

(19)



(11)

EP 1 924 725 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
14.11.2012 Patentblatt 2012/46

(51) Int Cl.:
D01D 5/06 (2006.01) D01F 4/02 (2006.01)

(21) Anmeldenummer: **06792042.1**

(86) Internationale Anmeldenummer:
PCT/EP2006/008924

(22) Anmeldetag: **13.09.2006**

(87) Internationale Veröffentlichungsnummer:
WO 2007/031301 (22.03.2007 Gazette 2007/12)

(54) **VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR HERSTELLUNG EINES FADENS AUS
SEIDENPROTEINEN**

METHOD AND DEVICE FOR PRODUCING A THREAD FROM SILK PROTEINS

PROCEDE ET DISPOSITIF POUR PRODUIRE UN FIL A PARTIR DE PROTEINES DE SOIE

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR
HU IE IS IT LI LT LU LV MC NL PL PT RO SE SI
SK TR**

(30) Priorität: **13.09.2005 DE 102005043609**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
28.05.2008 Patentblatt 2008/22

(73) Patentinhaber: **AMSilk GmbH
82152 Planegg/Martinsried (DE)**

(72) Erfinder:
• **SCHEIBEL, Thomas
81673 München (DE)**

• **HÜMMERICH, Daniel
68163 Mannheim (DE)**

(74) Vertreter: **Zwicker, Jörk et al
Dr. Volker Vossius
Patent- und Rechtsanwaltskanzlei
Geibelstrasse 6
81679 München (DE)**

(56) Entgegenhaltungen:
**WO-A-01/38614 WO-A-2004/057069
WO-A-2005/017237 WO-A2-03/060099**

EP 1 924 725 B1

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents im Europäischen Patentblatt kann jedermann nach Maßgabe der Ausführungsordnung beim Europäischen Patentamt gegen dieses Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Fadens aus Seidenproteinen sowie eine Vorrichtung, die zur Durchführung des Verfahrens geeignet ist. Darüberhinaus ist die Erfindung auf daraus gewonnene Fäden sowie deren Verwendung gerichtet.

[0002] Natürliche Seide, z.B. Spinnenseide, ist ein außergewöhnliches Material, das eine sehr hohe Zugfestigkeit in Kombination mit einer hohen Dehnbarkeit aufweist. Aufgrund dieser Eigenschaften wird seit Jahren versucht, dieses Material in größeren Mengen herzustellen. Da es nicht möglich ist, Tiere wie z.B. Spinnen für diesen Zweck einzusetzen, konzentriert sich die Forschung auf die Untersuchung von Verfahren, bei denen das Ausgangsmaterial für die Seide (z.B. Spinnenseidenproteine) rekombinant gewonnen und anschließend zu einem Faden versponnen wird.

[0003] Als Rohmaterial finden dabei authentische Seidenproteine (rekombinante Proteine, die mit Hilfe authentischer Seidengensequenzen gewonnen werden) und synthetische Seidenproteine (auf synthetischen Genen basierende Proteine, deren Primärsequenz weitgehend der natürlichen Sequenz entspricht) Verwendung. Die Qualität eines künstlich hergestellten Fadens wird vermutlich sowohl von dem eingesetzten Rohmaterial als auch von dem angewandten Spinnverfahren bestimmt.

[0004] Wie beim natürlichen Spinnprozess müssen bei künstlichen Spinnversuchen die Seidenproteine von einer löslichen Form in eine unlösliche fibrilläre Form überführt werden, deren Struktur dem authentischen Faden möglichst gleich kommen soll. Die Arbeitsgruppe von Jelinski entwickelte dazu einen Mikrospinnapparat, der die Verspinnung weniger Milligramm Seidenprotein zu mehreren Meter langen Seidenfäden erlaubte (Liivak *et al.*, 1998). Als Ausgangsmaterial wurde in Hexafluoroisopropanol gelöste Seide der Spinne *Nephila clavipes* verwendet. Das so gelöste Protein wurde durch eine Spinnöse in ein Fällungsbad aus Aceton gespritzt. So erhaltene Fäden waren jedoch sehr spröde und wiesen kaum strukturelle Ähnlichkeit mit natürlichen Seidenfäden auf (Seidel *et al.*, 1998; Seidel *et al.*, 2000). Erst durch Behandlung mit Wasser und durch nachträgliches Ziehen des Fadens (*post spin draw*) konnten sowohl mechanische als auch strukturelle Parameter verbessert werden. Die Eigenschaften der natürlichen Seide wurden allerdings nicht erreicht (Seidel *et al.*, 2000).

[0005] Eine andere Gruppe entwickelte eine Spinnmethode, in der ein Methanol / Wasser Gemisch als Fällungsbad zum Einsatz kam. Damit konnten ein synthetisches Seidenprotein und rekombinantes MaSpl der Spinne *Nephila clavipes* aus einer harnstoffhaltigen Lösung heraus zu Fäden versponnen werden. Diese waren jedoch ebenfalls spröde (Arcidiacono *et al.*, 2002).

[0006] Mit der gleichen Methode konnte rekombinantes, ohne chaotrope Reagenzien gelöstes, ADF-3 zu Fäden versponnen werden. Auch in diesem Fall konnten die Eigenschaften des Fadens durch *post spin draw* verbessert werden (Lazaris *et al.*, 2002). Die Zugfestigkeit natürlicher Fäden wurde jedoch nicht erreicht. Die Firmen Oxford Biomaterials (Oxford, Großbritannien), Spin'Tech GmbH (Ludwigsburg, Deutschland) und das Institut für Mikrotechnik Mainz GmbH (Mainz, Deutschland) haben nach Kenntnisstand der Erfinder ein Verfahren entwickelt, mit dem Seidenproteine durch ein Mikrodialyse- oder ähnliches Verfahren zu Fäden versponnen werden kann.

[0007] Daneben gibt es erfolgreiche Versuche, durch sog. Elektrospinning aus Seidenproteinen Fäden zu gewinnen (Prof. Frank Ko, Drexel University, Philadelphia, PA, U.S.A.). Über die mechanischen Eigenschaften der so hergestellten Fäden ist bisher jedoch noch nichts veröffentlicht worden.

[0008] US 2003/0201560 betrifft eine Vorrichtung zum Spinnen von Fäden aus Proteinlösungen. Es wird dargelegt, daß die Vorrichtung einen trichterförmigen Abschnitt aufweist, durch den die Proteinlösung bzw. "Dope" hindurchgeleitet wird, wobei diese Passage zumindest teilweise aus einem semipermeablen und/oder porösen Material besteht.

[0009] WO 2005/017237 betrifft unter anderem eine Vorrichtung zur Assemblierung von Proteinen. Die Vorrichtung weist eine rohrförmige Passage umfaßt, deren Wände teilweise permeabel oder porös sind. Dies hat den Vorteil, pH, Wassergehalt und Ionenzusammensetzung zu kontrollieren.

[0010] WO 2004/057069 betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von Objekten, insbesondere auch zum Spinnen von Fäden aus Spinnenseidenproteinen. Dieses Verfahren betrifft schwerpunktmäßig den Sol-Gelübergang der Proteinlösung, der beispielsweise durch Zusatz von Kalium, vorzugsweise Kaliumfluorid, erreicht wird. Darüber hinaus wird hier angegeben, daß die zur Durchführung des Verfahrens verwendete Vorrichtung ein "transition compartment" aufweist, das semipermeabel oder porös ausgebildet sein kann.

[0011] WO 2003/060099 beschäftigt sich mit der Herstellung von Spinnenseidenfasern bzw. Biofilamenten. In der geschilderten Vorrichtung wird eine "extrusion unit" beschrieben, durch die die Spinnenseidenproteinlösung hindurchgeführt wird. Insbesondere ist WO 2003/060099 auf die Einbringung der Filamente in ein Koagulationsbad nach Luftkontakt gerichtet.

[0012] Die bisher verwendeten und publizierten Verfahren zum Verspinnen von Spinnenseidenproteinen basieren folglich zumeist auf der Injektion einer Proteinlösung in ein Fällungsbad. Zur Stabilisierung des löslichen Zustandes der Proteine in der Spinnlösung sind darin in der Regel chaotrope Stoffe oder organische Lösungsmittel enthalten. Um den Effekt dieser Zusätze aufzuheben und die Assemblierung der Proteine auszulösen, sind dem Fällungsbad entsprechend lyotrope Agenzien beigelegt.

[0013] Demgegenüber ist es eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Erzeugung von Seidenproteinen bereit zu stellen, die den Einsatz des Fällungsbades und den Zusatz nicht natürlicher, chaotroper oder lyotroper Mittel unnötig machen. Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, durch ein Verfahren und eine Vorrichtung stabile Seidenfäden herzustellen, die mechanische Eigenschaften aufweisen, die den natürlichen Seidenproteinen nahe kommen oder diesen entsprechen. Eine zusätzliche Aufgabe der Erfindung ist die Herstellung von Seidenfäden mit großer Ausbeute, d.h. in einer Menge, die für die großtechnische Herstellung geeignet ist.

[0014] Diese Aufgaben werden durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche gelöst. Bevorzugte Ausführungsformen ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

[0015] Wie bereits oben angesprochen basieren die bisher verwendeten Verfahren zum Verspinnen von Spinnenseidenproteinen zumeist auf der Injektion einer Proteinlösung in ein Fällungsbad, wobei zur Stabilisierung des löslichen Zustandes der Proteine in der Spinnlösung darin in der Regel chaotrope, lyotrope Stoffe oder organische Lösungsmittel enthalten sind.

[0016] Es hat sich herausgestellt, dass im Gegensatz dazu die natürliche Seidenassemblierung, z.B. in der Spinne, durch andere Faktoren vermittelt wird. Ein Schlüsselprozess ist dabei eine u.a. durch Zugabe von Kalium- und Phosphationen induzierte Phasentrennung der Spinnlösung in eine wässrige, proteinarme und eine proteinreiche Phase. Die Streckung der proteinreichen Phase durch Zug am fertigen Faden führt anschließend zur Assemblierung der Seidenproteine.

[0017] Die im Vergleich zur natürlichen Spinnenseide verhältnismäßig schlechten mechanischen Eigenschaften der künstlich gesponnenen Fäden nach dem Stand der Technik weisen darauf hin, dass Phasentrennung und Streckung wichtige Faktoren für die Entstehung mechanisch stabiler Strukturen sind. Dieses Erkenntnis wurde jedoch bisher nicht zur Erzeugung von Seidenfäden genutzt.

[0018] Der Ansatz der vorliegenden Erfindung enthält mehrere Unterschiede im Vergleich zu den oben beschriebenen Spinnverfahren des Stands der Technik:

[0019] Das erfindungsgemäße Verfahren basiert ausschließlich auf wässrigen Lösungen ohne Zusätze von nichtnatürlichen, chaotropen oder lyotropen Mitteln. Ohne an eine Theorie gebunden sein zu wollen liegen die Proteine damit vermutlich in einem konformationellen Zustand vor, der dem natürlichen Zustand entspricht.

[0020] Änderungen der Zusammensetzung der Spinnlösung werden durch Diffusion erreicht. Damit kann die Lösung in einen assemblierungskompetenten Zustand versetzt werden, ohne sofort einen festen Zustand einnehmen zu müssen, wie dies bei einem Fällungsbad der Fall ist.

[0021] Die Fadenassemblierung wird durch Zug an der teilassemblierten proteinreichen Phase abgeschlossen. Aus Untersuchungen an chemischen Polymeren ist bekannt, dass die Streckung konzentrierter Polymerlösungen zu einer Ausrichtung der einzelnen Polymerketten und damit einer erhöhten Stabilität einer daraus gebildeten Faser führt. Es ist zu vermuten, dass daher die hier verwendete, auf Zug basierende Spinnmethode den auf Druck basierenden Methoden überlegen ist.

[0022] Der Spinnapparat der vorliegenden Erfindung erlaubt Hochleistungsfasern aus synthetischer Spinnenseide herzustellen, die in vielen Bereichen der Technik und Industrie ihre Anwendungen finden. Neben ballistischen Anwendungen, wie der Entwicklung kugelsicherer Ausrüstungsgegenstände, könnten synthetische Spinnenseiden ebenfalls für Fallschirme, Spezialseile und Netze, Sportartikel, Textilien, aber auch für Leichtbaukomponenten von Flugzeugen verwendet werden.

[0023] Die vorliegende Erfindung betrifft die folgenden Aspekte und Ausführungsformen:

[0024] Gemäß eines ersten Aspektes betrifft die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Herstellung eines Fadens aus Seidenproteinen, das die folgenden Schritte umfasst:

- a) Bereitstellen einer Lösung aus Seidenproteinen,
- b) Überführen der Lösung in eine Diffusionseinheit, die eine Kalium- und Phosphationen enthaltende Zusammensetzung aufweist;
- c) Hindurchführen der Lösung durch die Diffusionseinheit, wobei die Lösung mit den aus der Diffusionseinheit diffundierenden Kalium- und Phosphationen in Berührung kommt;
- d) Auftrennen der Lösung in eine Seidenproteinreiche und -arme Phase;
- e) Gewinnen des Seidenfadens aus der proteinreichen Phase

durch Zug.

[0025] Es sei darauf hingewiesen, dass der Begriff "Seidenproteine" wie in dieser Anmeldung verwendet, im Prinzip keinerlei Einschränkung unterliegt. Das einzige Erfordernis ist die Fähigkeit der Proteine, sich unter geeigneten Bedingungen zu einem Faden assemblieren zu können. Im engeren Sinne sind die Seidenproteine durch Proteine natürlicher bzw. rekombinanter Herkunft charakterisiert, d.h. Proteine, die beispielsweise von Spinnentieren (Arachnida) oder Insekten (Insecta) abgeleitet sind. Als Beispiele für die Herkunft der Proteine sind der Seidenspinner (*Bombyx mori*), die

Florfliege (*Chrysoperla carnea*), die Kreuzspinne (*Araneus diadematus*) und die goldene Seidenspinne (*Nephila clavipes*) zu nennen.

[0026] Die hier verwendeten Seidenproteine können authentisch sein, d.h. die natürlichen Sequenzen darstellen, oder können synthetisch sein, d.h. auf synthetischen Genen basierende Proteine, deren Primärsequenz weitgehend der natürlichen Sequenz entspricht.

[0027] Die einzelnen Seidenproteinsequenzen sind dem Fachmann durch Datenbanken zugänglich, es sei hier nur beispielhaft auf die Sequenzen ADF-3 und ADF-4 von *Araneus diadematus* verwiesen, die unter der Nr. U47855 und U47856 zugänglich sind.

[0028] Der Begriff "Diffusionseinheit" wie hierin verwendet beschreibt ein Speichermedium, das eine Diffusion von Bestandteilen aus diesem hinaus und in dieses hinein ermöglicht. Es handelt sich bei der Diffusionseinheit der vorliegenden Erfindung nicht um die im Stand der Technik gebräuchliche poröse oder semipermeable Membran, durch die ein einseitiger Durchtritt von Bestandteilen ohne Speichereigenschaft ermöglicht werden soll. Die Diffusionseinheit der vorliegenden Erfindung kann eher als Matrix bezeichnet werden, in der einerseits die für die Bildung von proteinreichen- und armen Phasen notwendigen Kalium- und Phosphationen zur Diffusion bereitgestellt werden und in die andererseits die (für die Fadenassemblierung nicht zu verwendende) proteinarme Phase der Seidenproteinlösung aufgenommen wird.

[0029] In einer Ausführungsform enthält die in a) bereitgestellte Spinnlösung zumindest 1%-50%, bevorzugt 10-40 %, am meisten bevorzugt 10-20 % (G/V) an Seidenprotein. Der pH der Lösung bewegt sich erfahrungsgemäß von 4,0-12,0, bevorzugt von 6,5-8,5 und ist am meisten bevorzugt 8,0. Diese Lösung wird auch als "Dope" bezeichnet. "Dope" bedeutet eine Flüssigkeit oder Lösung, die zusätzlich zu Proteinmonomeren Proteinaggregate einschliessen kann, beispielsweise Dimere, Trimere und/oder Tetramere. Diese Proteinlösung kann zusätzlich zu den unten aufgeführten Lösungsmitteln auch Zusatzstoffe wie z.B. Konservierungsmittel sowie Mittel zur Steigerung der Stabilität oder Verarbeitbarkeit der Lösung beinhalten.

[0030] Im erfindungsgemäßen Verfahren umfasst die Lösung vorzugsweise ein polares Lösungsmittel, das aus Wasser, Alkoholen und Gemischen hiervon ausgewählt ist. Beispiele für Alkohole umfassen Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol oder mehrwertige Alkohole wie Glycerin oder Propylenglykol. Die letztgenannten Lösungsmittel können neben ihren Lösungsmittleigenschaften auch als Mittel zur Einstellung der Viskosität und/oder als Konservierungsmittel eingesetzt werden.

[0031] Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform schließt der Schritt der Gewinnung des Seidenfadens ein In-Berührung-Bringen der proteinreichen Phase mit einem Gas oder einer Flüssigkeit ein. In der Regel wird das Gas ein Sauerstoff enthaltendes Gas sein, d.h. dann, wenn u.a. eine Oxidationswirkung erwünscht ist. Andererseits kann das Gas auch ein Inertgas wie z.B. Stickstoff, Argon, Helium etc. sein. In Frage kommen auch Gemische dieser Gase.

[0032] Neben dem Kontakt mit gasförmigen Substanzen kann auch ein in-Berührung-Bringen mit Flüssigkeiten in Betracht kommen, wobei hier als Beispiele Methanol, Ethanol, Propanol, Isopropanol, Aceton, Acetonitril, bevorzugt Methanol zu nennen sind.

[0033] Die Diffusionseinheit der vorliegenden Erfindung ist in einer besonders bevorzugten Ausführungsform aus einem Gelmaterial gebildet. Eingesetzt wird als Gelmaterial bevorzugt ein Hydrogel, insbesondere ein Hydrogel, das Polyacrylamid-, Cellulosederivat-, Polyvinylmethylether- (PVME), Polystyrol-Polybutadien- (PS-PB), Stearylacrylat-, Polyethylen- (PE), Polystyrol- (PS), Polyvinylalkohol- (PVA), Polyacrylsäure-, Poly(N-vinylpyrrolidon)- (PVP), Polyethylen-terephthalat- (PET), Polyisopropylacrylamid-, Polyethersulfonsäure- und/oder Silikonhydrogele umfasst.

[0034] Alternativ kann die Diffusionseinheit aus einer Keramik gebildet sein.

[0035] Gemäß einem zweiten Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung eine Vorrichtung zur Durchführung des oben definierten Verfahrens, mit:

- einer ersten Vorrichtung, die eine Lösung aus Seidenproteinen in die Diffusionseinheit verbringt;
- der Diffusionseinheit, die einen Kanal zur Durchführung der Lösung aufweist, der mit einer Kalium- und Phosphationenenthaltenden Zusammensetzung umgeben ist, wobei die Lösung mit den aus der Diffusionseinheit diffundierenden Kalium- und Phosphationen in Berührung kommt, sodass die Diffusionseinheit am Ausgang ihres Kanals die in eine Seidenproteinreiche und -arme Phase aufgetrennte Lösung bereitstellt; und
- einer zweiten Vorrichtung, die den Seidenfaden aus der proteinreichen Phase der Lösung generiert.
- einer zweiten Vorrichtung, die den Seidenfaden aus der proteinreichen Phase der Lösung durch Zug generiert.

[0036] Gemäß einer bevorzugten Ausgestaltung der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist die erste Vorrichtung als eine mit einer steuerbaren Pumpe gekoppelte Spritze ausgebildet. Beispielsweise steuert eine Steuervorrichtung, wie beispielsweise ein Mikrocontroller, die steuerbare Pumpe. Vorzugsweise weist die Steuervorrichtung ferner einen Speicher auf, in welchem ein Ablaufprogramm für die Ansteuerung der steuerbaren Pumpe abspeicherbar ist.

[0037] Gemäß einer bevorzugten Weiterbildung ist die erste Vorrichtung als ein steuerbares Pumpsystem ausgebildet, das die Lösung in einem kontinuierlichen Prozess in die Diffusionseinheit verbringt. Insbesondere ist das oben beschriebene Steuerprogramm derart ausgebildet, dass es den kontinuierlichen Prozess für das Verbringen der Lösung in die

Diffusionseinheit steuert und somit sicherstellt.

[0038] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung weist die Diffusionseinheit am Ausgang ihres Kanals eine Verjüngung oder eine Düse auf, mittels der das Austreten der Lösung aus der Diffusionseinheit steuerbar ist. Die Düse oder Verjüngung ist so aufgebaut, dass sich ihre Querschnittsflächen nach außen hin verkleinern.

[0039] Gemäß einer weiteren bevorzugten Weiterbildung ist die zweite Vorrichtung als eine mittels einer Antriebsvorrichtung angetriebene Walze oder Rolle ausgebildet, die den Seidenfaden aus einem Tropfen, der sich am Ausgang der Diffusionseinheit aus der proteinreichen Phase der Lösung bildet, zieht. Insbesondere ist auch die Antriebsvorrichtung mit der Steuervorrichtung gekoppelt, so dass das in dem Speicher der Steuervorrichtung gespeicherte Ablaufprogramm auch die Antriebsvorrichtung steuert, so dass insbesondere der kontinuierliche Prozess für das Ziehen des Fadens sichergestellt ist.

[0040] Gemäß einer weiteren bevorzugten Weiterbildung zieht die Walze oder Rolle den Spinnseidenfaden mittels einer für die Proteinassemblierung notwendigen Zugkraft.

[0041] Gemäß einer weiteren bevorzugten Weiterbildung ist die Diffusionseinheit als eine austauschbare Kartusche ausgebildet.

[0042] Gemäß einer weiteren bevorzugten Weiterbildung besitzt der Kanal der Diffusionseinheit zur Durchführung der Lösung einen im Wesentlichen konstanten Innendurchmesser.

[0043] Hiermit unterscheidet sich der Ansatz der vorliegenden Erfindung insbesondere vom Stand der Technik, z.B. der US 2003/0201560: der rohrförmige Abschnitt ist hier in allen Ausführungsformen als Trichter dargestellt. Es wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Molekülorientierung in einer Faser verbessert werden kann, wenn eine Düse mit einer konvergenten Geometrie verwendet wird. Die vorliegende Erfindung folgt diesem Ansatz vorzugsweise nicht.

[0044] Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung weist die Diffusionseinheit eine dritte Vorrichtung auf, mittels der die proteinarme Phase aus der Diffusionseinheit entfernbar ist.

[0045] Gemäß einer weiteren bevorzugten Weiterbildung ist die dritte Vorrichtung als eine Vakuumpumpe ausgebildet.

[0046] In einem dritten Aspekt betrifft die vorliegende Erfindung einen Faden, der durch das Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1-10 herstellbar ist. Dieser Faden wird vorzugsweise in Technik und Industrie für ballistische Anwendungen, wie der Entwicklung kugelsicherer Ausrüstungsgegenstände, zur Herstellung von Fallschirmen, Spezialseilen und Netzen, Sportartikeln, Textilien, Medizintechnik, aber auch für Leichtbaukomponenten von Flugzeugen verwendet.

[0047] Die vorliegende Erfindung wird nun anhand von Abbildungen und Beispielen verdeutlicht werden. Die Abbildungen zeigen Folgendes:

Abbildung 1 ein schematisches Blockdiagramm eines Ausführungsbeispiels der erfindungsgemäßen Vorrichtung zur Herstellung eines Fadens aus Seidenproteinen;

Abbildung 2 ein schematisches Blockschaltbild eines Ausführungsbeispiels der Diffusionseinheit gemäß der vorliegenden Erfindung;

Abbildung 3 eine photographische Abbildung einer Vorrichtung der vorliegenden Erfindung;

Abbildung 4 eine photographische Abbildung einer Diffusionseinheit der vorliegenden Erfindung;

Abbildung 5 gibt eine Analyse des assemblierten Fadens wider.

Abbildung 6 zeigt

(A-C) Naturseide von *A. diadematus*:

(A) vor dem Zugtest, (B) nach Zerreißen der Probe, (C) Querschnitt

(D-F) Synthetische Seide (AQ)24NR3 Probe 1:

(D) vor dem Zugtest, (E) nach Zerreißen der Probe, (F) Querschnitt.

[0048] In allen Abbildungen sind gleiche beziehungsweise funktionsgleiche Elemente und Vorrichtungen - sofern nichts anderes angegeben ist - mit denselben Bezugszeichen versehen worden.

[0049] In Abbildung 1 ist ein schematisches Blockschaltbild eines bevorzugten Ausführungsbeispiels der erfindungsgemäßen Vorrichtung 1 dargestellt.

[0050] Die erfindungsgemäße Vorrichtung 1 zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Herstellung eines Seidenfadens 7 aus Seidenproteinen weist eine erste Vorrichtung 2, eine Diffusionseinheit 4 und eine zweite Vorrichtung 6 auf.

[0051] Die erste Vorrichtung 2 verbringt die Lösung 3 aus Seidenproteinen in die Diffusionseinheit 4. Vorzugsweise ist die erste Vorrichtung 2 als eine mit einer steuerbaren Pumpe 21 gekoppelte Spritze 22 ausgebildet. Vorzugsweise

ist zwischen der Pumpe 21 und der Spritze 22 ein Reservoir 23 für die Lösung 3 angeordnet. Gemäß Abbildung 1 bezeichnet das Bezugszeichen F die Flussrichtung der Lösung 3 in das Reservoir 23. Weiterhin kann die erste Vorrichtung 2 als ein steuerbares Pumpsystem ausgebildet sein, das die Lösung 3 in einem kontinuierlichen Spritze 22 ausgebildet. Vorzugsweise ist zwischen der Pumpe 21 und der Spritze 22 ein Reservoir 23 für die Lösung 3 angeordnet. Gemäß

Abbildung 1 bezeichnet das Bezugszeichen F die Flussrichtung der Lösung 3 in das Reservoir 23. Weiterhin kann die erste Vorrichtung 2 als ein steuerbares Pumpsystem ausgebildet sein, das die Lösung 3 in einem kontinuierlichen Prozess in die Diffusionseinheit 4 verbringt. Vorzugsweise weist das Pumpsystem zumindest eine Schlauchpumpe auf.

[0052] Beispielsweise ist die erste Vorrichtung 2 mit der Diffusionseinheit 4 mittels einer Kanüle 8 verbunden.

[0053] Die Diffusionseinheit 4 weist einen Kanal 41 zur Durchführung der Lösung 3 auf. Der Kanal 41 ist mit einer Kalium- und Phosphationen enthaltenden Zusammensetzung 42 umgeben. Die Lösung 3 kommt mit den aus der Diffusionseinheit 4 diffundierenden Kalium- und Phosphationen in Berührung, so dass die Diffusionseinheit 4 am Ausgang 43 ihres Kanals 41 die in eine seidenproteinreiche Phase 5 und eine seidenproteinarme Phase aufgetrennte Lösung 3 bereitstellt. Vorzugsweise weist die Diffusionseinheit 4 am Ausgang 43 ihres Kanals 41 eine Verjüngung oder eine Düse 44 auf, mittels der das Austreten der Lösung 3 aus der Diffusionseinheit 4, insbesondere mittels ihrer geometrischen

Ausgestaltung steuerbar ist.

[0054] Ferner weist die erfindungsgemäße Vorrichtung 1 die zweite Vorrichtung 6 auf, die den Seidenfaden 7 aus der proteinreichen Phase 5 der Lösung 3 durch Zug generiert. Insbesondere ist die zweite Vorrichtung 6 als eine mittels einer Antriebsvorrichtung angetriebene Walze oder Rolle ausgebildet, die den Seidenfaden 7 aus einem Tropfen, der sich am Ausgang 43 der Diffusionseinheit 4 aus der proteinreichen Phase 5 der Lösung 3 bildet, zieht. Insbesondere zieht die Walze 6 den Spinnseidenfaden 7 mittels einer für die Proteinassamblierung notwendigen Zugkraft. Insbesondere weist die Antriebsvorrichtung, die die Walze 6 antreibt, einen Motor und/oder ein Getriebe auf.

[0055] Abbildung 2 zeigt ein besonders bevorzugtes Ausführungsbeispiel der in Abbildung 1 dargestellten Diffusionseinheit 4. Vorzugsweise ist der Innendurchmesser d des Kanals 41, der zur Durchführung der Lösung 3 dient, im Wesentlichen konstant.

[0056] Die Diffusionseinheit 4 ist vorzugsweise als austauschbare Kartusche ausgebildet, so dass die Diffusionseinheit 4 insbesondere dann ausgetauscht werden kann, wenn sie mit proteinarmer Phase der Lösung 3 gesättigt ist. Die Diffusionseinheit 4 weist insbesondere eine dritte Vorrichtung auf, mittels der die proteinarme Phase aus der Diffusionseinheit 4 entfernbar ist. Beispielsweise ist diese dritte Vorrichtung als eine Vakuumpumpe ausgebildet. Außerdem bezeichnet die in Abbildung 2 dargestellte Einheit mit dem Bezugszeichen 45 ein Pufferreservoir.

Beispiele:

[0057] Die hier beschriebene Erfindung integriert diese Prozesse in ein Spinnverfahren, das die maschinelle Herstellung mechanisch belastbarer Proteinfäden erlaubt.

[0058] Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung des Spinnverfahrens der Erfindung anhand einer Ausführungsform. Dieses Verfahren beinhaltet im Wesentlichen vier Komponenten. Eine regelbare Motor / Getriebeeinheit sorgt dafür, dass über eine Spritze die Spinnlösung kontinuierlich in eine Diffusionseinheit nachgeführt wird. In dieser aus einem Gel bestehenden Einheit diffundieren Kalium- und Phosphationen in die Spinnlösung, was zu einer Phasentrennung führt. Proteinreiche und -arme Phasen werden weiter zum Ausgang der Diffusionseinheit transportiert und treten dort mit Luft in Kontakt. Dieser Kontakt ist essentiell für den Spinnprozess und führt vermutlich zur Reduktion der wässrigen Phase durch Trocknungsprozesse.

[0059] Aus dem gebildeten Tropfen proteinreicher Phase wird ein Faden gezogen (Abb. 2). Durch Aufwickeln des Fadens auf eine über einen regelbaren Motor angetriebene Walze wird der für die Proteinassamblierung notwendige Zug aufrechterhalten und eine kontinuierliche Fadenbildung erreicht. Abbildung 2 zeigt Elemente der Diffusionseinheit gemäß einer Ausführungsform der Erfindung.

[0060] Die Funktionsfähigkeit der vorgestellten Methode konnte durch die Konstruktion eines Prototyps gezeigt werden (Abb.3). Die Motor- und Getriebeeinheit sowie das Gerüst des Prototyps wurden aus Elementen eines Metallbaukastens (Kompakt Technik GmbH, Schriesheim, Deutschland) aufgebaut. Für die Nachführung der Spinnlösung wurde eine 25 µl Proteinfaden wird von einer mit ca. 60 rpm rotierenden Teflonwalze von 4 cm Durchmesser aufgewickelt. Abbildung 4 ist eine Übersicht über die Diffusionseinheit.

[0061] Mit diesem Prototypen konnte eine 25 %ige Lösung des synthetischen Seidenproteins (AQ)₂₄NR3 (siehe (Huemmerich *et al.*, 2004) zu einem 4 µm dicken Faden versponnen werden (Abb. 5). Abbildung 5 gibt eine Analyse des assemblierten Fadens wider. (A) Der Faden wird mittels der Teflonwalze aufgewickelt. (B) Rasterelektronenmikroskopische Bild des entstandenen Fadens.

[0062] Mechanische Eigenschaften der Naturseide der Gartenkreuzspinne (*Araneus diadematus*) verglichen mit Fasern der synthetischen Seide (AQ)₂₄NR3 nach Verspinnen in dem beschriebenen Spinnapparat (zu Abb. 5C):

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55

Material	Durchschnittsfläche [μm ²]	Young's Modul [GPa]	Reissfestigkeit [MPa]	Bruchdehnung [%]	Zähigkeit [J/m ²]	Brucharbeit [MJ/m ³]
Naturseide von: <i>Araneus diadematus</i>	2.5 ± 0.1	11.9 ± 0.9	474 ± 20	8.96 ± 0.06	1232 ± 50	28.7
(AQ) ₂₄ NR3 Probe 1	1.7 ± 0.4	6.9 ± 1.4	238 ± 58	14.1 ± 0.1	1029 ± 242	25.4
(AQ) ₂₄ NR3 Probe 2	1.8 ± 0.2	8.2 ± 2.0	254 ± 45	10.8 ± 0.1	1169 ± 154	24.5

Referenzen

[0063]

- 5 Arcidiacono, S., Mello, C. M., Butler, M., Welsh, E., Soares, J. W., Allen, A., Ziegler, D., Laue, T. & Chase, S. (2002) Aqueous processing and fiber spinning of recombinant spider silks. *Macromolecules* 35: 1262-6
- Huemmerich, D., Helsen, C. W., Quedzuweit, S., Oschmann, J., Rudolph, R. & Scheibel, T. (2004) Primary structure elements of spider dragline silks and their contribution to protein solubility. *Biochemistry* 43: 13604-12
- 10 Lazaris, A., Arcidiacono, S., Huang, Y., Zhou, J. F., Duguay, F., Chretien, N., Welsh, E. A., Soares, J. W. & Karatzas, C. N. (2002) Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science* 295: 472-6
- Liivak, O., Blye, A., Shah, S. & Jelinski, L. W. (1998) A Microfabricated Wet-Spinning Apparatus To Spin Fibers of Silk Proteins. *Structure-Property Correlations. Macromolecules* 31: 2947-51
- Seidel, A., Liivak, O. & Jelinski, L. W. (1998) Artificial Spinning of Spider Silk. *Macromolecules* 31: 6733-6
- Seidel, A., Liivak, O., Calve, S., Adaska, J., Ji, G. D., Yang, Z. T., Grubb, D., Zax, D. B. & Jelinski, L. W. (2000)
- 15 Regenerated spider silk: Processing, properties, and structure. *Macromolecules* 33: 775-80
- Vollrath, F. & Knight, D. P. (2001) Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature* 410: 541-8

Patentansprüche

- 20
1. Verfahren zur Herstellung eines Fadens aus Seidenproteinen, das die folgenden Schritte umfasst:
 - a) Bereitstellen einer Lösung aus Seidenproteinen,
 - b) Überführen der Lösung in eine Diffusionseinheit, die eine Kalium- und Phosphationen enthaltende Zusammen-
 - 25 mensetzung aufweist;
 - c) Hindurchführen der Lösung durch die Diffusionseinheit, wobei die Lösung mit den aus der Diffusionseinheit diffundierenden Kalium- und Phosphationen in Berührung kommt;
 - d) Auftrennen der Lösung in eine Seidenproteinreiche und -arme Phase;
 - e) Gewinnen des Seidenfadens aus der proteinreichen Phase.
 - 30 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die Spinnlösung zumindest 1%-50%, bevorzugt 10-40 %, am meisten bevorzugt 10-20 % (G/V) an Seidenprotein enthält.
 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, wobei der pH der Lösung 4,0-12,0, bevorzugt 6,5-8,5, am meisten bevorzugt
 - 35 8,0 beträgt.
 4. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Lösung natürliche oder synthetische Seidenproteine umfasst.
 - 40 5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Seidenproteine von den Arten *Bombyx mori*, *Araneus diadematus* und/oder *Nephila clavipes* abgeleitet sind..
 6. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Lösung ein polares Lösungsmittel umfasst, das vorzugsweise aus Wasser, Alkoholen und Gemischen hiervon ausgewählt ist.
 - 45 7. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Gewinnung des Seidenfadens ein In-Berührung-Bnngen der proteinreichen Phase mit einem Gas oder einer Flüssigkeit einschließt.
 8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das Gas aus O₂, Inertgasen oder Gemischen hiervon ausgewählt ist.
 - 50 9. Verfahren nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Diffusionseinheit aus einem Gelmaterial oder einer Keramik gebildet ist.
 10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei das Gelmaterial aus Hydrogelen, insbesondere aus Polyacrylamid, Cellulose-
 - 55 derivaten, Polyvinylmethylether (PVME), Polystyrol-Polybutadien (PS-PB), Stearylacrylat, Polyethylen (PE), Polystyrol (PS), Polyvinylalkohol (PVA), Polyacrylsäure, Poly(N-vinylpyrrolidon) (PVP), Polyethylenterephthalat (PET), Polyisopropylacrylamid, Polyethersulfonsäure, Silikonhydrogelen ausgewählt ist.

11. Vorrichtung (1) zur Durchführung des Verfahrens nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, mit:

einer ersten Vorrichtung (2) die eine Lösung (3) aus Seidenproteinen in die Diffusionseinheit (4) verbringt;
der Diffusionseinheit (4), die einen Kanal (41) zur Durchführung der Lösung (3) aufweist der mit einer Kalium-
und Phosphationenenthaltenden Zusammensetzung (42) umgeben ist, wobei die Lösung (3) mit den aus der
Diffusionseinheit (4) diffundierenden Kalium- und Phosphationen in Berührung kommt, sodass die Diffusions-
einheit (4) am Ausgang (43) ihres Kanals (41) die in eine seidenproteinreiche und -arme Phase (5) aufgetrennte
Lösung (3) bereitstellt; und
einer zweiten Vorrichtung (6), die den Seidenfaden (7) aus der proteinreichen Phase (5) der Lösung (3) generiert.

12. Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei die erste Vorrichtung (2) als eine mit einer steuerbaren Pumpe (21) gekoppelte Spritze (22) ausgebildet ist.

13. Vorrichtung nach Anspruch 11, wobei die erste Vorrichtung (2) als ein steuerbares Pumpsystem ausgebildet ist, das die Lösung (3) in einem kontinuierlichen Prozess in die Diffusionseinheit (4) verbringt.

14. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 13, wobei die Diffusionseinheit (4) am Ausgang (43) ihres Kanals (41) eine Verjüngung oder eine Düse (44) aufweist, mittels der das Austreten der Lösung (3) aus der Diffusionseinheit (4) steuerbar ist.

15. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 14, wobei die zweite Vorrichtung (6) als eine mittels einer Antriebsvorrichtung angetriebene Walze oder Rolle ausgebildet ist, die den Seidenfaden (7) aus einem Tropfen, der sich am Ausgang (43) der Diffusionseinheit (4) aus der proteinreichen Phase (5) der Lösung (3) bildet, zieht.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15, wobei die Walze oder Rolle (6) den Spinnseidenfaden (7) mittels einer für die Proteinassemblierung notwendigen Zugkraft zieht.

17. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 16, wobei die Diffusionseinheit (4) als eine austauschbare Kartusche ausgebildet ist.

18. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 17, wobei die Antriebsvorrichtung einen Motor und/oder ein Getriebe aufweist.

19. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 18, wobei der Kanal (41) der Diffusionseinheit (4) zur Durchführung der Lösung (3) einen im Wesentlichen konstanten Innendurchmesser (d) aufweist.

20. Vorrichtung nach einem oder mehreren der Ansprüche 11 bis 19, wobei die Diffusionseinheit (4) eine dritte Vorrichtung aufweist, mittels der die proteinarme Phase aus der Diffusionseinheit (4) entfernbar ist.

21. Vorrichtung nach einem oder mehreren Ansprüche 11 bis 20, wobei die dritte Vorrichtung als eine Vakuumpumpe ausgebildet ist.

22. Faden, der durch das Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1-10 herstellbar ist.

23. Verwendung des Fadens nach Anspruch 22 in Technik und Industrie für ballistische Anwendungen, wie der Entwicklung kugelsicherer Ausrüstungsgegenstände, zur Herstellung von Fallschirmen, Spezialseilen und Netzen, Sportartikeln, Textilien, Medizintechnik und für Leichtbaukomponenten von Flugzeugen.

Claims

1. A method for the preparation of a thread from silk proteins, comprising the following steps:

- a) providing a solution of silk proteins;
- b) transferring the solution into a diffusion unit containing a composition comprising potassium and phosphate ions;
- c) passing the solution through the diffusion unit, wherein the solution comes into contact with the potassium and phosphate ions diffusing out of the diffusion unit;

- d) separating the solution into a silk protein-rich and silk protein-poor phase;
- e) obtaining the silk thread from the protein-rich phase.

2. The method according to claim 1, wherein the spinning solution contains at least 1%-50%, preferably 10-40%, most preferably 10-20% (w/v) silk proteins.

3. The method according to claim 1 or 2, wherein the pH of the solution is 4.0-12.0, preferably 6.5-8.5, most preferably 8.0.

4. The method according to one or more of the preceding claims, wherein the solution comprises natural or synthetic silk proteins.

5. The method according to claim 4, wherein the silk proteins are derived from the species *Bombyx mori*, *Araneus diadematus*, and/or *Nephila clavipes*.

6. The method according to one or more of the preceding claims, wherein the solution comprises a polar solvent which is preferably selected from water, alcohols and mixtures thereof.

7. The method according to one or more of the preceding claims, wherein the production of the silk thread includes contacting the protein-rich phase with a gas or a liquid.

8. The method according to claim 7, wherein the gas is selected from O₂, inert gases or mixtures thereof.

9. The method according to one or more of the preceding claims, wherein the diffusion unit is formed of a gel material or ceramics.

10. The method according to claim 9, wherein the gel material is selected from hydrogels, especially from polyacrylamide, cellulose derivatives, polyvinylmethylether (PVME), polystyrene-polybutadiene (PS-PB), stearylacrylate, polyethylene (PE), polystyrene (PS), polyvinylalcohol (PVA), polyacrylic acid, poly(N-vinylpyrrolidone) (PVP), polyethyleneterephthalate (PET), polyisopropyleneacrylamide, polyethersulfonic acid, silicone hydrogels.

11. An apparatus (1) for performing the method according to one or more of the preceding claims, with:

- a first device (2) transferring a solution (3) of silk proteins into the diffusion unit (4);
- the diffusion unit (4) having a channel (41) for passing through the solution (3) which is surrounded by the potassium and phosphate ions containing composition (42), wherein the solution (3) comes into contact with the potassium and phosphate ions diffusing out of the diffusion unit (4), so that the diffusion unit (4) provides a solution (3) separated into a silk protein-rich and silk protein-poor phase (5) at the outlet (43) of its channel (41);
- and
- a second device (6) generating the silk thread (7) from the protein-rich phase (5) of the solution (3).

12. The apparatus according to claim 11, wherein the first device (2) is formed as a syringe (22) coupled to a controllable pump (21).

13. The apparatus according to claim 11, wherein the first device (2) is formed as a controllable pump system transferring the solution (3) in a continuous process into the diffusion unit (4).

14. The apparatus according to one or more of claims 11 to 13, wherein the diffusion unit (4) has a diminution or nozzle (44) at the outlet (43) of its channel (41) by which the discharge of the solution (3) out of the diffusion unit (4) is controllable.

15. The apparatus according to one or more of claims 11 to 14, wherein the second device (6) is formed as a roll or a reel actuated by an actuating device drawing the silk thread (7) out of a drop which is formed from the protein-rich phase (5) of the solution (3) at the outlet (43) of the diffusion unit (4).

16. The apparatus according to claim 15, wherein the roll or reel (6) draws the spider silk thread (7) by means of a tensile force necessary for the protein assembly.

17. The apparatus according to one or more of claims 11 to 16, wherein the diffusion unit (4) is formed as an exchangeable cartridge.
18. The apparatus according to one or more of the 11 to 17, wherein the actuating device has a motor and/or a gear box.
19. The apparatus according to one or more of claims 11 to 18, wherein the channel (41) of the diffusion unit (4) has a substantially constant inside diameter (d) for passing the solution (3).
20. The apparatus according to one or more of claims 11 to 19, wherein the diffusion unit (4) has a third device by which the protein-poor phase can be removed from the diffusion unit (4).
21. The apparatus according to one or more of claims 11 to 20, wherein the third device is formed as a vacuum pump.
22. A thread obtainable by the method according to one or more of claims 1-10.
23. Use of the thread according to claim 22 in technology and industry for ballistic applications, such as the development of bulletproof equipment, for the manufacture of parachutes, special ropes and nets, sporting goods, textiles, medicine technology and for light construction components of aircrafts.

Revendications

1. Procédé pour la préparation d'un fil à partir de protéines de soie, qui comprend les étapes suivantes:
 - a) fourniture d'une solution de protéines de soie,
 - b) transfert de la solution dans une unité de diffusion, qui présente une composition contenant des ions potassium et phosphate;
 - c) passage de la solution à travers l'unité de diffusion, ce par quoi la solution vient en contact avec les ions potassium et phosphate qui diffusent à partir de l'unité de diffusion;
 - d) séparation de la solution en une phase riche et une phase pauvre en protéines de soie;
 - e) obtention du fil de soie à partir de la phase riche en protéines.
2. Procédé selon la revendication 1, dans lequel la solution à filer contient au moins 1%-50%, de préférence 10-40%, tout particulièrement préférablement 10-20% (en poids/volume) de protéine de soie.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, dans lequel le pH de la solution vaut 4,0-12,0, de préférence 6,5-8,5, et particulièrement préférablement 8,0.
4. Procédé selon l'une ou plusieurs des revendications précédentes, dans lequel la solution comporte des protéines de soie naturelles ou synthétiques.
5. Procédé selon la revendication 4, dans lequel les protéines de soie sont obtenues à partir des espèces *Bombyx mori*, *Araneus diadematus* et/ou *Nephila clavipes*.
6. Procédé selon l'une ou plusieurs des revendications précédentes, dans lequel la solution comporte un solvant polaire, qui est choisi de préférence parmi l'eau, les alcools et leurs mélanges.
7. Procédé selon l'une ou plusieurs des revendications précédentes, dans lequel l'obtention du fil de soie comporte une mise en contact de la phase riche en protéines avec un gaz ou un liquide.
8. Procédé selon la revendication 7, dans lequel le gaz est choisi parmi O₂, des gaz inertes ou leurs mélanges.
9. Procédé selon l'une ou plusieurs des revendications précédentes, dans lequel l'unité de diffusion est formée en un matériau en gel ou une céramique.
10. Procédé selon la revendication 9, dans lequel le matériau en gel est choisi parmi les hydrogels, en particulier en polyacrylamide, dérivés de cellulose, poly(éther de méthyle et de vinyle) (PVME), polystyrène-polybutadiène (PS-PB), acrylate de stéaryle, polyéthylène (PE), polystyrène (PS), poly(alcool vinylique) (PVA), poly(acide acrylique),

poly(pyrrolidone de N-vinyle) (PVP), poly(téréphtalate d'éthylène) (PET), poly(acrylamide d'isopropylène), poly(acide éthersulfonique), hydrogels de silicone.

11. Dispositif (1) pour la mise en oeuvre du procédé selon l'une ou plusieurs des revendications précédentes, comportant:

un premier appareillage (2) qui achemine une solution (3) de protéines de soie dans l'unité de diffusion (4);
l'unité de diffusion (4), qui présente un canal (41) pour faire passer la solution (3), qui est entouré par une composition (42) contenant des ions potassium et phosphate, tandis que la solution (3) vient en contact avec les ions potassium et phosphate qui diffusent à partir de l'unité de diffusion (4), de telle sorte que l'unité de diffusion (4) à la sortie (43) de son canal (41) procure la solution (3) séparée entre une phase riche et une phase pauvre en protéines de soie (5) ; et
un deuxième appareillage (6) qui génère le fil de soie (7) à partir de la phase riche en protéines (5) de la solution (3).

12. Dispositif selon la revendication 11, dans lequel le premier dispositif (2) a la forme d'un pulvérisateur (22) couplé avec une pompe (21) pouvant être commandée.

13. Dispositif selon la revendication 11, dans lequel le premier dispositif (2) a la forme d'un système de pompes pouvant être commandées, qui amène la solution (3) dans un processus en continu dans l'unité de diffusion (4).

14. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 13, dans lequel l'unité de diffusion (4) présente à la sortie (43) de son canal (41) un rétrécissement ou une buse (44), au moyen duquel (de laquelle) l'évacuation de la solution (3) hors de l'unité de diffusion (4) peut être commandée.

15. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 14, dans lequel le deuxième dispositif (6) est configuré comme un cylindre ou un rouleau actionné au moyen d'un dispositif d'actionnement, qui étire le fil de soie (7) à partir d'une goutte qui se forme à la sortie (43) de l'unité de diffusion (4) à partir de la phase riche en protéines (5) de la solution (3).

16. Dispositif selon la revendication 15, dans lequel la cylindre ou le rouleau (6) étire le fil de soie filé (7) au moyen d'une force de traction nécessaire pour l'assemblage des protéines.

17. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 16, dans lequel l'unité de diffusion (4) a la configuration d'une cartouche remplaçable.

18. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 17, dans lequel le dispositif d'actionnement comporte un moteur et/ou une transmission.

19. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 18, dans lequel le canal (41) de l'unité de diffusion (4) présente pour la traversée de la solution (3) un diamètre intérieur (d) essentiellement constant.

20. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 19, dans lequel l'unité de diffusion (4) comporte un troisième dispositif au moyen duquel la phase pauvre en protéines peut être évacuée hors de l'unité de diffusion (4).

21. Dispositif selon l'une ou plusieurs des revendications 11 à 20, dans lequel le troisième dispositif a la configuration d'une pompe à vide.

22. Fil, qui peut être préparé par le procédé selon l'une ou plusieurs des revendications 1-10.

23. Utilisation du fil selon la revendication 22 dans la technique et l'industrie pour des applications balistiques, comme le développement d'équipements pare-balles plus sûrs, pour la fabrication de parachutes, de câbles et de filets spéciaux, d'articles de sport, de textiles, de techniques médicales et pour des composants structuraux légers d'aéronefs.

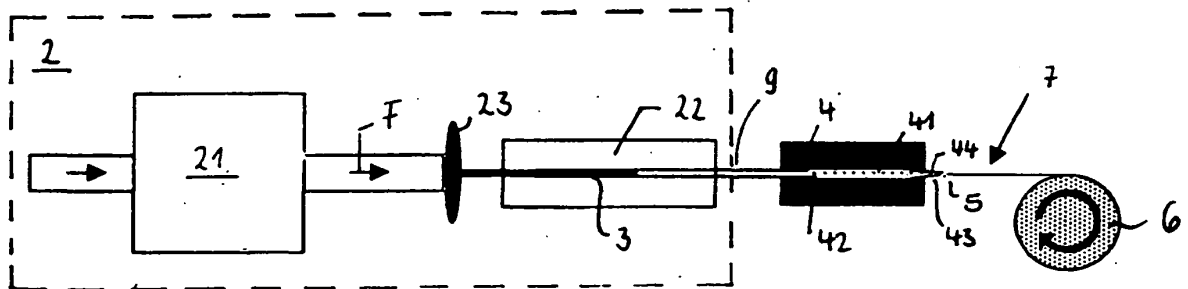


Abb. 1

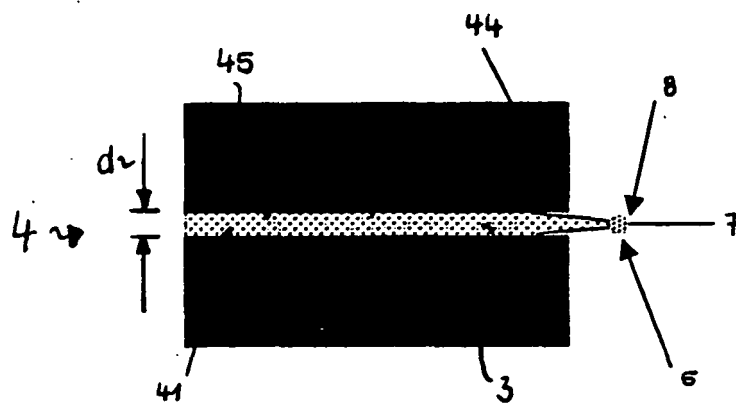


Abb. 2

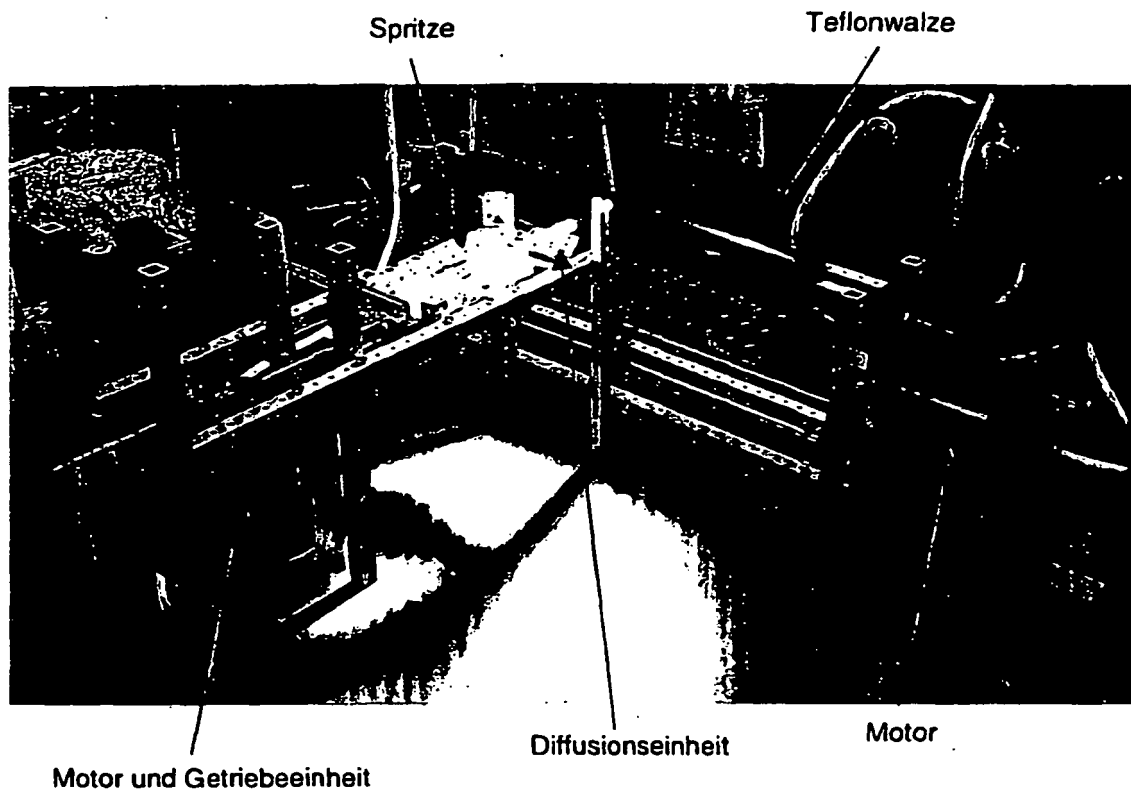


Abb. 3

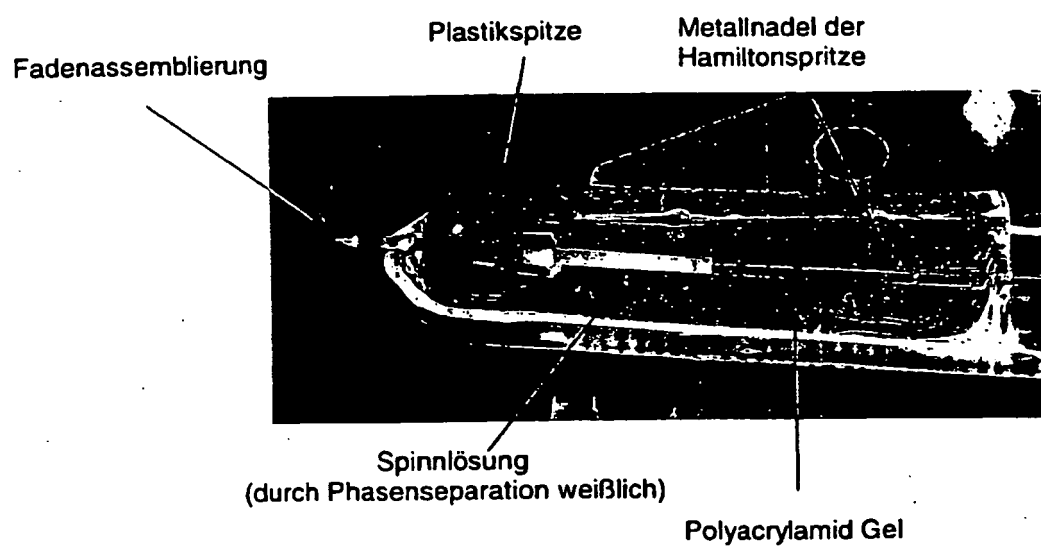


Abb. 4

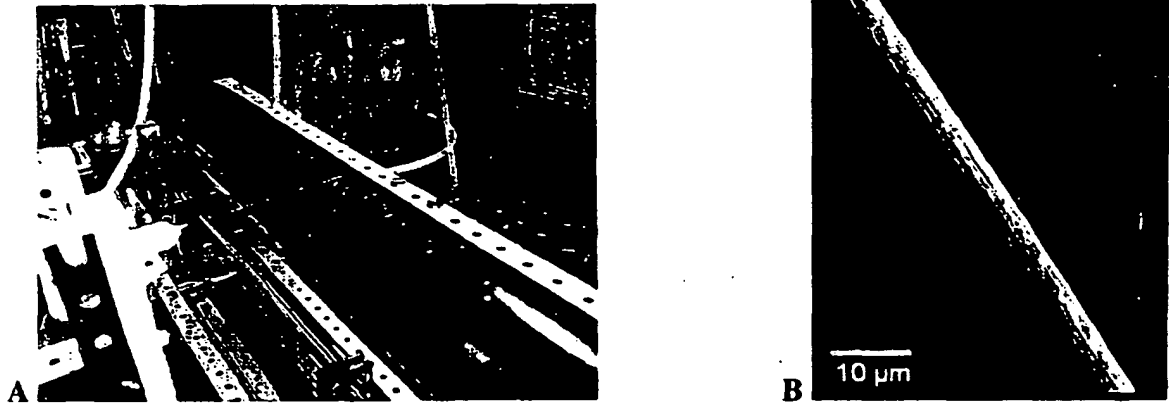


Abb. 5

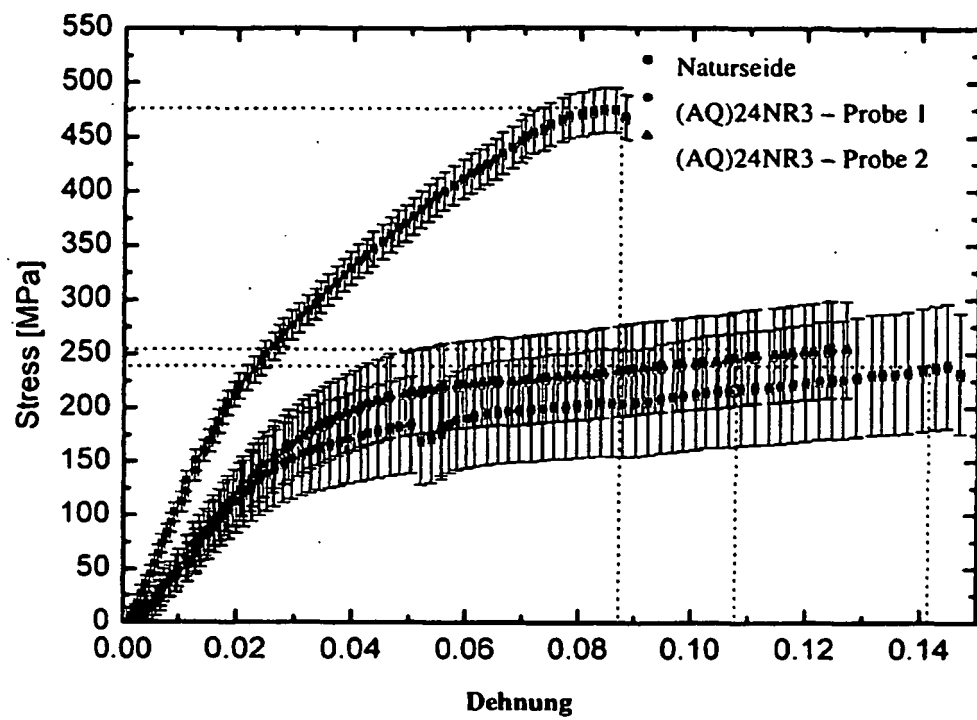


Abb. 5C

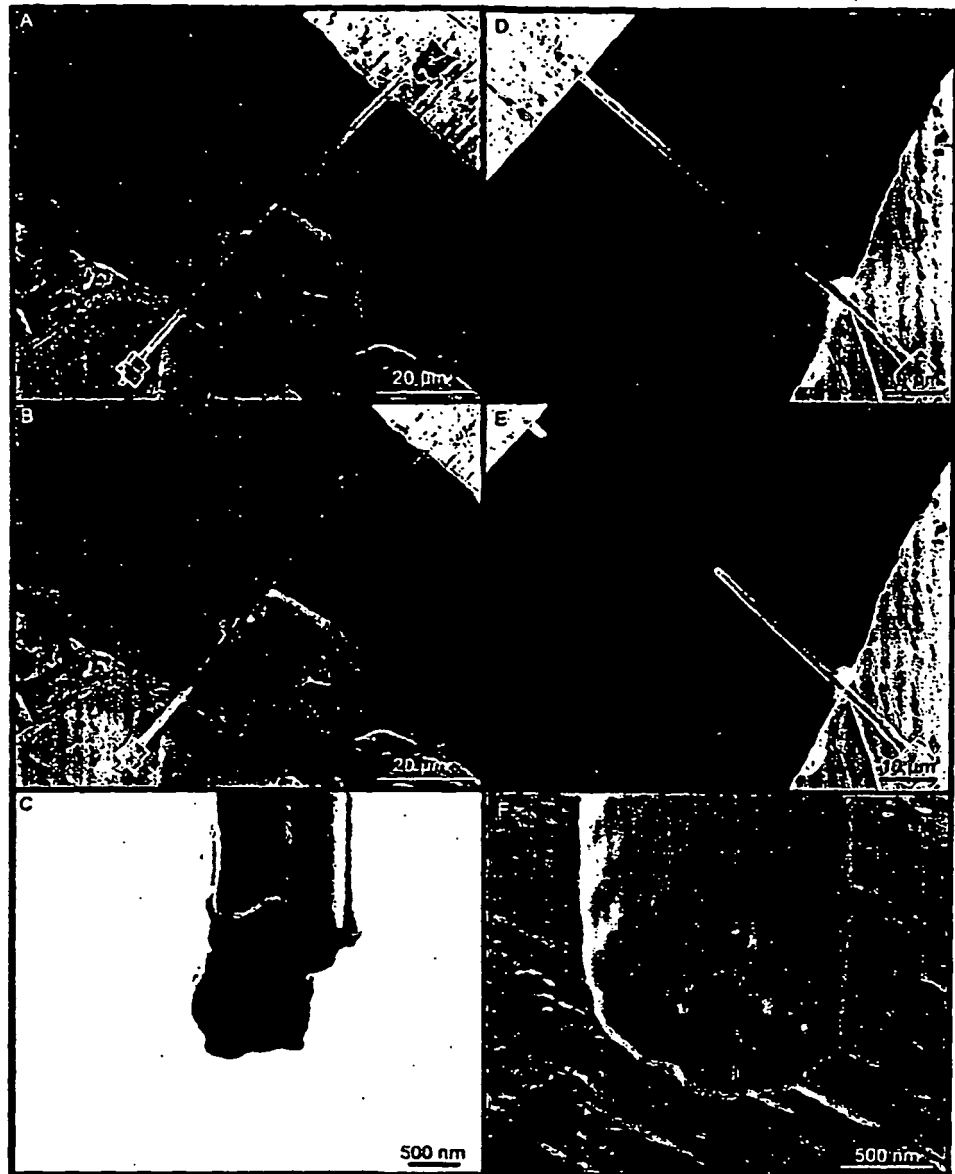


Abb. 6

IN DER BESCHREIBUNG AUFGEFÜHRTE DOKUMENTE

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde ausschließlich zur Information des Lesers aufgenommen und ist nicht Bestandteil des europäischen Patentdokumentes. Sie wurde mit größter Sorgfalt zusammengestellt; das EPA übernimmt jedoch keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

In der Beschreibung aufgeführte Patentedokumente

- US 20030201560 A [0008] [0043]
- WO 2005017237 A [0009]
- WO 2004057069 A [0010]
- WO 2003060099 A [0011]

In der Beschreibung aufgeführte Nicht-Patentliteratur

- **ARCIDIACONO, S. ; MELLO, C. M. ; BUTLER, M. ; WELSH, E. ; SOARES, J. W. ; ALLEN, A. ; ZIEGLER, D. ; LAUE, T. ; CHASE, S.** Aqueous processing and fiber spinning of recombinant spider silks. *Macromolecules*, 2002, vol. 35, 1262-6 [0063]
- **HUEMMERICH, D. ; HELSEN, C. W. ; QUEDZUWEIT, S. ; OSCHMANN, J. ; RUDOLPH, R. ; SCHEIBEL, T.** Primary structure elements of spider dragline silks and their contribution to protein solubility. *Biochemistry*, 2004, vol. 43, 13604-12 [0063]
- **LAZARIS, A. ; ARCIDIACONO, S. ; HUANG, Y. ; ZHOU, J. F. ; DUGUAY, F. ; CHRETIEN, N. ; WELSH, E. A. ; SOARES, J. W. ; KARATZAS, C. N.** Spider silk fibers spun from soluble recombinant silk produced in mammalian cells. *Science*, 2002, vol. 295, 472-6 [0063]
- **LIIVAK, O. ; BLYE, A. ; SHAH, S. ; JELINSKI, L. W.** A Microfabricated Wet-Spinning Apparatus To Spin Fibers of Silk Proteins. Structure-Property Correlations. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, 2947-51 [0063]
- **SEIDEL, A. ; LIIVAK, O. ; JELINSKI, L. W.** Artificial Spinning of Spider Silk. *Macromolecules*, 1998, vol. 31, 6733-6 [0063]
- **SEIDEL, A. ; LIIVAK, O. ; CALVE, S. ; ADASKA, J. ; JI, G. D. ; YANG, Z. T. ; GRUBB, D. ; ZAX, D. B. ; JELINSKI, L. W.** Regenerated spider silk: Processing, properties, and structure. *Macromolecules*, 2000, vol. 33, 775-80 [0063]
- **VOLLRATH, F. ; KNIGHT, D. P.** Liquid crystalline spinning of spider silk. *Nature*, 2001, vol. 410, 541-8 [0063]