden durchgeführt. Bereits die Betrachtung schwermetallbedampfter Zellen zeigten ungewöhnliches: Die Zellen waren über und über mit dünnen, fadenartigen Filamenten bedeckt (etwa 100 pro Zelle). Diese waren deutlich dünner als die für Mikroorganismen typischen Fortbewegungsorgane ('Geißeln'; **Fig. 1**, Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert). Sie erinnerten mehr an Pili (Pili: vorwiegend aus Proteinen bestehende, fadenartige Anhängsel, welche der Anheftung, in geringem Maße der Fortbewegung, der Phagen-Infektion und dem Gentransfer dienen.)-ähnliche Oberflächenstrukturen, wie sie vorwiegend bei den Bakterien entdeckt, für Archaeen aber nur äußerst selten beschrieben wurden. Da die in der Elektronenmikroskopie zur Kontrastierung biologischer Präparate übliche Schwermetallbedampfung feinere Strukturen nur unzureichend auflöst, wurde für weitere Studien eine Negativkontrastierung mit Uranyl-Acetat bevorzugt.

[0005] Bei der genaueren elektronenmikroskopischen Betrachtung der Zelloberflächenstrukturen des SM1 Euryarchaeons stellte sich bald heraus, dass diese eine außergewöhnlich hohe, bei Prokaryonten bisher nie entdeckte Komplexität mit einer genau definierten Basis-Spitze Organisation aufwies. Jedes Filament zeigt eine stacheldrahtähnliche Morphologie und trägt einen dreizähligen, mit Widerhaken besetzten Entershaken an seinem Ende (**Fig. 2, 3**; Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert). Aufgrund der komplexen Architektur und der offensichtlichen Andersartigkeit bezüglich aller bekannten bakteriellen und archaeellen Zellanhängsel wurde die Bezeichnung 'Hamus' (Plural 'Hami', lateinisch für Haken, Widerhaken, Angel) für diese neue Klasse von Oberflächenstrukturen vorgeschlagen.

3. Strukturelle Beschreibung des mikrobiellen Nanowerkzeugs

[0006] Generell kann jedes Zellanhängselfilament (\varnothing 7–8 nm) in zwei Abschnitte gegliedert werden (**Fig. 3**, Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert):

a) den zentralen Teil, die sogenannte Stachelregion ('Prickle-region'), welcher aus einem komplexen, stacheldrahtähnlich aufgebauten Filament besteht: In regelmäßigen Abständen von ca. 46 nm treten wiederkehrende Einheiten von drei Stacheln aus dem Filament hervor; diese sind dünner als das Filament (etwa 4 nm) und durchschnittlich 30 nm lang. Ausgehend von der Zelloberfläche bilden bis zu 60 dieser 46 nm-Einheiten ein Filament.

b) den etwa 152 nm langen, endständigen Teil, die sogenannte Hakenregion ('Hook-region'), welcher aus einem nackten Filament mit einem dreiteiligen Ende besteht und eine komplexe, einzigartige Struktur aufweist. Das Filament teilt sich in drei einzelne Arme mit je 4 nm Durchmesser und 50 nm Länge. Dabei formt jeder Arm einen charakteristischen 180°-Bogen, so dass seine Spitze wieder in Richtung Zelle gewandt ist. Am Ende jedes Arms sitzt eine hakenförmige Verdickung, weshalb die gesamte endständige Struktur einem mit Widerhaken besetzten Enterhaken ähnelt.

[0007] Die strukturellen Daten wurden aus kombinierten transmissions-elektronen-mikroskopischen und cryo-elektronen-tomographischen Untersuchungen gewonnen. Letztere Methode erlaubt die dreidimensionale Darstellung der Hami (**Fig. 4**; Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert).

[0008] Aus Fourier(Eine Fourier-Analyse dient der Darstellung und Visualisierung periodischer Funktionen.)-Spektren wurden Hinweise auf eine helikale Architektur der Hamus-Filamente gewonnen (**Fig. 5**, Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert). Die aus der Filterung resultierenden Abbildungen deuten auf einen Twist des Filaments hin und zeigen, dass die helikale Periodizität mit der regelmäßigen Anordnung der Stacheln am Filament korreliert.

[0009] Die kleinste, sichtbare strukturelle Einheit wurde mit 4,6 nm angegeben; 46 nm entspricht den Abständen der repetitiven Stachelanheftungsstellen. Jeweils 10 aneinander gereihte Einheiten bilden also ein Segment eines Protofilaments. Drei Protofilamente bilden den filamentösen Kern des Hamus. 46 nm entsprechen damit der Ganghöhe der Tripel-Helix.

[0010] Die Hami aller, über einen längeren Zeitraum in verschiedensten Experimenten untersuchten Zellen, zeigten die gleiche grundlegende Architektur, die gleichen Abmessungen und Proportionen. Die einzige detektierbare Variation war die Gesamtlänge der Hami, welche von etwa 1 bis zu 3 μ m reichte und durchschnittlich 2 μ m betrug. Alle Beobachtungen und Daten wurden zur Erstellung eines Hamus-Modells verwendet (**Fig. 6**, Moissl et al., 2004, Manuskript akzeptiert).

4. Natürliche Funktion des mikrobiellen Nanowerkzeugs

[0011] Die auf den ersten Blick offensichtliche adhäsive Funktion der Hami wurde experimentell durch Versuche mit der optischen Pinzette(Die optische Pinzette (gebündeltes Laserlicht) dient der berührungslosen, unbehelligenden Manipulation von Objekten im dreidimensionalen Raum (Ashkin und Dziedzic, 1987; Ashkin et al., 1987; Huber et al., 1995; Huber und Stetter, 2001).) nachgewiesen. Sie vermitteln eine starke Anheftung einzelner Zellen aneinander und an Oberflächen verschiedener chemischer Natur (Beschichtungen mit: Poly-lysin, Polyglutamat, Gelatine, Rinderserumalbumin, Laminin, Fibronectin, Bind-Silan). Aufgrund der wohl vorwiegend mechanischen Adhäsion der Hami durch ein 'Verhaken', scheint die Anheftung mehr oder weniger unabhängig von der Oberflächenbeschaffenheit sowie von der Wachstumsphase der Zellen zu sein. Das Hami-Nanowerkzeug ist also perfekt angepasst, in strömenden Umgebungen eine feste und stabile Verbindung zu anderen Zellen oder Oberflächen einzugehen.

5. Physikalisch-chemische Eigenschaften des mikrobiellen Nanowerkzeugs

[0012] Eine weitere bemerkenswerte Eigenschaft der Hami ist die Stabilität der dreidimensionalen Struktur innerhalb eines sehr breiten pH- und Temperaturspektrums. Sie sind erstaunlicherweise sogar noch bei einer Temperatur von 70°C stabil, obwohl sie bei einer Temperatur von 10°C, der natürlichen Wachstumstemperatur des SM1 Euryarchaeons, synthetisiert worden waren. Auch zwischen pH 0,5 und 11,5 blieben die Hami in ihrer Struktur unbehelligt. Auch gegenüber physikalischen Kräften, wie die Experimente mit der optischen Pinzette bewiesen, zeigt sich die Festigkeit der Hami.

6. Molekularer Aufbau

[0013] Wie durch SDS-PAGE und immunologische Experimente mit Hami-spezifischen Antikörpern (Die spezifischen Antikörper wurden im Rahmen der biologischen Charakterisierung des SM1 Euryarchaeons gewonnen (Moissl et al., 2003). Durch eine Affinitätsreinigung wurde die Hami-Spezifität erreicht.) gezeigt wurde, scheinen die Hami aus einem Hauptprotein, dem 120kDa Protein, zu bestehen. Durch die Gewinnung von Peptidsequenzen des 120kDa Proteins konnte ein zugehöriges Gen erfasst werden. Mit großer Wahrscheinlichkeit konnten auch das Start- und Stop-Codon identifiziert werden. Ein Datenbankvergleich mit der identifizierten Sequenz ließ keine Homologien zu bisher annotierten Genen und Proteinen entdecken. Diese Sequenz kodiert für ein 40kDa-Protein, was auf einen trimeren Charakter des Hamus-Proteins hindeuten könnte. Offensichtlich liegt das Gen für das Protein in mehrfachen Kopien im Genom des SM1 Euryarchaeons vor. Das 40kDa-Protein konnte bereits erfolgreich in einen Expressionsvektor kloniert und in *Escherichia coli* exprimiert werden.

7. Größenvergleiche

[0014] Mit den Hami hat die Natur im Lauf der Evolution ein perfektes mechanisches Nano-Werkzeug geschaffen, das schon allein durch seine Winzigkeit beeindruckt: Im Vergleich ist ein menschliches Haar etwa 15.000x dicker als das Hamus-Filament, ein typischer Angelhaken 250.000x größer als der Nano-Enterhaken des SM1 Euryarchaeons. In seiner Dicke liegt ein Hamus etwa zwischen der eines DNA-Stranges (2 nm) und dem Aktin-Filament des Muskels (9–10 nm) (**Fig. 7**).

8. Bionische Aspekte

[0015] Die Hami erinnern in ihrer Hakenregion stark an handelsübliche Fisch- bzw. Enterhaken oder Anker und implizieren eine Funktion für die Zellverankerung oder Adhäsion (**Fig. 8**).

[0016] Die Stachelregion der Hami weist verblüffende Ähnlichkeiten zu einem herkömmlichen Stacheldraht auf (**Fig. 9**).

[0017] Diese morphologischen Parallelen machen die winzigen Hami-Filamente auch für die wissenschaftlichen Felder der Bionik und Biomimetik interessant.

9. Eignung für die Nanobiotechnologie

[0018] Aufgrund der Winzigkeit, Komplexität, Stabilität, Form und sonstigen physikalischen und chemischen Eigenschaften sind die Hami für vielfältige Anwendungen interessant. Als mögliche Verbindung von High-Tech und 'High-Nature' eröffnet die Entdeckung der ungewöhnlichen Hami möglicherweise neue Felder im wachsenden Gebiet der Nanobiotechnologie. Diese neue Disziplin beschäftigt sich mit der technologischen Anwendung biologischer Nano-Strukturen (Wevers und Wechsler, 2002). Dabei macht sie sich die von der Natur gebildeten molekularen Architekturen größter Präzision und Flexibilität zu Nutze (Lowe, 2000). Der Bedarf an Nano-Werkzeugen ist groß und bietet viele, auch industrielle Anwendungsmöglichkeiten. So können biologische Nano-Strukturen in elektronischen Systemen, der Computer- und Sensoren-Technologie und medizinischen Instrumenten Anwendung finden (Lowe, 2000; Merkle, 1999).

[0019] Im Gegensatz zu diesem, auf biologischen Strukturen basierenden Untersuchungsgebiet, sei hier die Nanotechnologie erwähnt, welche sich mit der technologische Produktion von Nano-Systemen aus künstlichen Materialien beschäftigt, jedoch unterliegt sie in den meisten Fällen einigen Nachteilen (s. Tab. 1). Häufig ist die Herstellung von solchen Nano-Strukturen kompliziert, aufwändig und teuer, so dass die Produktion im Großmaßstab bisher nicht möglich ist. Aufgrund der Resistenz dieser Materialien gegenüber extremen pH-Werten, Temperaturen und Drücken sind sie biologisch außerdem nur schwer abbaubar.

10. Stand der Technik: Nanobiotechnologie

[0020] Im Rahmen der allgemeinen Entwicklung hin zur Miniaturisierung von Bauteilen und deren Funktionalisierung wurden in den letzten Jahren auch in der Nanobiotechnologie einige Fortschritte erzielt, die anhand folgender Beispiele vorgestellt werden sollen.

'Nano-Velcro' (Nano-Klettverschluss), biologische Nano-Anheftungsstrukturen

[0021] Normalerweise basiert die Anheftung biologischer Nano-Strukturen (ausschließlich) auf physikoche-

mischen Wechselwirkungen (z.B. Van-der-Waals-Kräfte, elektrostatische Kräfte) mit einer geeigneten Oberfläche (Fletcher und Decho, 2001). Der Kontakt ist dabei auf meist fadenförmige Mikro- oder Nano-Strukturen zurückzuführen, die, je feiner sie ausgebildet sind, eine stabilere Adhäsion erlauben.

[0022] Die Untersuchung der Adhäsionsstrukturen (Geckos besitzen an ihren Füßen sogenannte Setae; jede Seta ist 30–130 µm lang und besitzt Hunderte von 200–500 nm dicken Spatula, welche aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen die starke Anheftung ermöglichen (Autumn et al., 2002).) von Geckos (Gecko gecko) sollen bald zur Entwicklung des sogenannten 'Gecko-Tapes' führen. Eine synthetische Nachbildung dieser Gecko-Anheftungsstrukturen konnte bereits erfolgreich durchgeführt werden: die 3–10 µm langen und 30–500 nm dicken Kunststoff-Härchen zeigten sich äußerst stabil und reißfest (Sitti und Fearing, 2002). Aufgrund der aufwändigen und komplizierten Herstellung dieser Härchen ist jedoch die Produktion im größeren Maßstab bisher nicht gelungen.

[0023] Weitere Bemühungen betreffen den künstlich hergestellten sogenannten Nano-Klettverschluss (Nano-Velcro). Diese feinen Haken (wenige nm im Durchmesser) verhaken sich ineinander und erlauben 30x stärkere Adhäsionen als konventionelle Anheftungsmaterialien. Bisher ist die Massenproduktion jedoch schwierig, v.a. die gerichtete Ausbildung auf Oberflächen ist kompliziert (Ball, 2003; in Anlage). Zur Anwendung soll dieser Nano-Klettverschluss bei der Anheftung von Nano-Robotern kommen. Weiterhin sollen so mechanische und elektronische Nano-Komponenten auf Oberflächen befestigt werden (Berber et al., 2003).

Biologische Oberflächen

[0024] Auf ihrer Zelloberfläche bilden viele Mikroorganismen sogenannte S-Layer (ca. 5–10 nm dick). Dabei handelt es sich um zweidimensionale Schichten von regelmäßig angeordneten, selbstorganisierenden Proteinkristallen, welche für die Präzipitation von Mineralien (Schultze-Lam und Beveridge, 1994), als Träger für Antigene (Sleytr und Sára, 1997), als nur wenige Nanometer dicke Widerstände in der Halbleiter-Technologie (Pum und Sleytr, 1999) oder auch in verschiedensten Bereichen von Diagnostik, Sensor- und Biotechnologie eingesetzt werden könnten (Sleytr und Sára, 1997; Pum und Sleytr, 1999; Lowe, 2000).

Biologische Nano-Filter

[0025] Übliche Ultrafiltrationsmembranen besitzen häufig unregelmäßige Porengrößen. Biologisch hergestellte S-Layer-Ultrafiltermembranen (SUM) könnten aufgrund ihrer konstanten Porengröße zu Dialysezwecken und zur Wasseraufbereitung verwendet werden (Sára und Sleytr, 1999).

Biologische Linear- und Rotations-Motoren im Nanomaßstab

[0026] Linear-Motoren, wie Actin-Myosin bzw. Mikrotubuli-Kinesin, und DNA-assoziierte Proteine könnten Transportaufgaben innerhalb von Nano-Systemen übernehmen (Wevers und Wechsler, 2002; Cui und Gao, 2003), während Rotationsmotoren, wie die genauer studierte F1-ATPase (10 nm breit) für den Antrieb von Mini-Propellern in Betracht gezogen werden (Wevers und Wechsler, 2002; Soong et al., 2000)

Anwendung biologischer Nano-Pumpen

[0027] Das durch Licht angetriebene Bakteriorhodopsin transportiert Wasserstoffionen (Protonen) über die Zellmembran. Durch diesen gebildeten Protonengradienten wird eine ATP-Synthase angetrieben, welche ATP-Moleküle als Energiequelle für den jeweiligen Organismus synthetisiert (Wevers und Wechsler, 2002). Dieser Mechanismus könnte für die direkte Energieumwandlung von Sonnenlicht in Energie und Strom genutzt werden (Eisenbach et al., 1977). Weiter Untersuchungen beschäftigen sich mit der Herstellung eines Bakteriorhodopsin-Displays (Hampp, 2000)

Anwendung biologischer Nano-Strukturen in Computer- und Kommunikationstechnologie

[0028] Die elektronische Datenverarbeitung auf Basis des DNA-Moleküls wurde unter dem Begriff „DNA-Computing“ bereits in Betracht gezogen (Wevers und Wechsler, 2002; Cui und Gao, 2003).

Medizinischer Einsatz biologischer Nano-Strukturen

[0029] Die Anwendung wird z.B. in folgenden Bereichen visiert: Nanostrukturierte Oberflächenbeschichtung von Implantaten zur Verhinderung einer Abstoßungsreaktion (Cui und Gao, 2003), Nanopartikel mit Aufgaben

zum Medikamententransport (Bogunia-Kubik, 2002).

11. Vorteile des mikrobiellen Nanowerkzeugs

[0030] Im Allgemeinen erlaubt die Nanobiotechnologie die Konstruktion neuer molekularer Strukturen mit größerer Präzision und Flexibilität und zu niedrigeren Kosten, als traditionelle technologische Prozesse (vgl. Tab. 1). Weiterhin zeichnen sich biologische Strukturen durch ihre Fähigkeit zur Selbstorganisation aus (Zhang, 2003).

Tabelle 1: Vergleich technische und biologische Produktion von Nano-Strukturen (Aus: Wevers und Wechsler, 2002)

Verfahren oder Eigenschaft	Typische Realisierung in technischer Systemgebung	Typische Realisierung in biologischen Systemen
Herstellungsprozess	Top down; großtechnische Fertigung mit makroskopischen Geräten; technische Verfahren für große Mengen	Bottom up; Selbstorganisationsprozesse, langsames Wachsen funktioneller Einheiten auf molekularer Ebene, Verbindung zu größeren Systemen
Kontrollierbarkeit	Nur in kleinen Ausschnitten auf molekularer bzw. atomarer Ebene möglich oder als statistisches Ensemble	Durch Vielzahl spezialisierter und in einem Netzwerk zusammenarbeitender Nanomaschinen auf molekularer Ebene
Materialien	Generalisierter Bausatz (breite Palette an Elementen und Verbindungen mit unterschiedlichsten Eigenschaften)	Flexibler Grundbausatz (wenige Klassen von Biomaterialien, für unterschiedliche Funktionen optimierbar); Biokomposite auf der Nano- bzw. Mikroskala
Energieaufwand	Hoch (oft Hochtemperaturbereich), vergleichsweise geringe Wirkungsgrade, Verlust durch Abwärme	Gering (höchst effiziente Umwandlungskette mit chemischen Trägerstoffen, dadurch aber auch molekulare Abfallprodukte)
Umweltverträglichkeit	Häufig problematisch	Biologisch abbaubare Produkte, unter natürlichen Bedingungen i.d. R. kein Problem
Haltbarkeit, Stabilität, Veränderbarkeit	Über einen sehr breiten Bereich von (extremen) Umgebungsbedingungen (Temp., Druck, pH, etc) existieren technische Lösungen; i.d.R. langzeitstabil, aber keine Selbstreparatur und eher unflexibel	Vergleichsweise empfindlich; aber: nachwachsend, flexibel, regenerationsfähig, natürliche Abbauprozesse, selbstkorrigierend

[0031] Auch für das hier beschriebene mikrobielle Nanowerkzeug gelten diese Vorteile. Die Hami können, sobald ihre biotechnologische Herstellung möglich ist, billig und in großen Mengen produziert werden. Für mögliche Anwendungen kommen die unter Punkt 10 genannten Aspekte in Frage. Jedoch kann die Hauptaufgabe im Bereich der Anheftung gesehen werden. Zusätzlich zu der elektrostatischen Anheftung, wie sie auch für bisher beschriebene Anheftungsstrukturen nachgewiesen wurde, bieten die Hami auch eine mechanische Adhäsions-Komponente. Durch das stabile Verhaken der Hami ineinander wird vermutlich eine höhere Anheftungskraft und -stabilität als bei bisher untersuchten Strukturen erreicht. Darüber hinaus ist die Ausrichtung der Hami auf Oberflächen vermutlich nicht so kompliziert wie für ähnliche, synthetische Strukturen, da sie sich mit einem lipophilen Teil in der Membran verankern und somit eine „Richtung“ besitzen.

[0032] Zusätzlich zu den oben genannten Anwendungsbeispielen, kann eine technologische Nutzung der Hami in folgenden Bereichen angedacht werden: Nano-Stacheldraht, Nano-Faden (Verwendung der Hamus-Stachelregion als Faden, kein Zurückrutschen, da Widerhaken; biologisch abbaubar), Klebstoffe (z.B. für die Produktion billiger, wieder ablösbarer Klebstoffe mit starker Haltekraft auch bei niedrigeren Temperaturen), Wundverband (schneller, stabiler Verschluss von Wunden, atmungsaktiv, gewährleistet Schutz vor Austrocknung, biologisch abbaubar), Schneller Verschluss von Blutgefäßen (Direkte Applikation in betroffenen Blutgefäßen), Medizin allgemein (sämtliche lokal begrenzende Applikationen von Medikamenten oder Pflegestoffen; z.B. lokal begrenzte Tumorbehandlung) Nano-Manipulation (gerichtetes mechanisches Fassen und Bewegung von Nano-Partikeln und Zellen, evtl. Anwendungen in der Biotechnologie), Biofiltration (Herstellung von biologisch abbaubaren Filtern unterschiedlicher Ausschlussgrenze), Nano-Roboter und Nano-Maschinen (Aufgaben rund um das Thema Adhäsion).

Literatur:

- Autumn, K., M. Sitti, Y.A. Liang, A.M. Peattie, W.R. Hansen, S. Sponberg, T.W. Kenny, R. Fearing, J. N. Israelachvili und R. J. Full (2002). Evidence for van der Waals adhesion in gecko setae. *PNAS* 99: 12252–12256.
- Ashkin, A. und J.M. Dziedzic. (1987): Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria. *Science* 235: 1517–1520.
- Ashkin, A., J.M. Dziedzic und T., Yamane (1987): Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams. *Nature* 330: 769–771.
- Ball, P. (2003) Nano-Velcro binds faster than strongest glues. *Nature News Service* 22. <http://nature.com/nsu/031020/031020-5.html>
- Berber, S., Y.-K. Kwon und D. Tománek (2003): Bonding and energy dissipation in a nanohook assembly. *Phys. Rev. Lett.* 91: 165503-1-165503-4.
- Bogunia-Kubik, K. und M. Sugisaka (2002): From molecular biology to nanotechnology and nanomedicine. *Biosystems* 65: 123–138.
- Collins, P.G. und P. Avouris (2002): Nanotubes for electronics. In: *Understanding nanotechnology*. Scientific American, Warner Books, New York. 124–137.
- Eisenbach, M., C. Weissmann, G. Tanny und S.R. Caplan (1977): Bacteriorhodopsin-loaded charged synthetic membranes. Utilization of light energy to generate electrical current. *FEBS Lett.*, 81: 77–80.
- Fletcher, M. und A. Decho (2001): Biofilms. In: *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. London: Nature Publishing Group. [http://www.els.net/\[doi:10.1038/npg.els.0000342\]](http://www.els.net/[doi:10.1038/npg.els.0000342])
- Hampf, N. (2000): Bacteriorhodopsin as a photochromic retinal protein for optical memories. *Chem. Rev.* 100: 1755–1776.
- Huber, R., S. Burggraf, T. Mayer, S.M. Barns, P. Rossnagel und K.O. Stetter (1995): Isolation of a hyperthermophilic archaeum predicted by in situ RNA analysis. *Nature* 376: 57–58.
- Huber, R. und K.O. Stetter (2001): Discovery of hyperthermophilic microorganisms. In: *Methods in Enzymology*. Adams, M.W.W. und Kelly, R.M. (eds). London: Academic Press, S. 11–24.
- Lowe, C.R. (2000): Nanobiotechnology: the fabrication and applications of chemical and biological nanostructures. *Curr. Op. Struct. Biol.* 10: 428–434.
- Merkle, R.C. (1999): Biotechnology as a route to nanotechnology. *TIBTECH* 17: 271–274.
- Moissl, C., C. Rudolph und R. Huber (2002): Natural communities of novel archaea and bacteria with a string-of-pearls-like morphology: molecular analysis of the bacterial partners. *Appl Environ Microbiol* 68: 933–937.
- Moissl, C., C. Rudolph, R. Rachel, M. Koch und R. Huber (2003): In situ growth of the novel SM1 euryarchaeon from a string-of-pearls-like microbial community in its cold biotope, its physical separation and insights into its structure and physiology. *Arch Microbiol* 180: 211–217.
- Moissl, C., R. Rachel, A. Briegel, H. Engelhardt und R. Huber (2004) The unique structure of archaeal "hami", highly complex cell appendages with nano-grappling hooks. *Mol. Microbiol.*, akzeptiert.
- Pum, D. und U. Sleytr (1999): The application of bacterial S-Layers in molecular nanotechnology. *Trends Biotechnol.* 17: 8–12.
- Rudolph, C., G. Wanner und R. Huber (2001): Natural communities of novel archaea and bacteria growing in cold sulfurous springs with a string-of-pearls-like morphology. *Appl Environ Microbiol* 67: 2336–2344.
- Rudolph, C., C. Moissl, R. Henneberger und R. Huber (2004): Ecology and microbial structures of archaeal/bacterial strings-of-pearls communities and archaeal relatives thriving in cold sulfidic springs. *FEMS Microbiol. Ecol.*, akzeptiert.
- Sára, M. und U.B. Sleytr (1999): Nano-Biotechnik: Zurück zur Natur. *Spektrum d. Wiss.* 11: 95–98.
- Schäffer, C. und P. Messner (2004): Review: Surface-layer glycoproteins: an example for the diversity of bacterial glycosylation with promising impacts on nanobiotechnology. *Glycobiology* 14: 31R–42R.
- Schulze-Lam, S. und T. Beveridge (1994): Nucleation of celestite and strontianite on a cyanobacterial S-Layer. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 447–453.
- Sitti, M. und R.S. Fearing (2002): Nanomolding based fabrication of synthetic Gecko foot-hairs. *MP2: Nanotechnology: biological systems and applications*: 137–140.
- Sleytr, U. und M. Sára (1997): Bacterial and archaeal S-Layer proteins: structure-function relationships and their biotechnical applications. *Trends Biotechnol.* 15: 20–26.
- Soong, R.K., G.D. Bachand, H.P. Neves, A.G. Olkhovets, H.G. Craighead und C.D. Montemagno (2000): Powering an inorganic nanodevice with a biomolecular motor. *Science* 290: 155–158
- Wevers, M. und D. Wechsler (2002): Nanobiotechnologie I: Grundlagen und technische Anwendungen molekularer, funktionaler Biosysteme. In: *Zukünftige Technologie* 38. Herausgeber: VDI-Technologiezentrum, Düsseldorf.
- Whitesides, G.M. (2003): The right size in nanobiotechnology. *Nature Biotechnology* 21: 1161– 1165.
- Zhang, S. (2003): Fabrication of novel biomaterials through molecular self assembly. *Nature Biotechnology* 21:

1171-1178.

SEQUENCE LISTING

<110> Huber, Robert

<120> SM1-Hamus

<130> SM1-Hamus

<160> 2

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1 SEQ ID NR: 1

<211> 1092

<212> DNA

<213> SM1 Euryarchaeon

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1092)

<223>

```

<400> 1
atg ggt tca aat gaa tat ttt gtt aat ggc ttg gac aag acc tac att      48
Met Gly Ser Asn Glu Tyr Phe Val Asn Gly Leu Asp Lys Thr Tyr Ile
1          5          10          15

gtc ttg gca aaa ggt gaa aaa tta cat ata agt agc gcg ggt gca aca      96
Val Leu Ala Lys Gly Glu Lys Leu His Ile Ser Ser Ala Gly Ala Thr
          20          25          30

gaa ccg gca ttg tca cag tta caa gga tat aaa ttc aaa tta ctt aaa     144
Glu Pro Ala Leu Ser Gln Leu Gln Gly Tyr Lys Phe Lys Leu Leu Lys
          35          40          45

aca att cag gct tac gga aac gat gca gga gtt ata ata gaa att gaa     192
Thr Ile Gln Ala Tyr Gly Asn Asp Ala Gly Val Ile Ile Glu Ile Glu
          50          55          60

aga cca gat gga aca act att cag gca aca gca tca aaa cag gca ggt     240
Arg Pro Asp Gly Thr Thr Ile Gln Ala Thr Ala Ser Lys Gln Ala Gly
65          70          75          80

gct tct ctt gga acg gac gca aat ggt cac aag ata caa ata cag gca     288
Ala Ser Leu Gly Thr Asp Ala Asn Gly His Lys Ile Gln Ile Gln Ala
          85          90          95

```

ttc cat gtt ata gga aac aaa gca agt ata att gtt tat gat atg agt Phe His Val Ile Gly Asn Lys Ala Ser Ile Ile Val Tyr Asp Met Ser 100 105 110	336
aca cgg tac aaa tta gaa aat aat gaa aag caa gac gga tgg aga gtt Thr Arg Tyr Lys Leu Glu Asn Asn Glu Lys Gln Asp Gly Trp Arg Val 115 120 125	384
aaa ata aac aat gcc aag tgt aat aat gta ggt ata gag gat tat ttg Lys Ile Asn Asn Ala Lys Cys Asn Asn Val Gly Ile Glu Asp Tyr Leu 130 135 140	432
gtt cca aat gct gca aac aaa tat tgt ctg aca aag tta aca ttg aca Val Pro Asn Ala Ala Asn Lys Tyr Cys Leu Thr Lys Leu Thr Leu Thr 145 150 155 160	480
cag gaa gat gct caa aca tta aat gtc gga gat act gta tat ttc ccg Gln Glu Asp Ala Gln Thr Leu Asn Val Gly Asp Thr Val Tyr Phe Pro 165 170 175	528
aca aaa gca gta aag ttt tca ttt aag ggc ttt aaa aat gag gat ttc Thr Lys Ala Val Lys Phe Ser Phe Lys Gly Phe Lys Asn Glu Asp Phe 180 185 190	576
gga gat atg gtt tgt tca ggc gga agt gat aaa ata aag ata gag aca Gly Asp Met Val Cys Ser Gly Gly Ser Asp Lys Ile Lys Ile Glu Thr 195 200 205	624
agt gat aat cgt aaa gta atg ttg agc ttt act aca aga gac gga gaa Ser Asp Asn Arg Lys Val Met Leu Ser Phe Thr Thr Arg Asp Gly Glu 210 215 220	672
cga ctg aat aat gtc aga ttg gat gaa ggt ggt tat gaa ctt gac gag Arg Leu Asn Asn Val Arg Leu Asp Glu Gly Gly Tyr Glu Leu Asp Glu 225 230 235 240	720
tta ttc ctg ata gga aat acc gta tac aaa ttc aga gga aca gaa gat Leu Phe Leu Ile Gly Asn Thr Val Tyr Lys Phe Arg Gly Thr Glu Asp 245 250 255	768
att aat aac gat gaa aat cat gta aaa ttg ttg ctg act gat gtt agt Ile Asn Asn Asp Glu Asn His Val Lys Leu Leu Leu Thr Asp Val Ser 260 265 270	816
aat gca aac gac ttt gaa gca aca ctt aca aaa tta agc aca agt ttt Asn Ala Asn Asp Phe Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Thr Ser Phe 275 280 285	864
gca gga ttt aat tat act tac ttt gac cat tat agt gta agt aag gaa Ala Gly Phe Asn Tyr Thr Tyr Phe Asp His Tyr Ser Val Ser Lys Glu 290 295 300	912
aat cag tgc agt cct cca tgt tct aca tat aat gcg aca gta tta gga Asn Gln Cys Ser Pro Pro Cys Ser Thr Tyr Asn Ala Thr Val Leu Gly 305 310 315 320	960
gta atg gca tat ttc cac gaa ggt aag tta tgg atg gat act gga aat Val Met Ala Tyr Phe His Glu Gly Lys Leu Trp Met Asp Thr Gly Asn 325 330 335	1008
gat agt aaa att ggc tta aat aat att gct tta aaa gat att cag aat Asp Ser Lys Ile Gly Leu Asn Asn Ile Ala Leu Lys Asp Ile Gln Asn 340 345 350	1056
gat aac tgc aat gca aca tta act cca ttt gct tga Asp Asn Cys Asn Ala Thr Leu Thr Pro Phe Ala 355 360	1092

<210> 2 SEQ ID NR: 2

<211> 363

<212> PRT

<213> SM1 Euryarchaeon

<400> 2

Met Gly Ser Asn Glu Tyr Phe Val Asn Gly Leu Asp Lys Thr Tyr Ile
 1 5 10 15
 Val Leu Ala Lys Gly Glu Lys Leu His Ile Ser Ser Ala Gly Ala Thr
 20 25 30
 Glu Pro Ala Leu Ser Gln Leu Gln Gly Tyr Lys Phe Lys Leu Leu Lys
 35 40 45
 Thr Ile Gln Ala Tyr Gly Asn Asp Ala Gly Val Ile Ile Glu Ile Glu
 50 55 60
 Arg Pro Asp Gly Thr Thr Ile Gln Ala Thr Ala Ser Lys Gln Ala Gly
 65 70 75 80
 Ala Ser Leu Gly Thr Asp Ala Asn Gly His Lys Ile Gln Ile Gln Ala
 85 90 95
 Phe His Val Ile Gly Asn Lys Ala Ser Ile Ile Val Tyr Asp Met Ser
 100 105 110
 Thr Arg Tyr Lys Leu Glu Asn Asn Glu Lys Gln Asp Gly Trp Arg Val
 115 120 125
 Lys Ile Asn Asn Ala Lys Cys Asn Asn Val Gly Ile Glu Asp Tyr Leu
 130 135 140
 Val Pro Asn Ala Ala Asn Lys Tyr Cys Leu Thr Lys Leu Thr Leu Thr
 145 150 155 160
 Gln Glu Asp Ala Gln Thr Leu Asn Val Gly Asp Thr Val Tyr Phe Pro
 165 170 175
 Thr Lys Ala Val Lys Phe Ser Phe Lys Gly Phe Lys Asn Glu Asp Phe
 180 185 190
 Gly Asp Met Val Cys Ser Gly Gly Ser Asp Lys Ile Lys Ile Glu Thr
 195 200 205
 Ser Asp Asn Arg Lys Val Met Leu Ser Phe Thr Thr Arg Asp Gly Glu
 210 215 220

Arg Leu Asn Asn Val Arg Leu Asp Glu Gly Gly Tyr Glu Leu Asp Glu
 225 230 235 240
 Leu Phe Leu Ile Gly Asn Thr Val Tyr Lys Phe Arg Gly Thr Glu Asp
 245 250 255
 Ile Asn Asn Asp Glu Asn His Val Lys Leu Leu Leu Thr Asp Val Ser
 260 265 270
 Asn Ala Asn Asp Phe Glu Ala Thr Leu Thr Lys Leu Ser Thr Ser Phe
 275 280 285
 Ala Gly Phe Asn Tyr Thr Tyr Phe Asp His Tyr Ser Val Ser Lys Glu
 290 295 300
 Asn Gln Cys Ser Pro Pro Cys Ser Thr Tyr Asn Ala Thr Val Leu Gly
 305 310 315 320
 Val Met Ala Tyr Phe His Glu Gly Lys Leu Trp Met Asp Thr Gly Asn
 325 330 335
 Asp Ser Lys Ile Gly Leu Asn Asn Ile Ala Leu Lys Asp Ile Gln Asn
 340 345 350
 Asp Asn Cys Asn Ala Thr Leu Thr Pro Phe Ala
 355 360

Patentansprüche

1. Polynucleotid ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - (a) einem Polynucleotid mit einer Nucleotidsequenz, die mindestens die reife Form des Polypeptids mit der abgeleiteten Aminosäuresequenz wie in SEQ ID NR: 2 gezeigt codiert;
 - (b) einem Polynucleotid mit der codierenden Sequenz wie in SEQ ID NR: 2 gezeigt, die mindestens die reife Form des Polypeptids codiert;
 - (c) einem Polynucleotid mit einer Nucleotidsequenz, die ein Fragment oder Derivat eines Polypeptids codiert, das von einem Polypeptid nach einem der Punkte (a) oder (b) codiert wird, wobei in dem Derivat, verglichen zum Polypeptid, ein oder mehrere Aminosäurereste konservativ ersetzt sind, und das Fragment oder Derivat ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert;
 - (d) einem Polynucleotid mit einer Nucleotidsequenz, die mindestens 70% identisch zu einem Polynucleotid ist, wie in einem der Punkte (a) bis (c) definiert, und die ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert;
 - (e) einem Polynucleotid mit einer Nucleotidsequenz, deren komplementärer Strang mit einem Polynucleotid wie in einem der Punkte (a) bis (d) definiert hybridisiert, und die ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert; und
 - (f) einem Polynucleotid mit einer Nucleotidsequenz, die zu der Nucleotidsequenz des Polynucleotids nach einem der Punkte (a) bis (e) degeneriert ist; oder der komplementäre Strang eines solchen Polynucleotids.
2. Polynucleotid nach Anspruch 1, das DNA, cDNA, genomische DNA, RNA oder PNA ist.
3. Polynucleotid nach Anspruch 1 oder 2, das mit einem heterologen Polynucleotid verbunden ist.
4. Polynucleotid nach Anspruch 3, wobei das heterologe Polynucleotid ein heterologes Polypeptid codiert.
5. Vector, der das Polynucleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 4 enthält.
6. Vector nach Anspruch 5, in dem das Polynucleotid funktionell mit einer Expressions-Kontrollsequenz verbunden ist, welche die Expression in archaebakteriellen, prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen

len ermöglicht.

7. Wirtszelle, die unter Verwendung gentechnischer Verfahren mit dem Polynucleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder dem Vector nach Anspruch 5 oder 6 hergestellt ist.

8. Verfahren zur Herstellung eines Polypeptids, das ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur ist, umfassend: Züchten der Wirtszelle nach Anspruch 7 und Gewinnen des Polypeptids, welches durch das Polynucleotid codiert wird.

9. Verfahren zur Herstellung von Zellen, die ein Polypeptid exprimieren können, welches ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur ist, umfassend Herstellen von Zellen in vitro mit dem Vector nach Anspruch 5 oder 6 unter Verwendung gentechnischer Verfahren, wobei das Polypeptid von einem Polynucleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 4 codiert wird.

10. Polypeptid mit der Aminosäuresequenz, die von einem Polynucleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 4 codiert wird, oder gemäß dem Verfahren nach Anspruch 8 erhältlich ist.

11. Antikörper, der das Polypeptid nach Anspruch 10 spezifisch bindet.

12. Nucleinsäuremolekül, welches spezifisch mit ein Polynucleotid nach einem der Ansprüche 1 bis 4 hybridisiert.

13. Zusammensetzung, welche die Polynucleotide aus einem der Ansprüche 1 bis 4, das Polypeptid nach Anspruch 10 oder den Antikörper nach Anspruch 11 umfasst.

14. Zusammensetzung nach Anspruch 13, die ein Arzneimittel ist, weiterhin umfassend einen pharmazeutisch verträglichen Träger.

15. Verwendung des Polynucleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 4, das ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert oder das Polypeptid nach Anspruch 10, zum Beschichten von Materialien.

16. Verfahren nach Anspruch 15, wobei das Material biologisches Material ist.

17. Verfahren nach Anspruch 16, wobei das biologische Material ein medizinischer Faden ist.

18. Verwendung des Polynucleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 4, das ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert oder das Polypeptid nach Anspruch 10, als Nano-Klettverschluss.

19. Verwendung des Polynucleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 4, das ein Zelloberflächenanhängsel mit einer Hamus-ähnlichen Struktur codiert oder das Polypeptid nach Anspruch 10, als Arzneimittel zur Wundheilungsförderung.

20. Verfahren zur Wundheilungsförderung, das die Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Menge des Polynucleotids nach einem der Ansprüche 1 bis 4 oder einer therapeutisch wirksamen Menge des Polypeptids nach Anspruch 10 an ein Individuum umfasst.

21. Verfahren zur Isolierung einer Verbindung, die an das Polypeptid nach Anspruch 10 bindet, umfassend
(a) Inkontaktbringen einer Wirtszelle, die das Polypeptid nach Anspruch 10 exprimiert, mit einer Verbindung;
(b) Nachweisen der Anwesenheit der Verbindung, die an das Polypeptid bindet; und
(c) Bestimmen, ob die Verbindung an das Polypeptid bindet.

Es folgen 5 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

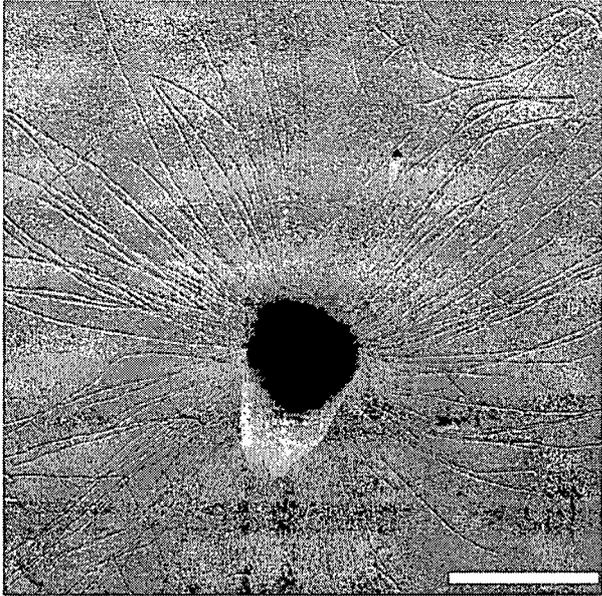


Fig. 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer schwermetallbedampften SM1 Zelle.

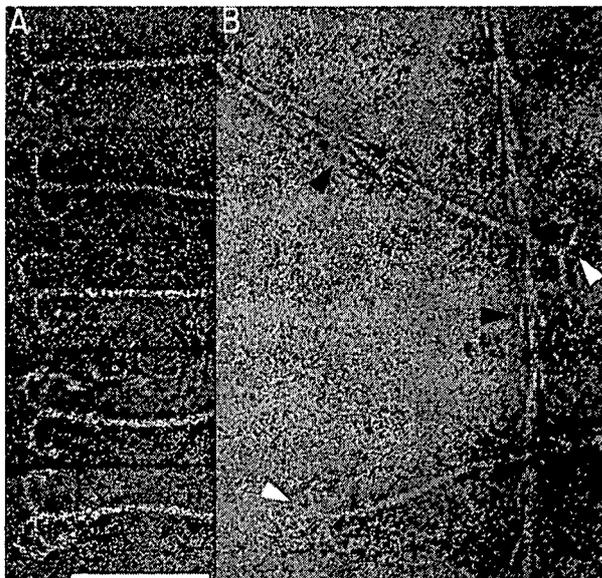


Fig. 2: Ultrastruktur der Hami des SM1 Euryarchaeons, Negativkontrastierung. Maßstab: 100 nm.

A: Elektronenmikroskopische Aufnahmen der Enterhaken am distalen Ende der Hami. Die Pfeile zeigen auf die Widerhaken.
B: Elektronenmikroskopische Aufnahme von hochstrukturierten SM1- Hami. Die Pfeile zeigen auf Stacheln (schwarz) und Enterhaken (weiß).

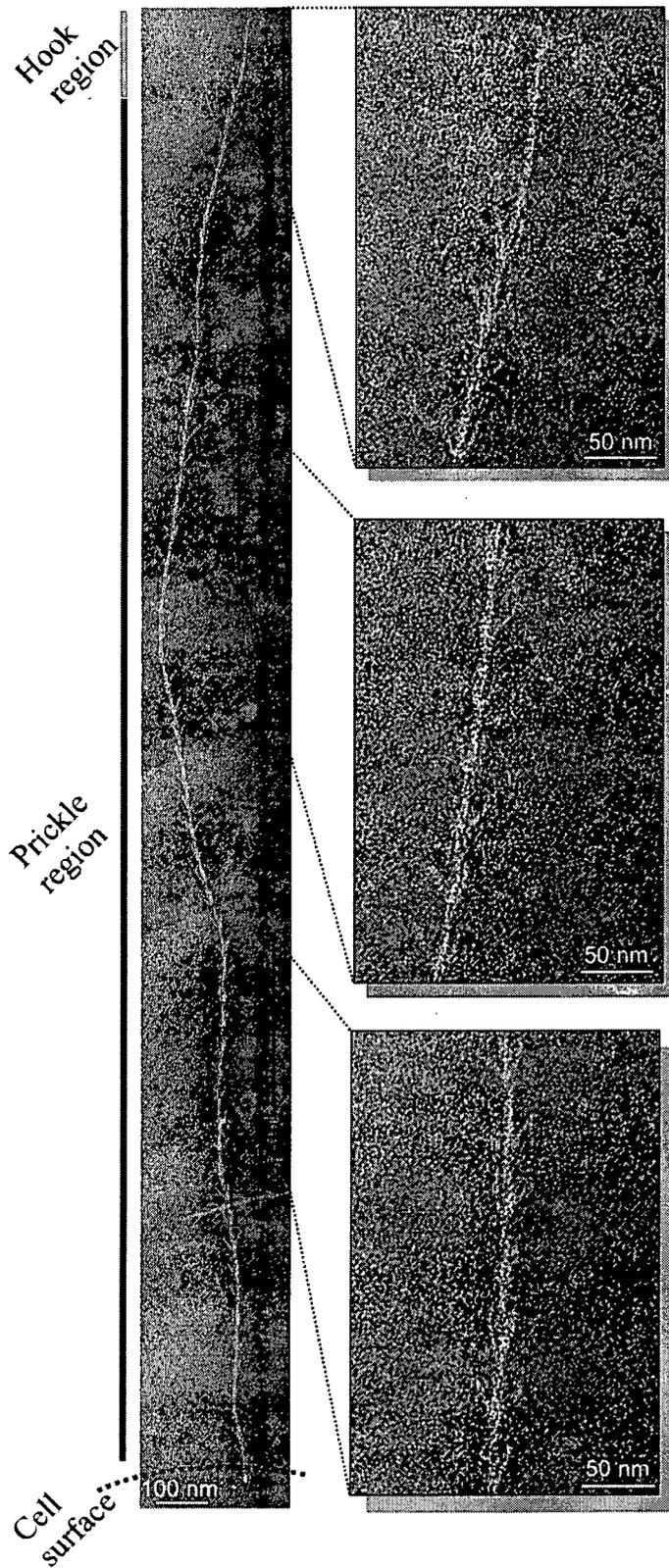


Fig. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines negativ-kontrastierten Hamus in ganzer Länge. Der Hamus wurde vom SM1 Euryarchaeon durch Zellyse mit 0,01% SDS (Endkonzentration) abgetrennt. Deutlich erkennbar sind Stachel- und Hakenregion. Die drei vergrößerten Ausschnitte zeigen die genau definierte Basis- Spitze- Architektur des Hamus.

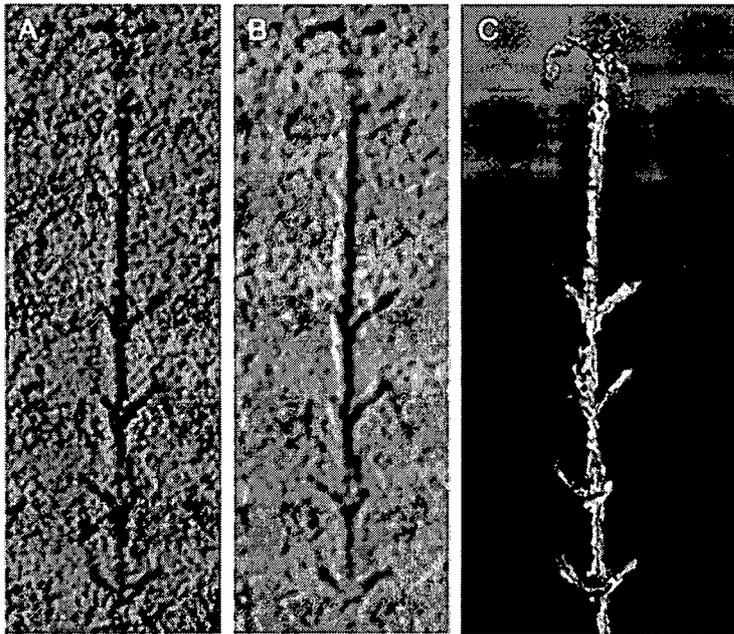


Fig. 4: Cryo- Elektronentomogramm eines SM1- Hamus.

A, B: Longitudinale Schnitte durch die Haken- bzw. Stachelregion eines dreidimensional rekonstruierten Hamus (**A**) vor und (**B**) nach Entrauschen der tomographischen Daten. Die Breite jeder Abbildung entspricht 110 nm. **C:** 3D- Darstellung der Hamus- Struktur, visualisiert durch Oberflächenrendering der entrauschten Daten.

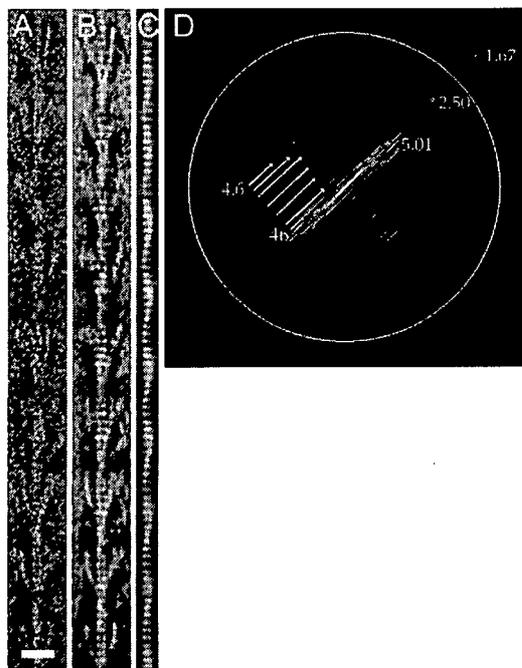


Fig 5: Fourier- Filterung eines Hamus in der Stachelregion.

A: Originalabbildung einer negativkontrastierten Präparation (Maßstab: 20 nm).

B: Rauschreduzierte, gefilterte Abbildung derselben Hamus- Region.

C: Stärker gefilterte Abbildung des zentralen Filaments; die helikale Anordnung der strukturellen Einheiten ist gut erkennbar.

D: Fourier- Spektrum mit den Reflexen (Pfeile)

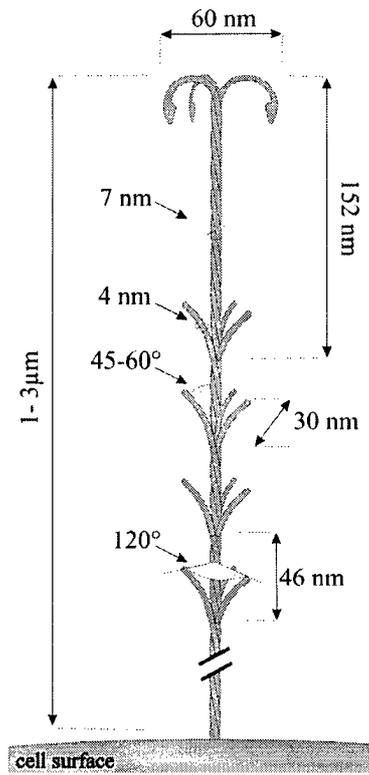


Fig 6: Vorschlag eines Hamus- Modells mit Größenangaben und Verhältnissen.

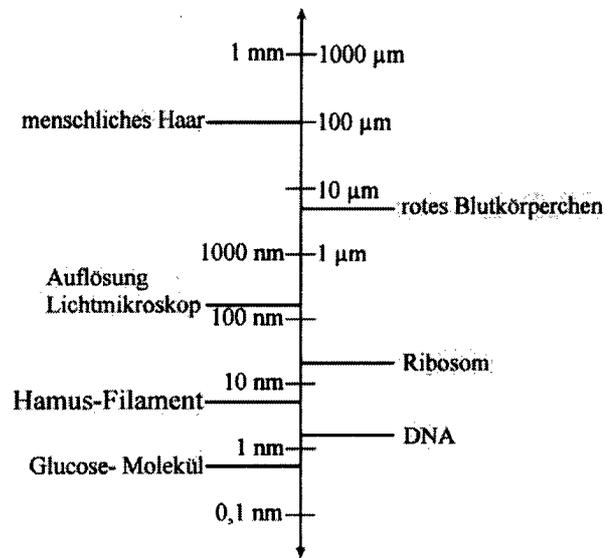


Fig. 7: Größenvergleich des Hamus- Filaments (vgl. Whitesides, 2003)

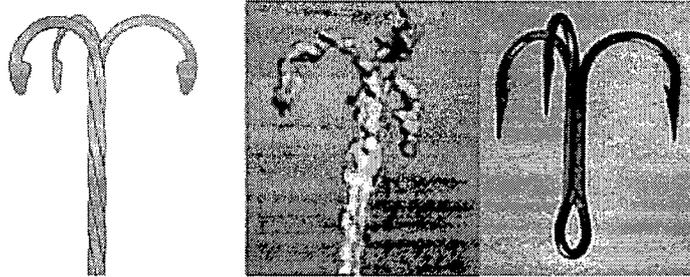


Fig. 8: Vergleich eines Hamus (Hakenregion) mit einem herkömmlichen Fischhaken (rechts)

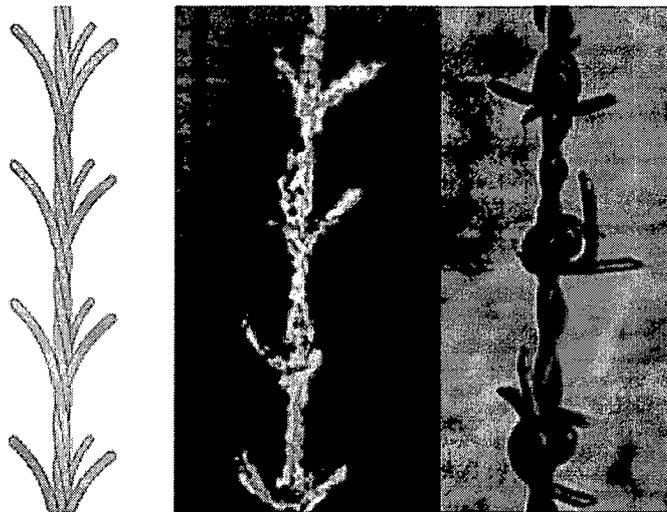


Fig. 9: Vergleich eines Hamus (Stachelregion) mit einem herkömmlichen Stacheldraht (rechts)