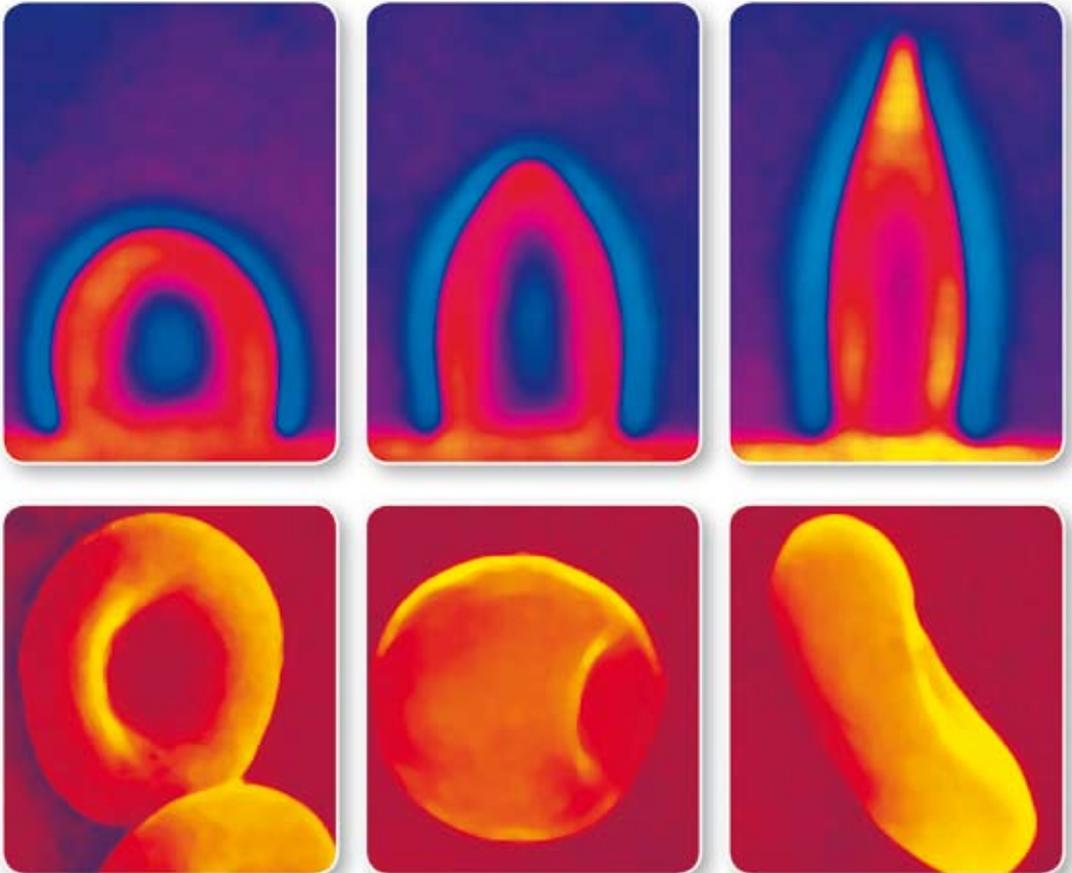


Erich Sackmann
Rudolf Merkel

Lehrbuch der Biophysik



Biophysik

Paragrafen Übersicht (Stand (Shoh): 15.05.2009)

- §01 Einleitung (Seite 10)
 - 1 Eine Einführung in das Studium der Biophysik (Seite 10)
 - 1.1 Woher kommt und wozu treiben wir Biophysik: (Seite 10)
 - 1.2 Eine kurze Geschichte der Biologischen Physik. (Seite 14)
 - 1.3 Leben als Zusammenspiel von Genetik und Physik. (Seite 20)
 - 1.3.1 Die Erfindung der molekularen Elektronenspeicher (Seite 21)
 - 1.3.2 Selbstorganisation smarterer Moleküle durch formabhängige zwischenmolekulare Kräfte (Seite 22)
 - 1.3.3 Der Muskel als Musterbeispiel der hierarchischen Struktur biologischer Materie (Seite 23)
 - 1.3.4 Skalengesetze der Physik als Konstruktionsprinzip (Seite 26)
 - 1.3.5 Die Natur als Konstrukteur. (Seite 27)
- §02 Die Zelle (Seite 31)
 - 2 Die Zelle (Seite 31)
 - 2.1 Die Zelle als dicht gepacktes kolloidales System aus funktionellen Untereinheiten (Seite 31)
 - 2.2 Die funktionellen Kompartimente (Organellen) der Zelle (Seite 38)
 - 2.3 Wie neue Zellen entstehen. (Seite 45)
 - 2.4 Die Zellteilung: (Seite 47)
- §03 Einführung Thermodynamik (Seite 50)
 - 3 Einführung in die Thermodynamik (Seite 50)
 - 3.1 Phänomenologische Thermodynamik (Seite 51)
 - 3.1.1 Thermodynamische Potentiale (Seite 56)
 - 3.1.2 Thermodynamische Gleichgewichte (Seite 62)
 - 3.2 Statistischer Zugang zur Wärmelehre (Seite 68)
 - 3.2.1 Unterscheidung zwischen Mikro- und Makrozuständen (Seite 68)
 - 3.2.2 Abgeschlossene Systeme ohne Materialaustausch: Die kanonische Gesamtheit (Seite 69)
 - 3.2.3 Reale Gase — Die Van der Waals Gleichung (Seite 75)
 - 3.2.4 Der Entropiebegriff für Mikrozustände (Seite 77)
 - 3.2.5 Systeme mit Teilchenaustausch: Die großkanonische Gesamtheit (Seite 79)
 - 3.2.6 Chemische Potentiale in verdünnten Lösungen (Seite 82)
 - 3.2.7 Der osmotische Druck (Seite 88)
 - 3.2.8 Verteilung einer Substanz zwischen zwei Phasen (Seite 90)
 - 3.2.9 Chemische Reaktionen (Seite 93)
 - 3.2.10 Diffusion (Seite 94)
 - 3.3 Anhang (Seite 96)
 - 3.3.1 Anhang 3.1: Methode der Kreisprozesse zur Herleitung der Entropie (Seite 96)
 - 3.3.2 Anhang 3.2: Herleitung der Zustandsgleichung eines idealen Gases im Rahmen der statistischen Mechanik (Seite 98)
 - 3.3.3 Anhang 3.4: Herleitung der Gibbs-Duhem-Beziehung (Seite 101)
- §04 Wichtige Chemische Reaktionen (Seite 102)
 - 4 Biologisch essentielle physikochemische Reaktionen (Seite 102)
 - 4.1 Das Säure/Base-Gleichgewicht (Seite 102)
 - 4.1.1 Die Stärke von Säuren und Basen: Der pH-Wert wässriger Lösungen (Seite 104)
 - 4.1.2 Das Säure/Base-Gleichgewicht in Gegenwart von Salzen (Pufferwirkung) (Seite 107)
 - 4.2 Reaktionen mit Elektronentransfer (Redoxreaktionen) (Seite 110)
 - 4.2.1 Zwischenspeicherung freier Elektronen (Seite 111)
 - 4.2.2 Redoxreaktionen (Seite 112)
 - 4.2.3 Das Redoxpotential (Seite 113)
- §05 Wichtige Bausteine (Seite 118)
 - 5 Wichtige Bausteine lebender Systeme und deren Polymerisation (Seite 118)
 - 5.1 Die Aminosäuren und ihre Polymere (Seite 119)
 - 5.1.1 Die Polyaminosäuren (Proteine) (Seite 124)
 - 5.2 Die Purin- und Pyrimidinbasen (Seite 125)
 - 5.2.1 Nukleoside und Nukleotide (Seite 127)
 - 5.2.2 Poly-Nukleotide (Seite 128)
 - 5.3 Zucker spielt eine vielfältige Rolle als Energiespeicher, Strukturelement und molekulare Erkennungsgruppe (Seite 130)
 - 5.4 Der Träger der biologischen Energie (biologisches Energiequant): ATP (Adenosintriphosphat) (Seite 137)
 - 5.5 Die Topologie der Moleküle bestimmt die Funktion (Seite 138)
 - 5.6 Anhang (Seite 140)
 - 5.6.1 Anhang 5.1: Chemische Strukturformeln (Seite 140)
- §06 Proteine Grundlagen (Seite 142)
 - 6 Proteine, physikalische Eigenschaften (Seite 142)
 - 6.1 Grundlegendes zur Struktur der Proteine (Seite 142)
 - 6.2 Physikalische Wechselwirkungen in und zwischen Proteinen (Seite 148)
 - 6.2.1 Kovalente Bindungen (Seite 149)
 - 6.2.2 Veränderung der Bindungswinkel (Seite 150)
 - 6.2.3 Drehungen von kovalenten Bindungen (Seite 151)
 - 6.2.4 Sterische Abstoßung (Seite 152)
 - 6.2.5 Ramachandran-Diagramm, Geometrie der Peptid-Bindung (Seite 153)
 - 6.3 Elektrostatische Wechselwirkungen (Seite 156)
 - 6.3.1 Punktladungen in Dielektrika (Seite 156)
 - 6.3.2 Bornsche Selbstenergie (Seite 158)
 - 6.3.3 Punktladungen in Elektrolyt-Lösungen (Seite 159)

6.3.4	Dipolare oder van der Waals Wechselwirkungen	(Seite 167)
6.4	Wasserstoffbrücken-Bindungen	(Seite 174)
6.5	Hydrophobe Wechselwirkung	(Seite 175)
6.6	Dehydratisierungskräfte	(Seite 182)
6.7	„Depletion Forces“, eine durch Makromoleküle vermittelte Wechselwirkung	(Seite 183)
6.8	Freie-Volumen-Effekte in vielkomponentigen Lösungen („Molecular Crowding“)	(Seite 186)
6.8.1	Gelpermeationschromatographie als Bewegung in einem „gefüllten“ Volumen	(Seite 189)
6.8.2	Chemische Reaktionen und Aktivitätskoeffizienten in Lösungen mit geringem freiem Volumen	(Seite 192)
6.9	Anhang	(Seite 197)
6.9.1	Appendix A6.1	(Seite 197)
6.9.2	Appendix A6.2	(Seite 198)
§07	Protein Faltung	(Seite 202)
7	Proteinfaltung, Konformations-Umwandlungen und -Fluktuationen	(Seite 202)
7.1	Proteinfaltung	(Seite 202)
7.1.1	Der Phasenraum der Proteinfaltung	(Seite 206)
7.1.2	Thermisch getriebene Passage über energetische Barrieren	(Seite 207)
7.1.3	Thermisch getriebene Passage über energetische Barrieren – Theorie des Übergangszustands	(Seite 209)
7.1.4	Thermisch getriebene Passage über energetische Barrieren – Theorie von Kramers	(Seite 211)
7.1.5	Die Proteinfaltung wird durch lokale und nicht-lokale Wechselwirkungen bestimmt	(Seite 217)
7.1.6	Mehrere kinetisch verknüpfte Minima im Trichter	(Seite 226)
7.1.7	Tiefe kinetische Fallen	(Seite 228)
7.2	Sekundärstruktur-Elemente, Faltung aufgrund lokaler Wechselwirkungen und Konformationsumwandlungen	(Seite 230)
7.2.1	Kooperative Konformationsumwandlungen – Das Reißverschluss-Modell	(Seite 233)
7.2.2	Schmelzen von DNS	(Seite 241)
7.2.3	Kooperativität von Umwandlungen im Bild eines chemischen Gleichgewichts	(Seite 245)
7.2.4	Kooperativität bei der Ligandenbindung – der Hill-Koeffizient	(Seite 248)
7.2.4.1	Kooperativität bei Ligandenbindung – Das Modell von Monod, Wyman und Changeux am Beispiel des Hämoglobins	(Seite 251)
7.2.5	Vorhersage von Protein-Sekundärstrukturen	(Seite 256)
7.3	Dynamik von Biomakromolekülen	(Seite 258)
7.3.1	Simulation von Proteinstrukturen	(Seite 258)
7.3.2	Dynamik von Proteinen bei tiefen Temperaturen	(Seite 266)
7.4	Anhang	(Seite 273)
7.4.1	Appendix 1: Genauere Betrachtung der Theorie des Übergangszustands	(Seite 273)
7.4.2	Appendix 2	(Seite 279)
7.4.3	Appendix 3: Der Verlet-Algorithmus zur Integration der Zeitschritte in klassischen Molekulardynamik-Simulationen.	(Seite 280)
§08	Molekulare Erkennung	(Seite 282)
8	Molekulare Erkennung	(Seite 282)
8.1	Das Konzept der spezifischen Bindung	(Seite 282)
8.1.1	Strategien zur Erzielung hoher Spezifität	(Seite 285)
8.1.2	Beispiele für spezifische Bindungen	(Seite 288)
8.2	Mechanisches Brechen spezifischer Bindungen	(Seite 293)
8.2.1	Exkurs über die mechanische Stabilität der Proteinfaltung	(Seite 305)
8.2.2	Mechanisches Brechen der Basenpaarung in DNS	(Seite 311)
8.3	Thermisch fluktuierende Federn – Der Brownsche Oszillator	(Seite 313)
§09	Membranen Architektur und Funktionen	(Seite 324)
9	Molekulare Architektur und Funktionen biologischer Membranen	(Seite 324)
9.1	Synopsis: Weshalb sollen sich Physiker für biologische Membranen interessieren?	(Seite 324)
9.2	Mikro-Anatomie biologischer Verbundmembranen: Erythrozyten als Paradigma.	(Seite 326)
9.3	Molekulare Architektur biologischer Membranen	(Seite 332)
9.3.1	Membranen als Multikomponenten Lipid Legierungen: Das Lipidom.	(Seite 332)
9.3.1.1	Über die Verteilung der Lipide zwischen den Kompartimenten : ein erster Wege zur Spezialisierung der Membranen	(Seite 335)
9.3.1.2	Die vier Hauptklassen der Membranproteinen: ein Überblick	(Seite 338)
9.4	Aufbau elektrischer Potentiale durch molekulare Pumpen und Ionen-Transporter	(Seite 342)
9.4.1	Mechanismus des Ionen-Transports durch P-Typ-ATPasen.	(Seite 344)
9.4.2	Zur Energetik der Pumpen.	(Seite 346)
9.5	Ein kurzes Intermezzo über die Biosynthese der Membranen	(Seite 347)
9.5.1	Protein Transfer in Mitochondrien:	(Seite 350)
9.6	Intrazellulärer Transport durch Vesikel schafft Ordnung in den Zellen	(Seite 353)
9.6.1	Konditionierung der Proteine: eine Aufgabe des Golgi.	(Seite 355)
9.7	Eisen-Import durch Clathrin-ummantelte Vesikel.	(Seite 356)
9.8	Signalübertragung und Signalverstärkung an Membranen	(Seite 358)
9.9	Photonenempfänger der Augen funktionieren nach dem Prinzip der Hormon Verstärker	(Seite 361)
9.10	Balance zwischen Universalität und Spezifität der Signal-Übertragung an Membranen	(Seite 369)
9.11	Appendix Enzym-gekoppelte Hormonverstärker (Rezeptor Tyrosin Kinasen).	(Seite 371)
§10	Thermodynamik der Membranen	(Seite 375)
10	Selbstorganisation und Dynamik biologischer Membranen.	(Seite 375)
10.1	Einleitung:	(Seite 375)
10.2	Selbstorganisation und lyotroper Polymorphismus der Lipide in Wasser: Einschalige Vesikel als Null-Modell biologischer M	(Seite 376)
10.2.1	Der hydrophobe Effekt bestimmt die Selbstorganisation und Stabilität der Zellmembranen	(Seite 379)
10.3	Thermisch und elektrisch induzierte strukturelle Phasenumwandlungen der Membranen.	(Seite 381)
10.3.1	Thermotrope Phasenumwandlung	(Seite 381)
10.3.2	Zur Kontrolle der Phasenumwandlung und deren Bedeutung für das Überleben der Zellen.	(Seite 385)
10.3.3	Membranen als geladene Grenzflächen: Ladungsinduzierte Phasenumwandlungen, Lokaler pH an Oberflächen.	

	(Seite 388)	
10.4	Molekular-statistisches Modell der Phasenumwandlung	(Seite 392)
10.4.1	Charakterisierung der flüssigkristallinen Ordnung	(Seite 394)
10.4.2	Theoretische Modelle der Phasenumwandlung	(Seite 397)
10.5	Hierarchie dynamischer Membranprozesse.	(Seite 399)
10.6	Membranen als Flüssigkeiten zwischen zwei und drei Dimensionen .	(Seite 402)
10.7	Messung hydrodynamischer Radien und Reibungskoeffizienten von Membranproteinen	(Seite 405)
10.7.1	Die effektive Reibung durch molekulare Entbindungsprozessen	(Seite 408)
10.8	Das Freie-Volumen-Modell: Die Beweglichkeit hängt von der Packungsdichte der Lipide ab.	(Seite 409)
10.9	Beobachtung der molekularen Dynamik durch Quasielastische Neutronenstreuung (QENS) und Fluoreszenz-	
	Korrelations-Spektrum	(Seite 410)
10.9.1	Die Verteilungsfunktion molekularer Sonden bilden die gemeinsamen Basis der Methoden.	(Seite 411)
10.9.2	Quasielastisch Neutronenbeugung	(Seite 412)
10.9.3	Fluoreszenzkorrelationsfunktion Spektroskopie (FCS). I	(Seite 418)
§11	Zellen als elastische Schalen	(Seite 421)
11	Membranen als semiflexible elastische Schalen (In Einleitung als „schwierig“ markieren***)	(Seite 421)
11.1	Einführung in die Grundlagen der Elastizität weicher Schalen	(Seite 421)
11.1.1	Methoden der Messung elastischer Konstanten.	(Seite 428)
11.2	Formenvielfalt biologischer Schalen als Minimalflächen der elastischen Energie.	(Seite 430)
11.3	Lokale Modulation und Stabilisierung der Formen durch Zytoskelett-Membran-Kopplung..	(Seite 434)
11.4	Erythrozyten sind Wunderwerk der mechanischen Konstruktion. Die Panzerkettenbewegung.	(Seite 437)
11.5	Membranen als statistische Flächen, Membranflackern und Ondulationskräfte.	(Seite 439)
11.5.1	11.5.1: Fourierspektroskopie der dynamische Rauigkeit von Vesikeln und Zellen	(Seite 439)
11.5.2	Konsequenzen und hilfreiche Anwendungen: entropische Spannungen und Ondulationskräfte.	(Seite 441)
11.5.3	Die Peristenzlänge semiflexibler Membranen	(Seite 446)
11.5.4	Die Biologische Bedeutung der Ondulationen	(Seite 448)
§12	Thermodynamik der Domänen	(Seite 450)
12	Thermomechanischen Prinzipien der Feinstruktur und Funktion biologischer Membranen.	(Seite 450)
12.1	Synopsis:Warum sollen wir uns mit Phasendiagramme von Lipid-Legierungen befassen?	(Seite 450)
12.2	Thermodynamik der Lipidmischungen	(Seite 452)
12.3	Selektive Lipid Protein Wechselwirkung und Protein Sortierung: Das Prinzip der Längenadaption	(Seite 461)
12.3.1	Sortierung von Lipiden und Proteinen durch das Prinzip der Längenadaption	(Seite 461)
12.3.2	Durch Lipide vermittelte Protein-Protein Wechselwirkung:	(Seite 464)
12.3.3	Entropie getriebene Protein Aggregation	(Seite 465)
12.3.4	Optimierung von Membranprozessen durch das Prinzip der Längenadaption	(Seite 465)
12.3.5	Membran-Defekte als Modulatoren der Enzymaktivität attraktive Zentren.	(Seite 467)
12.4	Globale Formenvielfalt durch laterale Phasentrennung und metastabile Domänenbildung	(Seite 470)
12.4.1	Phasentrennung führt zur Bildung metastabiler Domänen	(Seite 471)
12.5	Krümmungselastische Prinzipien des intrazellulären Transports	(Seite 472)
12.5.1	Lokale Invaginationen als Speicher und Initiatoren des Vesikeltransports	(Seite 473)
12.5.2	Problem der Vesikel Abspaltung	(Seite 476)
12.6	Membrane Fusion als Zusammenspiel zwischen spezifischen und generischen Prozessen.	(Seite 479)
12.6.1	Energetik der Porenbildung	(Seite 483)
12.7	Appendix: Geometrische Konstruktion der Phasendiagramme.	(Seite 483)
§13	Zelladhäsion	(Seite 488)
13	Zelladhäsion als Wechselspiel spezifischer, universeller und elastischer Kräfte	(Seite 488)
13.1	Einleitung	(Seite 488)
13.2	Modellsysteme liefern Einblick in die Physik der Adhäsion.	(Seite 493)
13.3	Die Zelladhäsion als Benetzungsübergang erster Ordnung	(Seite 498)
13.3.1	Hebekräfte stabilisieren die Adhäsions durch Domänenwachstum:	(Seite 503)
13.4	Eine Zwischenbilanz	(Seite 504)
13.4.1	Bioadhäsion und Gewebebildung	(Seite 504)
13.4.2	Adaption der Zelladhäsion	(Seite 506)
13.5	Adhäsionsdomänen sind Aktivoren der Immunantwort.	(Seite 507)
13.6	Zusammenfassung:	(Seite 510)
13.7	Appendix.A. Klassifizierung der Zellrezeptoren	(Seite 510)
13.8	Appendix B: Zur Stimulation der T-Lymphozyten durch Antigen präsentierende Zellen (APC).	(Seite 512)
§14	Nervenleitung Physiologie	(Seite 514)
14	Physiologie und Elektrostatik der Nervenleitung	(Seite 514)
14.1	Einleitung	(Seite 514)
14.2	14.2. Das Nervensystem. Phänomenologie der Nervenleitung	(Seite 515)
14.2.1	Signalübertragung an den Synapsen durch Signalsubstanzen.	(Seite 518)
14.3	Elektrostatik der Nervenleitung	(Seite 521)
14.3.1	Das elektrische Membran-Potential: Ein Überblick.	(Seite 521)
14.3.2	Wie elektrochemische Potential Ionenströme durch passive Membranen treiben.	(Seite 524)
14.3.3	(ehem. 14.3.2.) Das Planck'sche Diffusionspotential	(Seite 527)
14.3.4	(ehem 14.3.3.) Das Donnan-Potential (Optional)	(Seite 528)
14.3.5	(ehem 14.3.4.) Die Goldman-Gleichung des stationären Membranpotentials (Ruhepotentials)	(Seite 529)
14.3.6	(ehem 14.3.5.) Das stationäre (steady state) Potential VSS	(Seite 532)
14.3.7	(ehem 14.3.6.) Das Ruhepotential des Tintenfisch-Axons bestätigt die Goldman-Gleichung	(Seite 534)
14.3.8	(ehem 14.3.7.) Zur Strombilanz: Balance zwischen aktiven und passiven Strömen	(Seite 536)
§15	NL Elektrostatik und -dynamik	(Seite 537)
15	Elektrodynamik der Nervenregung	(Seite 537)
15.1	Erregung der Nervenmembran: Das Aktionspotential.	(Seite 537)
15.1.1	Beobachtung der Aktionspotentiale mit Fluoreszenzsonden und Transistoren	(Seite 541)
15.2	Der elektrische Äquivalenzkreis erregbarer Membranen	(Seite 542)
15.2.1	Das Aktionspotential besteht aus drei Phasen	(Seite 543)

15.3	Fundamentale Experimente der Neurophysik	(Seite 544)	
15.3.1	Analyse der Ionenströme durch Variation der Elektrolyt-Konzentration	(Seite 544)	
15.3.2	Trennung der Ströme durch Anwendung von Kanal-Blockern	(Seite 546)	
15.3.3	Wie viele Ionen fließen beim Aktionspotential	(Seite 547)	
15.3.4	Einzelkanalmessungen mit Flecken-Klemmtechnik (Patch-Clamp Technique)	(Seite 547)	
15.3.5	Zellen benötigen eine Erholungsphase (Refraktärphase)	(Seite 549)	
15.3.6	Das Aktionspotential muss durch einen Verschiebungsstrom (engl: gating-current) eingeschaltet werden.		
	(Seite 550)		
15.4	Die Huxley-Hodgkin-Gleichungen	(Seite 552)	
15.5	Molekulare Mechanismen des Ionen transports durch Kationen-Kanäle	(Seite 557)	
15.6	Molekularer Mechanismus der Signalübertragung an den Synapsen:	(Seite 561)	
15.7	Kinetik und Statistik des Ionen transports durch Membranen	(Seite 567)	
15.7.1	Ionen transport durch Ionophore und Antibiotika	(Seite 567)	
15.7.2	Analyse der Kinetik der Porenbildung durch Spannungssprung-Experimente	(Seite 571)	
15.7.3	Fourierspektroskopie der Stromfluktuationen	(Seite 573)	
15.8	Appendix: Ein thermodynamisches Modell elektrisch und chemisch gesteuerter Ionenkanäle und anderer kooperativer Prozesse	(Seite 577)	
15.9	Appendix: Kooperative Modelle der Nervenerregung	(Seite 582)	
15.9.1	Epilog	(Seite 584)	
§16	Signalfortpflanzung im Axon	(Seite 586)	
16	Die Signalfortpflanzung in Axonen und Axonmodelle:	(Seite 586)	
16.1	Nervenleiter als Koaxial-Kabel mit diffusivem Signaltransport	(Seite 586)	
16.2	Huxley Hodgkin Gleichung Ausbreitung aktiver Aktionspotentiale	(Seite 591)	
16.3	Zur Beschleunigung der Signalfortpflanzung erfand die Natur die Myelinhülle	(Seite 593)	
16.4	Das Fitzhugh-Nagumo-Modell der Nervenerregung:	(Seite 596)	
16.5	(ehem 16.6.) Bezug der Nervenleitung zum Van der Pol-Oszillator	(Seite 602)	
16.6	(ehem 16.7.) Die Nervenfasern als aktives Impuls-Übertragungssystem: ein elektrisches Modell	(Seite 605)	
16.6.1	Realisierung des Fitzhugh Modells durch Tunnelioden	(Seite 605)	
§17	Biorhythmik Steuerung der Herzkontraktion	(Seite 612)	
17	Biorhythmik durch Synchronisation selbsterregender Oszillatoren	(Seite 612)	
17.1	Einleitung	(Seite 612)	
17.2	Kontrolle der Herzkontraktion - Ein lebenswichtiges Beispiel	(Seite 613)	
17.3	Abnormale Rhythmen. - Der Herzblock (engl Heart Block)	(Seite 616)	
17.4	Zellkulturen als Herz-Modell	(Seite 618)	
17.5	Zur Theorie der externen Stimulation selbsterregender Oszillatoren Herzflimmern als Problem der Phasenstabilisierung	(Seite 621)	
17.6	Zusammenfassung: Deterministisches Chaos	(Seite 623)	
17.7	Appendix A. Periodische Erregung und Synchronisation des Van der Pol Generators.	(Seite 624)	
§18	Mikroanatomie und Funktion des Zytoskeletts	(Seite 626)	
18	Mikroanatomie und Funktion des Zytoskeletts.	(Seite 626)	
18.1	Zur Struktur und Biochemie der Bausteine	(Seite 626)	
18.1.1	Aktinfilamente sind reversibel polymerisierbare (lebende) Polymere.	(Seite 627)	
18.1.2	Mikrotubuli als lebende Nano-Röhren	(Seite 630)	
18.1.3	Die Intermediär-Filamente (IMF):	(Seite 633)	
18.2	Der Aktin cortex als Vielzweckmaschine-Manipulation der Struktur der Aktinnetzwerke in der Zelle.	(Seite 634)	
18.2.1	Zellen laufen mit Pseudofüßchen (Pseudopodien)	(Seite 637)	
18.2.2	Filipodien als Fühler und Beutefänger der Zellen	(Seite 640)	
18.3	Aktinbindungsproteine (ABP) als Regulatoren des Aktin basierten -Zytoskeletts.	(Seite 641)	
18.4	Pseudopodienbildung durch „Wanderdünen-Mechanismus“.	(Seite 647)	
18.5	Modelle der Pseudopodienbildung:	(Seite 648)	
18.6	Externe Signale kontrollieren die Aktivität der ABP. über biochemische Schalter	(Seite 650)	
§19	Lineare Motoren	(Seite 653)	
19	Molekulare Linearmotoren der Zellen	(Seite 653)	
19.1	Vorbemerkung	(Seite 653)	
19.1.1	Aktin-Polymerisation als Antriebssystem	(Seite 653)	
19.2	(19.1.) Die Motoren der Myosin Familie	(Seite 655)	
19.3	Molekularer Mechanismus der Krafterzeugung	(Seite 658)	
19.3.1	Prozessivität und Kinetik der Motoren	(Seite 659)	
19.4	(19.3.) Mikrotubuli-assoziierte Motoren der Kinesin und Dynein Familien	(Seite 661)	
19.5	(19.4.) Kraftspektroskopie der Myosin-Motoren mit optischen Pinzetten.	(Seite 664)	
19.5.1	(19.4.1.) Der Dyneinmotor hat eine Gangschaltung	(Seite 669)	
19.6	(19.5.) Theorien der Linearmotoren:	(Seite 669)	
§20	Muskel Anatomie Phänomenologie	(Seite 672)	
20	Der Muskel: Anatomie und Phänomenologie der Funktion	(Seite 672)	
20.1	Morphologie des Muskels: Der Muskel als Anordnung parallel geschalteter Linearmotoren	(Seite 672)	
20.2	Das Querbrücken-Modell der Muskelkontraktion	(Seite 674)	
20.3	Thermomechanik der Muskelkontraktion: Die Hill-Gleichung	(Seite 677)	
20.4	Zur Energieversorgung und Kontrolle der Stimulation der Muskeln	(Seite 681)	
20.4.1	Muskeln nutzen verschiedene Quellen von ATP:	(Seite 682)	
20.4.2	Ca ⁺⁺ Impulse triggern die Muskelkontraktion:	(Seite 683)	
§21	Bakterienbewegung	(Seite 685)	
21	Protonengetriebene Rotationsmotoren.	(Seite 685)	
21.1	Einleitung	(Seite 685)	
21.2	Mikroanatomie des Rotationsmotors:	(Seite 687)	
21.3	Phänomenologie des protonengetriebenen Motors:	(Seite 689)	
21.3.1	Experiment zur Struktur des Motors	(Seite 691)	
21.3.2	Zweites Experiment zur Messung der Drehmomente	(Seite 692)	
21.3.3	Experiment drei zur Messung des Arbeitsverhältnisses	(Seite 694)	
21.4	Molekulares Modelle des Bakteriellen Rotationsmotors.	(Seite 695)	

	21.5	Bakterien navigieren durch Analyse der Gradienten der Lockstoffe und besitzen die Fähigkeit zur Adaption (Chemotaxis).	(Seite 697)
	21.6	Umschlag der Drehrichtung als Festkörperumwandlung der Flagellenwand.	(Seite 703)
§22		Flagellen und Cilien	(Seite 707)
22		Leben bei kleinen Reynoldszahlen Krafterzeugung durch Flagellen und Cilien.	(Seite 707)
	22.1	Die Flagellen und Cilien der Spermien und Einzeller: Analogien der Feinstruktur	(Seite 707)
	22.2	Das Gleitmodell der Cilien-Biegung	(Seite 709)
	22.3	Die Bewegungsmoden der Flagellen und Cilien bestimmen die Funktion der Antriebselemente	(Seite 711)
	22.4	Wie Bakterien und Spermien sich durchs Wasser schrauben und Cilien ihre Bewegung koordinieren	(Seite 714)
	22.4.1	Was synchronisierte Schlagbewegungen der Cilien bewegen können.	(Seite 717)
§23		Makromoleküle der EM	(Seite 720)
23		Makromoleküle des Extrazellulären Raums	(Seite 720)
	23.1	Gewebe als Verbundmaterial aus Zellen und Makromolekülen	(Seite 720)
	23.2	Zellulose als Schutzhülle der Pflanzenzellen.	(Seite 723)
	23.3	Glaskörper des Auges als lebenswichtiges Beispiel einer Gel-Sol Koexistenz	(Seite 725)
	23.4	Appendix. Das Zytoskelet als Stabilisator Lateraler Verbindungen zwischen Epithelzellen oder Endothelzellen.	(Seite 726)
§24		Homonetzwerke und Gele	(Seite 729)
24		Physik flexibler Makromoleküle: Vom Einzelmolekül zur Lösung.	(Seite 729)
	24.1	Von Gauss'schen Kette zu wurmartigen Polymeren: oder von universellen zu spezifischen Eigenschaften.	(Seite 729)
	24.2	24.2. Von Gauss'schen Kette zu wurmartigen Polymeren: oder von universellen zu spezifischen Eigenschaften.	(Seite 730)
	24.3	Das Flory-Modell des ausgeschlossenen Volumens (Self-Avoiding-Walk- Modell (SAW-Modell))	(Seite 734)
	24.4	Persistenzlänge als Maß der Kettensteifigkeit semiflexibler Polymere	(Seite 736)
	24.5	Charakterisierung der Struktur makromolekularer Lösungen.	(Seite 737)
	24.5.1	Eine kurze Bemerkung zu nematisch flüssigkristallinen Zuständen steifer Stäbchen.	(Seite 739)
	24.6	Thermodynamik makromolekularer Lösungen und Polyelektrolyten.	(Seite 740)
	24.7	Phasentrennung in Polymerlösungen	(Seite 743)
	24.8	Besonderheiten makromolekularer Lösungen und Anwendungen in Natur und Technik.	(Seite 745)
	24.8.1	Der osmotische Druck und der Dampfdruck	(Seite 745)
	24.9	Modifikation der Skalengesetze und Eigenschaften durch Aufladung der Makromoleküle. Die Ladungskondensation.	(Seite 747)
	24.9.1	Vorbemerkung:	(Seite 748)
	24.10	Der elektro-osmotische Zusatzdruck von geladenen Polymeren.	(Seite 750)
	24.11	Appendix A. Elektrostatischer Beitrag zum Virialkoeffizienten geladener Makromoleküle	(Seite 751)
	24.12	Appendix B: Häufig benutzte Bezeichnungen des §24.	(Seite 752)
§25		Moleküldynamik in makromolekularen Netzwerken	(Seite 753)
25		Molekulare Dynamik und Elastizität semiflexibler Filamente	(Seite 753)
	25.1	Einleitung	(Seite 753)
	25.2	Einzelfilamentendynamik und Elastizität semiflexibler Filamente.	(Seite 754)
	25.3	Messung der Biegesteifigkeit der Rauigkeit und der Verhederungslänge semiflexibler Filamente.	(Seite 756)
	25.4	Die anisotrope Federkonstante semiflexibler Filamente.	(Seite 758)
	25.5	Relaxationszeiten der thermischen Anregungen	(Seite 760)
§26		Rheologie	(Seite 761)
26		Viskoelastizität homogener Netzwerken und Gele.	(Seite 761)
	26.1	26.1 Einleitung: Das Prinzip der Viskoelastizität und was wir daraus lernen können.	(Seite 761)
	26.1.1	Kontinuumsmechanische Konzepte und Methoden der Rheometrie	(Seite 763)
	26.1.2	Grundlagen der Relaxationsexperimente	(Seite 765)
	26.1.3	Grundlegend der Impedanzspektroskopie	(Seite 767)
	26.2	Konzepte und Methoden der Nano-Rheometrie.	(Seite 769)
	26.3	Viskoelastische Impedanz verschlaufter und schwach verknoteter Netzwerke des Aktins.	(Seite 772)
	26.4	Synopsis	(Seite 776)
§27		Biophysik Gele	(Seite 777)
27		Physik und Funktion der Gele: Zustände zwischen Festkörper und Flüssigkeit	(Seite 777)
	27.1	Einleitung	(Seite 777)
	27.2	Die Elastizität homogener Gele gleicht der Gummielastizität idealer Netzwerke	(Seite 779)
	27.3	Die Gummi-Elastizität verknoteter semiflexibler Netzwerke	(Seite 780)
	27.4	Kontrolle der Filamentsteifigkeit durch Bündelbildung :	(Seite 782)
	27.5	Gelbildung als Perkulationsprozess.	(Seite 783)
	27.6	Perkulationsübergang des AktinNetzwerks :	(Seite 785)
	27.7	Nichtlineare mechanisches Verhalten und Grenzen der Stabilität der AktinGele.	(Seite 788)
	27.8	Selbstorganisation von Zytoskeletts in Riesenvesikel.-Auf dem Weg zu mechanischen Zellmodellen (Position des Absatzes no	(Seite 790)
	27.9	Stabilisierung der Pflanzen und Bäume durch Fasersysteme.	(Seite 791)
§28		Zellen als Mechanosensoren	(Seite 794)
28		Zellen als Mechanosensoren	(Seite 794)
	28.1	Einleitung	(Seite 794)
	28.2	Das Endothelium als semipermeable Barrieren und Mechanosensor.	(Seite 795)
	28.3	Hormon-induzierte Reorganisation des Aktinkortexes und Kontraktion der Zellen.	(Seite 799)
	28.4	Generische Mechanismen der Zytoskelett Reorganisation durch intrazelluläre Signale.	(Seite 801)
	28.4.1	Die Aktivierung der glatten Muskulatur folgt demselben Schema	(Seite 804)
	28.5	Spannungssensoren kontrollieren die Adhäsionsstärke der Endothelzellen	(Seite 804)
	28.5.1	Warum benutzen Zellen verschieden schnelle Signalwege	(Seite 807)
	28.6	Synopsis	(Seite 808)
§29		Mikromechanik der Zelle	(Seite 809)
29		Mikromechanik der Zelle	(Seite 809)
	29.1	Mikromechanische Methoden zur Kartierung von Deformations- oder Kraftfelder.	(Seite 809)

	29.1.1 Methode der Kraftfeld-Kartierung	(Seite 810)	
	29.2 Messung der Zell Substrat Wechselwirkung durch Kraftfeld-Mikroskopie		(Seite 814)
	29.3 Globale mechanische Stabilisierung der Zellen –Ein Epilog		(Seite 818)
§30	Photosynthese	(Seite 824)	
30	Primärprozesse der der Photosynthese	(Seite 824)	
	Vorbemerkung	(Seite 824)	
30.1	Bemerkungen zur Evolution der Photosynthese und Bioenergetik		(Seite 825)
30.2	Die zwei Prozesse der Photosynthese der Pflanzen und die Rolle der Elektronen-Zwischenspeicher		(Seite 827)
30.2.1	Die Dunkelreaktionen	(Seite 829)	
30.2.2	Elektronen-Zwischenspeicher sorgen für die Stöchiometrie der photochemische Reaktionen		(Seite 830)
30.3	Die molekulare Architektur des Photosyntheseapparats der Pflanzen und Algen		(Seite 833)
30.4	Das bakterielle Reaktionszentrum: eine zyklisch arbeitende, ATP produzierende Maschine		(Seite 835)
30.4.1	Optimierung des Lichteinfangs durch Lichtsammelkomplexe (LHC).	(Seite 837)	
30.4.2	Phänomenologie und Dynamik der Ladungstrennung in photosynthetischen Bakterien		(Seite 837)
30.4.3	Photobleichexperimente als Werkzeuge zum Nachweis der Spezies und der Kinetik der Elementarschritte der ET-Kette	(Seite 841)	
30.5	Simultane Bildung von Protonengradienten und Wasserspaltung in Pflanzen und Algen: Ein Beweis der chemo-osmotischen-Hyp	(Seite 844)	
30.6	Experimentelle Beweise der Parallelschaltung der Photosysteme und des sukzessive Elektronentransfers von Wasser auf P680	(Seite 846)	
30.6.1	Messung der Fluoreszenz-Quantenausbeute des Protonentransfers	(Seite 846)	
30.6.2	Nachweis der Serienschaltung der Reaktionszentren mit molekularen Voltmetern		(Seite 847)
30.6.3	Der sukzessive Elektronentransfer auf dem Weg zur Wasserspaltung	(Seite 848)	
30.6.4	Ein einfacher Beweis des chemo-osmotischen Paradigmas	(Seite 850)	
30.7	(ehem 33.6.) Die duale Rolle der F1/F0-ATPase als ATP- Synthesemaschine und Rotationsmotor.		(Seite 852)
30.7.1	Ein Modell des Rotationsmotors	(Seite 854)	
30.7.2	Zwei elegante Experimente	(Seite 855)	
30.8	Appendix . Die Oxidative Phosphorylierung (Atmungskette)	(Seite 856)	
30.8.1	A.1. Von der Nahrung zu NADH	(Seite 856)	
30.8.2	A.2. Die Elektron-Transfer (ET-)-Kette der Mitochondrien	(Seite 857)	
§31	Photophysik	(Seite 861)	
31	Physikalische Grundlagen photobiologischer Prozesse	(Seite 861)	
	Einleitung	(Seite 861)	
31.1	Die elektronischen Zustände von π -Elektronensystemen	(Seite 862)	
31.2	Quantenmechanische Grundlagen der Photophysik organischer π -Elektronensysteme.		(Seite 865)
31.2.1	Das Molekülorbital (MO-) oder Freie-Elektronengas (FE-) -Modell.	(Seite 867)	
31.2.2	Energiezustände linear und zyklisch konjugierter Moleküle	(Seite 868)	
31.2.3	Singulett und Triplettzustände	(Seite 871)	
31.3	Photophysik angeregter Moleküle	(Seite 875)	
31.3.1	Absorption und Emission des Lichts	(Seite 875)	
31.3.2	Schwingungen bestimmen die Feinstruktur der Spektren. Das Franck-Condon Prinzip		(Seite 879)
31.3.3	Das Jablonski-Termschema der π -Elektronensystemen	(Seite 883)	
31.3.4	Physikalische und Chemische Reaktionen angeregter Moleküle	(Seite 885)	
31.3.5	Konkurrenz zwischen radiativen und strahlungslosen Übergängen	(Seite 886)	
31.3.6	Messung der lichtinduzierten Membranpotentiale mittels Stark-Effekt: (Molekulare Voltmeter)		(Seite 892)
31.3.7	Photophysik der GFP-Proteine	(Seite 894)	
31.4	Bandenverschiebung durch Komplex-Bildung: Die Rotverschiebung des Speziellen Paares.		(Seite 897)
31.4.1	Bemerkung zur Rolle der Austauschwechselwirkung	(Seite 899)	
31.5	Zur Energie-Wanderung im Photosyntheseapparat	(Seite 900)	
31.5.1	Der Förster-Mechanismus im klassischen Bild	(Seite 901)	
31.5.2	Messung des Energietransfers: Ein klassisches Experiment	(Seite 906)	
31.5.3	Der Austausch-Mechanismus	(Seite 907)	
31.6	Wege und Kinetik des Elektronen-Transfers in bakteriellen Reaktionszentren	(Seite 909)	
31.7	Synopsis	(Seite 914)	
31.8	Appendix: Die Richtungscharakteristik der Atomorbitale der Atome durch Hybridisierung.		(Seite 916)
§32	Physiologie des Hörsinns	(Seite 919)	
32	Anatomie und Physiologie des Hörsinns	(Seite 919)	
32.1	Einleitung: Stationen der akustischen Informationsverarbeitung	(Seite 919)	
32.1.1	Das Mittelohr als Impedanzwandler.	(Seite 920)	
32.1.2	Die Ohrmuschel als erstes Element der Informationsverarbeitung.	(Seite 921)	
32.1.3	Das Ohr ist ein aktiver Schallsender.	(Seite 923)	
32.2	Struktur und Funktion des Innenohres	(Seite 924)	
32.3	Zur neuronale Organisation und Verarbeitung des Hörsinns	(Seite 928)	
32.4	Über den dynamischen Bereich und die Frequenzcharakteristik des Hörsinns	(Seite 929)	
32.5	Optimierung des Hörsinns: Resonanzüberhöhung und zweite Filterung	(Seite 932)	
§33	Mechanik und Hydrodynamik der Cochlea	(Seite 937)	
33	Mechanik und Hydrodynamik der Cochlea-Erregung: Das Bekesy Wanderwellen Modell	(Seite 937)	
33.1	Die Experimente von Békésy und der Weg zur Wanderwellenhypothese	(Seite 937)	
33.2	Zur Theorie der Wanderwellen Ausbreitung in der Cochlea.	(Seite 939)	
33.3	Synopsis	(Seite 944)	
§34	Haarzellen als ak-el Signaltransformatoren	(Seite 946)	
34	Haarzellen als akusto-elektrische Signaltransformatoren	(Seite 946)	
34.1	Haarzellen als nichtlineare Verstärker der mechanischen BM-Schwingungen	(Seite 946)	
34.1.1	Modell des molekularen Motors der OHZ als piezoelektrischer Aktuator.	(Seite 953)	
34.1.2	Die hebelartige Verstärkung der BM-Deformation durch die OHZ .	(Seite 955)	
34.2	Innere Haarzellen als passive und aktive mechano-elektrische Transformatoren.	(Seite 958)	
34.2.1	Zur Mikroanatomie und Funktion der IHZ.	(Seite 959)	
34.2.2	Stereocilien (Stereovilli) sind dynamische Strukturen erstaunlicher Komplexität.:	(Seite 961)	
34.3	Mikroviskoelastische Experimente entlarven Stereovilli als frequenzselektive nichtlineare Verstärker und aktive		

	mechanisc	(Seite 962)	
	34.3.1	Modell der aktiven Bewegung der IHZ.	(Seite 968)
	34.4	IHZ besitzen die Fähigkeit zur biphasischen Adaption der Empfindlichkeit.	(Seite 970)
	34.4.1	Zwei molekulare Modelle der Adaption.	(Seite 971)
	34.5	Wie die Natur den Hörsinn vor Rauschen durch den Blutstrom schützt.	(Seite 974)
	34.6	Synopsis	(Seite 975)
§35	Viren	(Seite 977)	
35	Physik der Viren	(Seite 977)	
35.1	Einleitung	(Seite 977)	
35.2	Über die Biologie von Viren:	(Seite 978)	
35.3	Bildung kristalliner Schalen aus asymmetrischen Bausteinen-Konzept der Quasiäquivalenz.	(Seite 983)	
35.4	Die Elastizität der 2D Proteinkristalle bestimmt die Formenvielfalt und Stabilität der Viren-Capside.	(Seite 989)	
	35.4.1	Zur Energetik der Selbstorganisation der Capside	(Seite 996)
§36	Selbstorganisation und Funktion des Genoms	(Seite 998)	
36	Die Physik der Selbstorganisation und Verarbeitung des Genoms.	(Seite 998)	
36.1	Einleitung :	(Seite 998)	
36.2	Die molekularen Organisationsformen des Genoms in Viren und Eukaryonten.	(Seite 1000)	
	36.2.1	Nukleosomen als Speicherform der genetischen Information	(Seite 1002)
36.3	Mechanische und elektrostatische Basis der DNA Verarbeitung	(Seite 1003)	
	36.3.1	Einleitung	(Seite 1003)
	36.3.2	Die topologischen Verwicklungen und Topoisomerie der DNA	(Seite 1005)
	36.3.3	Elektrostatik und Thermodynamik der DNA Kondensation	(Seite 1009)
	36.3.4	Attraktion gleichnamig geladener Stäbchen (elektrisch induzierte DNA-Kondensation)	(Seite 1011)
	36.3.5	Attraktion geladener Makromoleküle durch Ladungsdelokalisation (Verarmungskräfte)	(Seite 1013)
	36.3.6	Die elektrische Umladung der Komplexe verhindert die Assoziation	(Seite 1015)
	36.3.7	Thermische Fluktuation lockern die DNA-Histon-Bindung.	(Seite 1016)
36.4	Die Regulation der Gen-Expression in Prokaryonten	(Seite 1017)	
36.5	Die DNA Kondensation in Bakteriophagen erfordert Mega-Pascal Drucke.	(Seite 1023)	
36.6	Appendix: Die Replikation und Translation : eine Zusammenfassung	(Seite 1027)	
36.7	Polymerase als molekulare Motoren.	(Seite 1030)	
36.8	Appendix: Besonderheiten der Regulation der Gen-Expression in Eukaryonten.	(Seite 1031)	
§37	Methoden der Biophysik (ehem. §3)	(Seite 1035)	
37	§37 Methoden der Biophysik.	(Seite 1035)	
37.1	Wie beobachtet man die Feinstruktur von Zellen ?	(Seite 1035)	
37.2	Abbesche Theorie der Mikroskopie	(Seite 1037)	
37.3	Methoden der optischen Mikroskopie	(Seite 1042)	
	37.3.1	Phasenkontrastmikroskopie	(Seite 1042)
	37.3.2	DIC-Mikroskopie	(Seite 1046)
	37.3.3	Die Reflektions-Interferenz Kontrast Mikroskopie (RIKM)	(Seite 1048)
	37.3.4	Das konfokale Raster-Mikroskop	(Seite 1050)
37.4	Untersuchung intrazellulärer biochemischer Prozesse durch die Auto-Radiographie	(Seite 1052)	
37.5	Die Ultrazentrifuge: Eine hydrodynamische Methode zur Isolation und Charakterisierung biologischer Makromoleküle.	(Seite 1054)	
	37.5.1	Zwei Methoden der analytischen Ultra-Zentrifugation	(Seite 1054)
	37.5.2	Die Sedimentations- und Dichtegradientenmethode.	(Seite 1056)
	37.5.3	Dynamische Sedimentationsmethode.	(Seite 1059)
	37.5.4	Zur Beobachtung der Konzentrationsverteilung	(Seite 1062)
37.6	Grundbegriffe der Hydrodynamik.	(Seite 1062)	
37.7	Die Fickschen Gesetze der Diffusion	(Seite 1065)	
§38	Übungsaufgaben	(Seite 1068)	
38	Kapitel 38: Übungsaufgaben	(Seite 1068)	
38.1	Aufgaben zu §1	(Seite 1068)	
38.2	Aufgabe zu §2	(Seite 1069)	
38.3	Aufgaben zu §3	(Seite 1069)	
38.4	Aufgaben zu §4:	(Seite 1071)	
38.5	Aufgaben zu §5	(Seite 1072)	
38.6	Aufgaben zu §6.	(Seite 1072)	
38.7	Aufgaben zu §7	(Seite 1073)	
38.8	Aufgaben zu §8.	(Seite 1076)	
38.9	Aufgaben zu §9	(Seite 1079)	
38.10	Aufgaben zu §10	(Seite 1082)	
38.11	Aufgaben zu §11	(Seite 1085)	
38.12	Aufgaben zu §12	(Seite 1087)	
38.13	Aufgaben zu §13:	(Seite 1088)	
38.14	Aufgaben zu §14	(Seite 1090)	
38.15	Aufgaben zum §15:	(Seite 1091)	
38.16	Aufgaben zu §16	(Seite 1093)	
38.17	Aufgabe zum § 17	(Seite 1095)	
38.18	Aufgaben zu §18	(Seite 1096)	
38.19	Aufgaben zu §19	(Seite 1096)	
38.20	Aufgabe zu §20.	(Seite 1099)	
38.21	Aufgaben zu §21	(Seite 1099)	
38.22	Aufgaben zu §22	(Seite 1100)	
38.23	Aufgaben zu §23	(Seite 1100)	
38.24	Aufgaben zu §24	(Seite 1100)	
38.25	Aufgaben zu §25	(Seite 1101)	
38.26	Aufgaben zu §26	(Seite 1103)	
38.27	Aufgaben zu §27	(Seite 1104)	
38.28	Aufgaben zu §28	(Seite 1104)	

38.29	Aufgaben zu §29	(Seite 1104)
38.30	Aufgaben zu § 30:	(Seite 1104)
38.31	Aufgaben zu §31.	(Seite 1105)
38.32	Aufgaben zu §32	(Seite 1107)
38.33	Aufgaben zu §33	(Seite 1110)
38.34	Aufgaben zu §34	(Seite 1110)
38.35	Aufgaben zu § 35	(Seite 1110)
38.36	Aufgabe zu § 36	(Seite 1112)
38.37	Aufgaben zu § 37	(Seite 1113)

Letzte Änderung (Shoh): 01.03.2009

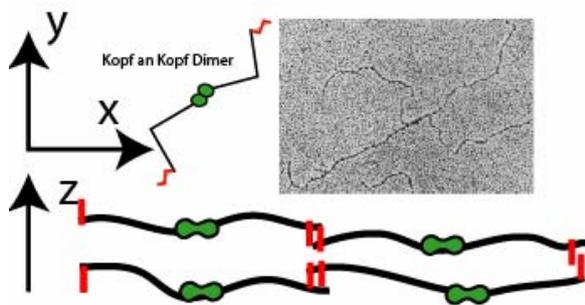
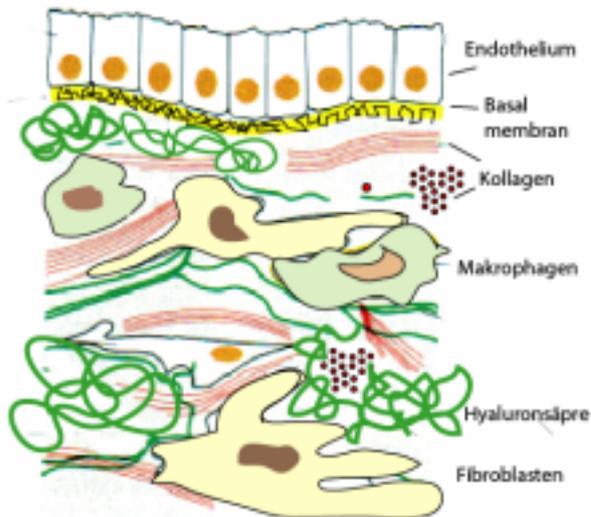
Endversion 28.2 09

23 Makromoleküle des Extrazellulären Raums

23.1 Gewebe als Verbundmaterial aus Zellen und Makromolekülen

Die ungeheure Vielfalt extrazellulärer Materialien ist ebenso faszinierend wie die der intrazellulären, aber noch viel weniger erforscht. Sie umfasst viele anorganische Materialien (wie Zähne und Knochen) sowie zahlreiche amorphe Substanzen, wie Haare, die in § 1 beschriebenen Füße der Geckos und Insekten, Insektenflügel und Spinnenfäden. Es ist erstaunlich, dass Physiker sich noch so wenig mit diesen biologischen Materialien befassen, denn sie bieten eine sehr reiche Physik. Eine schon ältere aber umfassende Darstellung des Gebiets findet man in der Monographie „Cell Biology of the Extracellular Matrix“ [Hay].

Ein eindrucksvolles aber sehr komplexes Beispiel des Aufbaus biologischer Materie aus makromolekularen Netzwerken ist das Bindegewebe, auch extrazelluläre Matrix (EM) genannt. Abb. 23.1. zeigt die Grundstruktur der EM im Bereich des Endotheliums. Sie wird von drei Gruppen riesiger Makromolekülen gebildet: Kollagenfasern, Hyaluronsäure und Proteoglykanen (Abb. 23.2.A). Hinzu kommt in einigen Fällen noch Elastin (s. § 27). Der Übergang zwischen dem Bindegewebe und der Monoschicht aus Epithelzellen besteht aus einer ca. 0.1µm dicke Membran aus Kollagen IV, (**Basalmembran** genannt). Auf der Oberfläche der Basalmembran docken die die Zelladhäsion vermittelnden makromolekularen Liganden wie Fibronectin, Laminin und Kollagen IV an (s. § 13).



[EndothZelle]

Figure 23.1

a) Schematische Darstellung des durch Endothelium abgeschlossenen Gewebes mit eingebetteten Zellen. Die einzelnen Bestandteile sind gekennzeichnet.

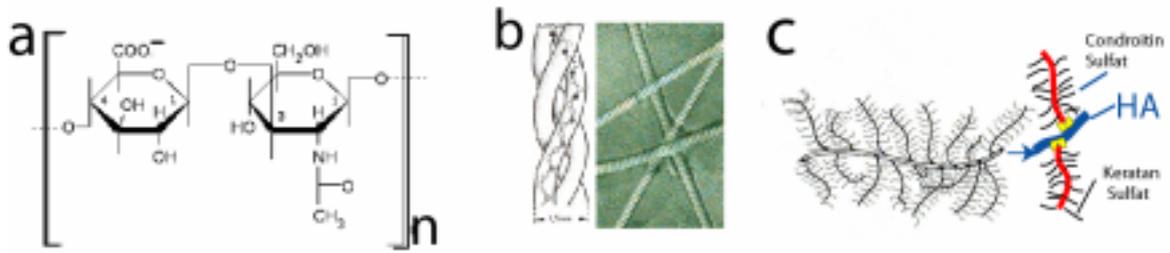
b) EM-Aufnahme von vier über ihre Kopfgruppen verbundenen Filamenten des Kollagen IV (dem Grundbaustein der Basal-Membran). An den Enden der Arme sitzen flexible Domänen welche die tetrameren Komplexe in vertikaler Richtung verbinden, so dass ein dünner Teppich aus einem Gel entsteht. Die Kollagen IV Filamente bestehen wie die von Kollagen I aus Dreifachhelizes. Diese sind aber durch flexible Segmente unterbrochen und die Ketten sind daher semi-flexibel, im Gegensatz zu den steifen Fibrillen des Kollagen I. .

Die wichtigsten und allgegenwärtigen Makromoleküle sind: Hyaluronsäure, Kollagene und Proteoglykane:

- **Hyaluronsäure** ist ein hoch geladenes Polysaccharid, das aus einem einfach negativ geladenen Di-Saccharid (s. Fig 23.2a) aufgebaut ist. Es kann aus bis zu 25 000 Dimeren bestehen (entsprechend $8 \cdot 10^6$ Da) und Konturlängen von 1 mm besitzen. Aufgrund der hohen negativen Ladung ist es extrem gut wasserlöslich und quillt sehr stark in Wasser

(zum Begriff des Quellens s. §24). Es bildet eine sehr weiche Matrix und ist daher eine Art makromolekularer Weichmacher des Gewebes. Wie wir bei der Diskussion der Zell-Adhäsion sahen, kann es die Zell-Zell Wechselwirkung über große Entfernungen kontrollieren.

- Kollagen ist (abgesehen von Kollagen IV) ein semi-steifes Filament hoher mechanischer Stabilität. Die Familie umfaßt etwa etwa zwanzig Typen, von denen einige (wie Kollagen I-III) supramolekulare Kabel mit Durchmessern von etwa 100 nm bilden. Diese wiederum assoziieren zu dicken Bündeln welche das ganze Gewebe durchziehen. Die Kabel entstehen durch Assoziation von (300 nm langen) Tripelhelizes aus oft identischen Peptiden (s Fig.a und [Alberts] Ch. 19), die durch kovalente Bindungen verknüpft werden. Die Tripelhelizes entstehen im Golgi Apparat, Sie tragen aber noch an beiden Enden flexible Seitenketten, die erst außerhalb der Zelle (durch spezifische Proteasen) abgeschnitten werden. Erst dann findet die Assoziation statt. Ein anderer wichtiger Vertreter der Kollagenfamilie ist das in Abb. 23.1b gezeigte viel flexiblere Kollagen IV. Es assoziiert zu elastischen Netzwerken von rund 100 nm Maschenweite, welche die Grundstruktur der, Basalmembran bilden
- Die Proteoglykane bilden eine besonders komplexe Gruppe extrazellulärer Makromoleküle. Sie werden von speziellen Zellen, den **Chondrozyten** gebildet und bilden einen wesentlichen Bestandteil des Knorpels, z.B. zwischen den Gelenken. Die kammartigen makromolekularen Aggregate bestehen aus vier Molekülsorten: **Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Keratansulfat und einem Kernprotein.** Die Hyaluronsäure bildet den Kern an den über Vernetzer die langen Filamente des Kernproteins reversibel angedockt sind. An letzere koppeln die lineare Ketten der hoch negativ geladenen geladener Oligosaccharide mit hohem Anteil an SO_3^- - und COO^- Gruppen an (wie Chondroitinsulfat). Wie Hyaluronsäure quellen auch diese Komplexe extrem stark in Wasser und spielen aus diesem Grund eine zentrale Rolle als elastische Puffer in den Gelenken. Der hohe Anteil an hoch geladenen Zuckern verleiht dem Knorpel seine enorme Fähigkeit als mechanischer Puffer zwischen den Gelenken. Wie wir im § 25 sehen werden spielt dabei die hohe elektrische Ladung der Polymere eine zentrale Rolle. Aufgrund des Aufbaus aus Polypeptiden und Polysacchariden bestehen eine gewisse physikalische Verwandtschaft zwischen den Proteoglykanen und den **Peptidoglykanen**, welche die auch die Grundlage für die Zellwand der Bakterien (s.§2).



[HyalAcidKollagen]

Figure 23.2 Vier typische Makromoleküle der extrazellulären Matrix.

a) Hyaluronsäure besteht aus sehr flexiblen linearen Ketten die aus einfach negativ geladenen Di-Saccharids aufgebaut sind. Man findet das Makromolekül auch in Bakterienwänden.

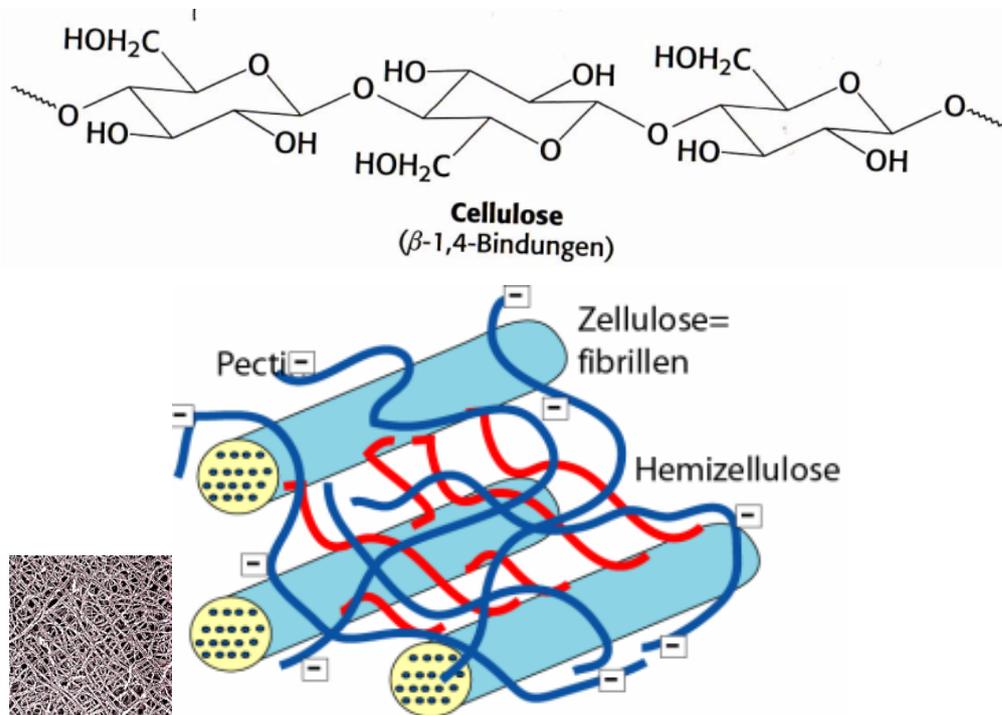
b) Kollagen Trippelhelix und EM-Bild eines etwa 100 nm dicken Bündels . Diese entstehen durch parallele Assoziation der Tripelhelixe. Durch gegenseitige laterale Verschiebung der Komplexe zeigen die Bündel den regelmäßigen Aufbau aus 67 nm langen Segmenten.

c) Aufbau der Proteoglycyane aus drei Grundbausteinen. Hyaluronsäure bildet den Kern an den (im Abstand von ca 100 nm) kammartige Polymere aus einer Polypeptidketten (dem Kernprotein) mit negativ geladenen Oligosaccharidketten (aus Chondroitinsulfat und Keratansulfat) angekoppelt sind. Man beachte die Verteilung der Oligosaccharide entlang der Kernproteine und die Zunahme der Länge der Haare von innen nach außen.(nach [Michal]). Typische Molekulargewichte: $\cdot 10^8$ Da. Dimensionen: Länge bis 1,5 μm ; Breite bis 1 μm . Die Struktur ist hoch variabel (s.[Alberts] Ch19)

23.2 Zellulose als Schutzhülle der Pflanzenzellen.

Pflanzenzellen werden durch ein mechanisch sehr robustes Verbundmaterial aus Zellulose (eine lineare Kette aus Glukose) Pektin (ein stark negativ geladenes verzweigtes Polysaccharid) und **Glykanen** (lineare Polysaccharide mit Seitenketten aus Oligozuckern wie **Hemizellulose**) gebildet. Die Zellulose bildet Fibrillen (aus rund 50 Molekülen) die durch Hemizellulose miteinander vernetzt werden, Diese ist stark verzweigt und bildet zahlreiche H-Brücken mit den Fibrillen aus. Dies ist ein wesentlicher Grund für die mechanische Stabilität des Holzes. Ein weiterer Kontrollfaktor der mechanischen Eigenschaften ist das fadenartige und negativ geladene Pektin, das die Anordnung aus den Fibrillen durchdringt. Diese werden aufgrund der negativen Ladungen durch Salsbrücken (vorwiegend aus Ca^{++})

vernetzt. Dieses Netzwerk sorgt für einen lockeren Aufbau des Materials, so dass Holz in Wasser quellen kann. Die beiden koexistierenden Netzwerke erfüllen verschiedene mechanische Aufgaben. Die Zellulosefraktion bestimmt vorwiegend die Stabilität des Holzes gegen Zug, während das Pektin-Netzwerk dem Material seine Druckfestigkeit verleiht (siehe dazu auch § 27).



[CelluloseAufbau]

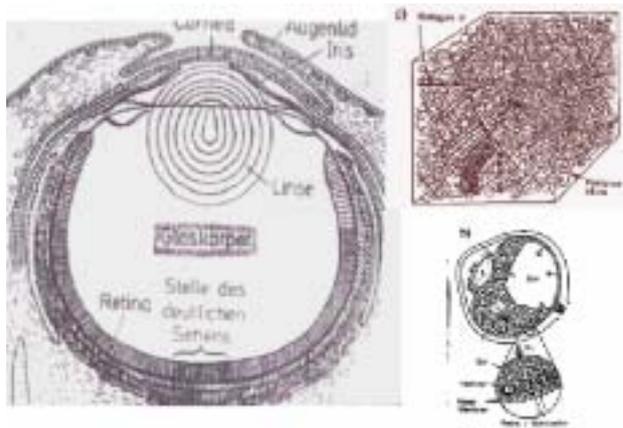
Figure 23.3

Verbundartiger Aufbau der Pflanzen-Zellwände. Fibrillen aus (rund 50) langen Ketten der Cellulose (eine Poly-Glukose) werden durch verzweigte Polysaccharidketten aus Glykanen wie Hemizellulose (s. § 5??) verbunden, wahrscheinlich vorwiegend über Wasserstoffbrücken. Das Netzwerk aus den Stäbchen wird von Filamenten aus dem stark negativ geladenen Pektin (ein verzweigtes Polysaccharid) durchdrungen. Diese werden durch Salzbrücken (vorwiegend aus Ca^{++}) verbunden.

23.3 Glaskörper des Auges als lebenswichtiges Beispiel einer Gel-Sol Koexistenz

Der Glaskörper der Augen ist ein besonders schönes Beispiel für ein Biogel und für die Kontrolle von Struktur und Eigenschaften von Biomaterialien. (Abbildung 23.4 Er füllt den Raum zwischen Linse und Retina aus. Er muß optisch transparent sein. Dies ist erstaunlich, da er nicht homogen aufgebaut ist, sondern aus koexistierendem Gel und Sol besteht. Gegenüber den Zell-Lagen der Linse und der Retina ist das Gel durch eine Basalmembran abgetrennt, die am Rand der Linse offen, damit dort Hyaluronsäure austreten kann. Die Basalmembran wird von Zellen der Retina versorgt (z.B. sog. Müller-Zellen, s. Abb 9). Die Hyaluronsäure des Glaskörpers wird von Abarten der Makrophagen, sog. Hyalozyten, erzeugt. Diese sind in der Nähe der Basalmembran in das Gel eingebettet.

Der Glaskörper (Abb. 23.21.c) ist ein typisches Verbundmaterial aus der sehr flexiblen und stark geladenen Hyaluronsäure ($MW \approx 5 \cdot 10^6$ Da) und steifen Fasern des Kollagen II. In der Sprache der Technik handelt es sich um ein faserverstärktes Material. Das erstaunliche ist die enorm lange Lebensdauer des Glaskörpers (>80 Jahre). Dabei spielt die Balance zwischen Gel- und Sol-Fraktion eine wichtige Rolle: Die Solfraktion bildet sich erst im 4. bis 5. Lebensjahr. Zwischen 10 und etwa 40 Jahren beträgt sie 20% und bleibt weitgehend konstant. Danach nimmt sie ständig zu. Ab ca. 70 Jahren steigt auch die Konzentration der Hyaluronsäure an, vor allem in der Sol-Fraktion. Dies könnte der Steuerung des osmotischen Drucks dienen. Eine weitere altersbedingte Erscheinung ist eine gewisse Aggregation der Kollagenfasern, die lokale (nematische) Domänen bilden können. Dieses Beispiel zeigt, dass Altern etwas mit Materialermüdung durch Phasentrennung zu tun hat. Es ist unklar, ob dies die Ursache für Beschwerden ist oder die Folge von Störungen des Metabolismus.



[AugeGlaskoerper]

Figure 23.4

a) Verbundartiger Aufbau des Glaskörpers der Augen

b) Sol-Gel-Koexistenz und Mikrostruktur des Glaskörpers im Bereich der Retina. Das Gel schließt an die Schicht der Sehzellen der Retina an; und zwar über eine Basalmembran (wie sie für Bindegewebe typisch ist). Diese wird von speziellen Zellen in der Retina versorgt. Abarten der Makrophagen, sog. Hyalozyten, versorgen das Gel mit Hyaluronsäure. Es erfolgt ein ständiger Fluß der Moleküle zur Linse und in den Außenraum (s. Pfeile).

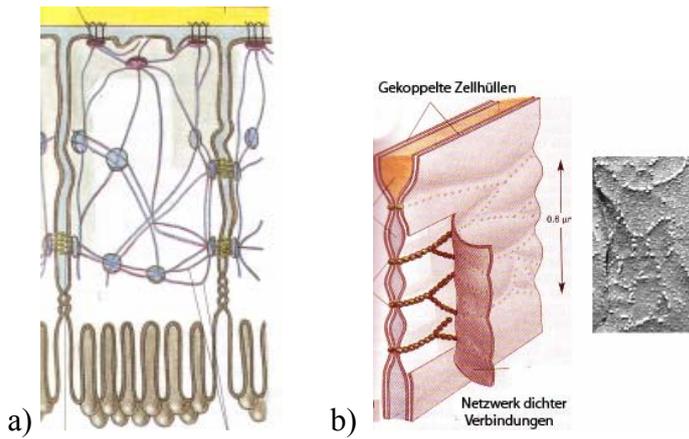
c) Molekulare Architektur des Gels, das im wesentlichen aus sehr langen Filamenten von Hyaluronsäure ($MW \approx 5 \cdot 10^6 Da$) und Fasern aus Kollagen II besteht. (Quelle: E. Balazs in Biomedical Foundations of Ophtalmology, W. Tasman and E. Jaeger eds., Lippincott, 1989)

23.4 Appendix. Das Zytoskelet als Stabilisator Lateraler Verbindungen zwischen Epithelzellen oder Endothelzellen.

Es gibt zwei Arten von Kontakten zwischen benachbarten Zellen. Die in §13 betrachteten losen Verbindungen über Zell-Adhäsionsmoleküle und enge Verbindungen. Letztere umfassen (i) beide Zellen durchdringende Poren, die dem Austausch von Molekülen zwischen Zellen dienen oder die linearen Anordnungen von Kopplungsproteinen, welche die Zellen wie Schweißnähte verbinden. Sie sorgen dafür, dass keine Stofftransport über die Zellschichten stattfindet. Hier beschreiben wir kurz die wesentlichen Beispiele der zweiten

Klasse von Verbindungen. Mehr dazu findet man in den Büchern der Zellbiologie (s. [Alberts] Ch.19). Man unterscheidet fünf Gruppen von engen Kontakten

1. **Dichte Verbindungen** (engl. „tight junctions“). Diese bilden oft die netzartigen Anordnungen dichter Kontakte zwischen den Zellen. Sie werden durch die Membranproteine der Familie der Claudine gebildet und verhindern den Transport von Ionen, Zuckermolekülen aber auch Membranproteinen von einer Seite des Epitheliums zur anderen. Sie sorgen so für den asymmetrischen Aufbau der Zellmembranen in der apikalen und basalen Hälfte der Endothelzellen. So kann beispielsweise der niedrige pH des Magens aufrecht erhalten werden.
2. Semipermeable laterale Verbindungen (engl. gap junction) die durch dicht gepackte Anordnungen von Poren bildenden Proteinen (der Connexin-Familie) gebildet werden und dem Austausch von Ionen und kleinen Molekülen zwischen benachbarten Epithelzellen dienen. Die Durchmesser der Poren liegen bei 1.5–2 nm.
3. Knopfartige Verbindungen (**Desmosomen** genannt) zwischen Zellen, die zur mechanischen Stabilisierung der Organhäute dienen. Sie werden durch die ZAM der Cadherin-Familie gebildet und vermitteln die Bildung von ringartiger Anordnungen aus vernetzten Aktinfilamenten, die mit Netzwerken aus dem IMF **Desmin** verwoben sind.
4. Knopfartige Haftstellen zwischen den Epithelzellen und dem Gewebe (z.B. Basalmembranen), die auch **Semi-Desmosomen** genannt werden.
5. Gürtelartige Adhäsions-Kontakte (engl. adhesive junctions) zwischen den Zellen, die wie Desmosomen durch Cadherine vermittelt werden. Sie spielen eine zentrale Rolle für die Bildung der Blut-Hirn-Schranke. Diese Endothel-Zellschicht bildet die Schranke zwischen dem Gehirn und dem Blutplasma und muss den Materialfluss zwischen den beiden Räumen auf wenige Moleküle beschränken. dadurch wird der Transfer von gefährlichen Fremdstoffen (Krankheitserreger, Toxine) mit dem Blut unterbunden. Aus diesem Grund ist es schwierig Arzneimittel über das Blut in das Gehirn zu bringen, z. B zur Behandlung der Parkinson Krankheit.



[StrukturEpithelZ]

Figure 23.5

(ehem Abb 18.A)

a) Schematische Struktur der Epithelzellen mit gürtelartigen Anordnungen der Aktinbündel, dichten Verbindungen (tight junctions) und durch ZAM der Familie der Cadherine vermittelte Adhäsionsverbindungen.

b) Schematische Darstellung des Netzwerkes aus linienförmigen dichten Adhäsionsverbindungen zwischen Endothelzellen der Blut-Hirn Schranke.

24 Physik flexibler Makromoleküle: Vom Einzelmolekül zur Lösung.

24.1 Von Gauss'schen Kette zu wurmartigen Polymeren: oder von universellen zu spezifischen Eigenschaften.

Im Laufe der Evolution der vielfältigen Lebensformen hat die Natur eine Vielzahl von Makromolekülen mit außergewöhnlichen Eigenschaften eingeführt. Die Physik der Biomaterialien ist daher eng mit der Polymerforschung verschränkt und die Gebiete können viel voneinander lernen. Biologische Makromoleküle (wie Aktin oder IMF) sind oft so groß, dass sie direkt mikroskopisch beobachtet werden können. Dies eröffnet einmalige Möglichkeiten, phänomenologische Eigenschaften, wie viskoelastische Module oder Diffusionsprozesse direkt mit molekularen Bewegungen der Einzelmoleküle zu korrelieren. Die Palette natürlicher Polymere reicht von sehr flexiblen Ketten, (wie das Polysaccharid **Hyaluronsäure**) über semi-flexible Filamente (wie Aktin und IMF) bis zu semi-steifen Stäbchen (wie Kollagen oder Mikrotubuli). Man spricht oft von „lebende Polymeren“, da das Polymerisationsgleichgewicht und die Konturlänge der Makromoleküle durch natürliche Helferproteine kontrolliert werden kann. Die Natur stellt uns auch eine Fülle von Vernetzerproteinen mit unterschiedlichen molekularen Strukturen und Bindungskonstanten zur kontrollierten Herstellung von Gelen zur Verfügung. Da man viele Helferproteine heutzutage mit gentechnischen Methoden noch vielfältig modifizieren kann, eröffnen sich auch völlig neue Perspektiven für eine biologie-inspirierte Polymerforschung.

In diesem Paragraphen geben wir eine kurze Einführung in die Physik der Polymere. Wir werden zunächst die fundamentalen Unterschiede zwischen flexiblen und semi-flexiblen Makromolekülen diskutieren und uns dann den thermodynamischen Eigenschaften und Entmischungsphänomenen in makromolekularen Lösungen zuwenden, da diese für das Verhalten biologischer Materie (wie im Fall der biologischen Membranen) eine besonders wichtige Rolle spielen. Wie wir im vorigen Paragraphen über die Extrazelluläre Matrix am Beispiel der Wände der Pflanzenzellen oder des Glaskörpers der Augen sahen, kombiniert die Natur in der Regel flexible und steife Filamente. Solche Verbundmaterialien nennt man in der Technik **Faserverstärkte Polymere**. Sie spielen dort eine außerordentlich wichtige Rolle wenn es darum geht, leichte

Materialien hoher mechanischer Festigkeit herzustellen, wie in der Flugzeugindustrie. Die physikalischen Eigenschaften solcher Systeme sind noch kaum erforscht. Die Natur macht auch ausgiebig Gebrauch von Polyelektrolyten und wir werden uns daher kurz die Modifikation des Verhaltens makromolekularer Lösungen durch Einführung elektrischer Ladungen ansehen.

Die Pioniere der Polymerphysik (und auch der Physik weicher Materie) sind Kuhn, Debye, Kramers und Flory. Sie formulierten die grundlegenden Konzepte, die uns heute noch beschäftigen. Es gab aber bis vor 30 Jahren noch heftige Debatten über die Struktur der makromolekularen Lösungen und Schmelzen, die vor allem um die Frage kreisten, ob die Makromoleküle in Lösungen oder Polymerschmelzen Schmelzen, als statistische Knäuel vorliegen oder eher geordnete (quasikristalline) Anordnungen bilden. Erst die Entwicklung der modernen Streumethoden mit Neutronen und Synchrotronstrahlung und die dynamische Lichtstreuung ermöglichte die Klärung dieser Frage, die zugunsten des Knäuelmodells ausfiel. Durch diese Experimente und die, vor allem durch P. de Gennes in das Gebiet eingeführten, Konzepte der **Skalentheorie** wurde die Polymerphysik in den letzten 30 Jahren bei den Physikern zu einem angesehenen und intensiv bearbeiteten Gebiet der Statistischen Mechanik.

24.2 24.2. Von Gauss'schen Kette zu wurmartigen Polymeren: oder von universellen zu spezifischen Eigenschaften .

Die klassische Polymerforschung hat sich fast ausschließlich mit ideal flexiblen Makromolekülen befasst, deren Konturlänge (L_c) extrem groß gegen die Durchmesser (a) der Monomere ist und so dem Idealfall einer statistischen Gauß-Kette sehr nahe kommen¹. Dadurch werden viele physikalische Eigenschaften (wie die Elastizität, der osmotische Druck oder diffusive Prozesse) praktisch unabhängig von der chemischen Struktur der Monomere und sind nur von der Monomerenzahl ($N=L_c/a$) abhängig. Das bedeutet: Ihr Verhalten ist im Wesentlichen durch die Entropie bestimmt.

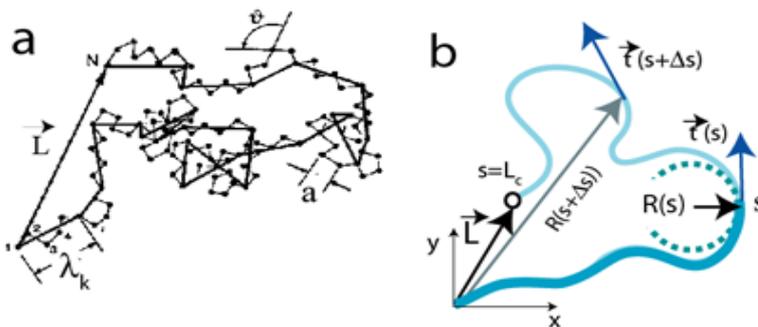
Nur wenige Biopolymeren kommen dem Ideal der Gauss-Kette nahe, wie die Hyaluronsäure, während fast alle anderen Vertreter semiflexibel oder steif sind. Die physikalischen Eigenschaften werden daher auch entscheidend durch die Biegesteifigkeit der Filamente und damit die chemische

¹ Die Frage, was als Monomere anzusehen ist, ist oft schwierig zu beantworten. Im Fall des Polyäthylens sind es die CH_2 -Gruppen und bei Hyaluronsäure die Zuckerdimere. Häufig sind die Einheiten nicht genau definiert. In diesem Fall benutzt man die Kuhn-Länge als Maß der Monomeregröße.

Struktur der Polymere bestimmt. Dies ist wichtig, denn es ermöglicht der Natur die physikalischen Eigenschaften der Netzwerke über die Materialeigenschaften der Polymere zu beeinflussen. Die biologischen Fragestellungen haben inzwischen auch der Polymerforschung eine neue Richtung gegeben.

Im Folgenden werden wir zunächst die wesentlichen Konzepte der klassischen Polymerphysik zusammenfassen was die Einführung der Physik der semiflexiblen Makromoleküle wesentlich erleichtert. Details sollte der interessierte Leser in den nun zahlreich vorliegenden Büchern über Polymerphysik [de Gennes], [Doi und Edwards] [Rubinstein], nachlesen.

Ideale Ketten (auch **Gauss'sche Ketten** genannt) zeichnen sich dadurch aus, daß die Segmente der Kette nicht miteinander wechselwirken. Es gibt kein ausgeschlossenes Volumen und die Filamente können sich daher beliebig durchdringen. Man macht also dieselben Annahmen wie bei der Behandlung des idealen Gases. Benachbarte Bindungen zwischen den Monomeren bewegen sich statistisch unabhängig voneinander und können frei über alle Winkel (von 0 bis 360 Grad) rotieren. Eine Konsequenz dieser Idealisierung ist, (wie beim idealen Gas) dass die innere Energie der Kette aus punktförmigen Monomeren nur von der Temperatur, aber nicht vom Volumen abhängt. Aufgrund der Idealisierung nehmen wir an, das Makromolekül bestehe aus einer linearen Anordnung von N Punkten mit dem Bindungsabstand a (s. Abb 24.1) Viele synthetische Makromoleküle, deren Monomere durch σ -Bindungen verknüpft sind (z.B. die CH_2 -Gruppen des Polyäthylens = PÄ), sind gute Beispiel für ideale Ketten. (s. [de Gennes 1977], [Doi and Edwards 1986]).



[FlexSemiFlex]

Figure 24.1

(**ehem. Abb. 33.4**) Zur Definition flexibler und semiflexibler Ketten und ihrer physikalischen Charakterisierung.

a) Momentaufnahme einer flexiblen Polymerkette aus N punktförmigen Monomeren (Polymerisationsgrad N) mit dem Bindungsabstand a . Die Konturlänge wird $L_c = Na$. Jede

Konfiguration des Polymers wird durch den (momentanen) End-zu-End Vektor \mathbf{L} charakterisiert. Man beachte, daß jedes scheinbar gerade Stück der Kette der mittleren Länge λ_K wieder aus einem Irrflug der Monomere besteht

b) Definition der semiflexiblen oder wurmartigen Kette nach Karatky und Porod. Ihre Kontur wird vollständig durch die Konturlänge s , die lokale Krümmung $R(s)^{-1}$, und die Tangentenvektoren \mathbf{t} bestimmt.

Man kann jede Konfiguration einer idealen Kette der Länge N als einen Irrflug eines Monomeren von N Schritten auf einem Gitter der Gitterkonstante a darstellen (s. Abb 24.3 und [de Gennes]). Die mittlere Größe der Polymere kann daher (wie bei der Brownschen Bewegung) durch den quadratischen Mittelwert $\langle L^2 \rangle$ des End-zu-End Abstands charakterisiert werden (s. Aufgabe 24.1)

$$\langle L^2 \rangle = \left[\sum_i \vec{a}_i \right]^2 = Na^2 \quad (24.1a)$$

$\langle L^2 \rangle$ ist mit dem aus der Mechanik vertrauten Trägheitsradius (oder Gyrationradius) R_g der Moleküle durch die Gleichung $R_g^2 = \langle L^2 \rangle / 6$ verknüpft [Doi Edwards]. Da man R_g direkt in Streu-Experimenten (z.B. Neutronen-Kleinwinkelstreuung) erhält, bestimmt lässt sich das Gesetz quantitative nachprüfen.

Kleindruck:

Gleichung (24.1a) gilt auch noch für den realistischeren Fall, daß die Rotation um die Bindungen nicht völlig frei ist, d.h., daß benachbarte Segmente nicht alle Winkel mit gleicher Wahrscheinlichkeit annehmen können. Bei CH_2 -Ketten können die Segmente zwar frei um die Bindungsachsen rotieren, aber die Bindungswinkel sind durch die kovalenten Bindungen festgelegt. Man muß der gehinderten Rotation durch Vergrößerung der Segmentlänge Rechnung tragen. In diesem Fall gilt das berühmte Gesetz von Kuhn

$$\langle L_e^2 \rangle = C_g \cdot N \cdot a^2 = N' \lambda_K^2 \quad (24.1b)$$

Mit $C_g = \lambda_K^2 / a^2$. C_g ist ein geometrischer Faktor der von der Beweglichkeit der Segmente abhängt. Das Gesetz basiert auf folgender Idee. Jede Gauss'sche Kette aus N Monomeren kann durch eine äquivalente Kette aus N' geraden Segmenten ersetzt werden. Die Konturlänge ist dann $L_e = N' \lambda_K$, wobei λ_K die Kuhn-Länge genannt wird. Der mittlere quadratische End-zu-End-Abstand wird dann $\langle L^2 \rangle = \lambda_K^2 N'$. Man nennt solche halb idealisierte Polymere Kuhn'sche Ketten (in der engl Literatur oft „freely joined chains“). Die Elastizität der Kette ist immer noch rein entropisch, im Gegensatz zu den wurmartigen Ketten. Genauere Zusammenhänge zwischen der Kuhn-Länge

und der Rotationsfreiheit der C-C Bindungen findet man in allen Lehrbüchern über Polymere (z.B. in [Doi and Edwards], Ch.2)

Um die Entropie (und damit die freie Energie) der idealen Kette nach dem Boltzmann-Prinzip zu berechnen betrachten wir die Wahrscheinlichkeit $P(L)$, daß der End-zu-End-Abstand zwischen L und $L+\delta L$ liegt. Wenn die Schritte der Segmente unabhängig voneinander sind, besagt der zentrale Grenzwertsatz, daß die (isotrope) Verteilung $P(L)$ der Abstände L einer Gauß-Verteilung gehorchen muß (s Doi und Edwards Ch 2) und man spricht daher von einer Gauß-Kette

$$P(L) = \left(\frac{3}{2\pi \langle L^2 \rangle} \right)^{3/2} \cdot \exp \left\{ -\frac{3}{2} \cdot \frac{L^2}{\langle L^2 \rangle} \right\}, \quad (24.2)$$

wobei die Variianz der Verteilung gegeben ist durch $\sigma^2 = \langle L^2 \rangle / 3 = Na^2/3$. Man kann leicht nachvollziehen, dass der Mittelwert des End-zu-End Abstandes den bekannten Wert $\langle L \rangle = Na$ annimmt (s.Aufgabe).

Nach dem Boltzmann-Gesetz kann man dieser Verteilung eine Entropie $S = k_B \ln P(L)$ zuordnen, die ein Mass für die Zahl möglicher Konformationendes Polymeren ist, die denselben End-zu-End-Vektor L besitzen. Betrachten wir nun eine mechanische Deformation der Kette, bei der $\langle L \rangle$ in L übergeht. Da die Entropie im Gleichgewicht (für $\langle L \rangle$) maximal und eine additive Größe ist folgt dass die Entropien ab gemäß

$$\Delta S = \frac{3}{2} k_B \frac{L^2 - \langle L^2 \rangle}{\langle L^2 \rangle} \quad (24.3a)$$

abnimmt. Die freie Energie $\Delta G = G_0 - k_B T \Delta S$ wird minimal. Eine Verlängerung des End-zu-End Vektors auf L erfordert daher eine Kraft

$$f = \frac{\delta G}{\delta L} = 3 \frac{k_B T}{2 \langle L^2 \rangle} L. \quad (24.3b)$$

Dies ist das berühmte Kraftgesetz einer idealen **Entropiefeder**. Es ist identisch mit dem einer Feder der Federkonstante

$$k = 3 k_B T / 2 \langle L^2 \rangle, \quad (24.4)$$

Das interessanteste Ergebnis ist, dass die Entropie Feder mit der Temperatur härter wird, während eine Feder aus Stahl beim Erwärmen bekanntlich weicher würde. Die zur Streckung einzelner flexibler Polymere notwendigen Kräfte sind sehr klein. Legen wir z.B. an ein Hyaluronsäure-Molekül der Konturlänge $L \sim 10 \mu\text{m}$ ($N=10^4$) eine Kraft von 1fN an (die etwa der Kraft aufgrund der thermischen Bewegung entspricht) so wird bei $T=20^\circ\text{C}$ $\delta L/L \sim 1,0$. Erst in Lösung (z.B in der Gelenkflüssigkeit) entfalten die Polymere große Kräfte. Dies ist aber die Folge des besonders großen osmotischen Drucks polymerer Lösungen und dessen Verstärkung durch elektrische Ladungen.

24.3 Das Flory-Modell des ausgeschlossenen Volumens (Self-Avoiding-Walk-Modell (SAW-Modell))

Die wichtigste Korrektur des Modells idealer Kette ist die Einführung eines ausgeschlossenen Volumens v_{ex} um jedes Monomere, von dem alle anderen Monomere ausgeschlossen werden. Flory hat dieses Problem der mehr realistischen Ketten mit Eigenvolumen durch ein genial einfaches und äußerst erfolgreiches Modell gelöst, mit dem viele der erstaunlichen Eigenschaften makromolekularer Lösungen quantitativ erfasst werden können. Da man dabei viel lernen kann wollen wir die wesentlichen Ideen nun skizzieren, die Flory zu dem Modell führten. (Eine strenge Theorie findet man in [Doi und Edwards], Ch. 2).

Die erste Idee war, dem ausgeschlossenen Volumen durch Einführung eines repulsiven Van der Waals-Potentials w_{mn} , zwischen zwei Monomeren m und n Rechnung zu tragen (wiederum analog zum van der Waals-Gas). Unter der Annahme, dass sich die Monomere wie harte Kugeln verhalten hat es die Form

$$w_{mn} = v k_B T \delta(R_n - R_m) \quad (24.5)$$

v ist ein empirischer Parameter, der ein Maß für die Größe des ausgeschlossenen Volumens v_{ex} darstellt und $\delta(R_n - R_m)$ ist die Diracsche Delta-Funktion. Ist c_m die lokale Konzentration der Monomere, so ist offenbar die lokale Energiedichte von der Form

$$w_{mn} = v k_B T c_m^2, \quad (24.6a)$$

da c_m^2 die Wahrscheinlichkeit ist, zwei Monomere am selben Ort r zu finden. v hat die Dimension m^3 .

Die zweite zentrale Idee ist anzunehmen, dass Korrelationen zwischen den Monomeren vernachlässigt werden können. Daher kann man c_m^2 durch die mittlere Konzentration der Monomere $\langle c_m^2 \rangle$ ersetzen. (Man spricht dann vom Modell des mittleren Kraftfeldes). Ist R_F^3 das Volumen eines Polymeren so ist der gesamte Beitrag der Wechselwirkungsenergie zur inneren Energie gegeben durch.

$$\Delta U_{rep} = R_F^3 w_{mn} = v k_B T N^2 / R_F^3. \quad (24.6b)$$

Die dritte Idee betrifft folgendes Problem: physikalisch bedeutet die Einführung der Abstoßung eine Aufblähung der Kette, d. h. der End- zu- End Abstandes nimmt zu. Dies führt offenbar zu einer zusätzlichen entropischen Rückstellkraft da die Entropie gegenüber dem Wert der idealen der Kette abnimmt. Die dritte (und schwerwiegenste) Annahme ist nun, dass der entropische Teil der Freien Energie durch die (entropische) elastische Energie der Gauss'schen Kette bestimmt ist. Man vernachlässigt also den Beitrag der Abstoßung zur Entropie. Nach Gl. (24.4) gilt daher

$$\Delta G_{ela} = \frac{3}{2} k_B T \frac{R_F^2 - \langle L^2 \rangle}{\langle L^2 \rangle} \quad (24.7)$$

Dabei ist $\langle L^2 \rangle \approx Na^2$ Die mittlere Größe der Kette ist durch das Gleichgewicht der entropischen und der Abstoßungskraft bestimmt, und damit durch das Minimum der gesamten freien Energie $G_{tot} = G_{rep} + G_{ela}$ Mit $dG_{tot}/dL = 0$ folgt für den mittleren Radius des Polymeren (im Folgenden **Flory-Radius** genannt)

$$\langle R_F \rangle \approx (va^2)^{1/5} \cdot N^{3/5} \quad (24.8)$$

Dabei haben wir Der Proportionalitätsfaktor ist von der Größenordnung 1 und wurde weggelassen. Man beachte: v hat die Dimension $[m^3]$. Dies ist das berühmte Potenzgesetz für die Abhängigkeit des sog. Flory-Radius R_F vom Polymerisationsgrad N . Es wurde durch Computersimulationen und Monte-Carlo-Rechnungen erstaunlich gut bestätigt. Die Simulationsrechnungen liefern auch die Vorfaktoren. Im Gegensatz zur Situation bei idealen Ketten hängen diese jedoch von der Art des Gitters ab. Der Vorfaktor ist als für einen Irrflug auf einem kubischen Gitter anders als auf einem hexagonalen. Er ist also nicht universell, sondern hängt von der Struktur des Mediums ab.

Der **Flory-Parameter** des ausgeschlossenen Volumens v ist (ähnlich wie die Virialkoeffizienten) eine empirisch zu bestimmende Größe, dessen groß Bedeutung für die Praxis erst bei der Behandlung von Polymerlösungen und der Einführung von geladenen Monomeren klar werden wird.

Da wir es in der Biologie oft mit quasi-zweidimensionalen Netzwerken zu tun haben, ist folgende Bemerkung noch wichtig. Für beliebige Dimension d wird $\langle R_F \rangle \propto N^{3/(d+2)}$. Man beachte, dass die Abweichung des Potenzgesetzes vom idealen Gesetz für Gauß-Ketten: $\langle L \rangle \propto N^{1/2}$ (das unabhängig von der Dimension des Systems ist) mit abnehmender Dimension immer größer wird.

Das Gesetz $R_F = \text{const } a N^v$ gibt einen universellen, nur von der Dimension abhängigen Zusammenhang zwischen Radius und Polymerisationsgrad. Die molekularen Details stecken im Vorfaktor. Da dieser aber immer von der Größenordnung eins ist, kann man ihn für viele Fragestellungen vernachlässigen. Wir bezeichnen Darstellungen dieser Art als **Potenzgesetze** oder **Skalengesetze**. Sie sind sehr hilfreich, wenn man abzuschätzen, möchte, wie stark sich Veränderungen der Makromoleküle (wie des Polymerisationsgrades, der elektrischen Ladung oder des pH's des Lösungsmittels) auf deren physikalische Eigenschaften auswirken. Wir werden unten mehrfach davon Gebrauch machen. Viele schöne Beispiele findet man in dem Buch von P. de

Gennes [Gennes], in dem die Schönheit der Polymerphysik sehr eindrucksvoll dargestellt wird. Natürlich sind Skalengesetze keine Ersatz für wirkliche Theorien, mit denen die Vorfaktoren und deren Abhängigkeit von den molekularen Details berechnet werden. Die meisten Arbeiten benutzen dazu numerische Verfahren, wie MonteCarlo- oder Moleküldynamik-Rechnungen

24.4 Persistenzlänge als Maß der Kettensteifigkeit semiflexibler Polymere

Zur Charakterisierung der **Flexibilität semiflexibler makromolekularer Ketten** dient die **Persistenzlänge** L_p (s. [Doi und Edwards], Ch. 8.8). Zu ihrer Einführung betrachten wir eine flexible Kette am Ort s . Aufgrund der Brown'schen Bewegung fluktuiert die Orientierung der lokalen Tangente $\mathbf{t}(s)$ an die Kontur, was man als Rotationsdiffusion der lokalen Kettenstücke im Raum auffassen kann. Die Beziehung zwischen den Orientierungsfluktuationen an zwei benachbarten Orten (s und $s+\Delta s$) auf der Kontur wird durch die Korrelationsfunktion $K_t(\Delta s) = \langle \mathbf{t}(s) \cdot \mathbf{t}(s+\Delta s) \rangle$ bestimmt, wobei $K_t(s)$ der thermodynamische Mittelwert über alle Skalarprodukte der Tangenten am Ort s und $s+\Delta s$ ist. Wie bei statistisch unabhängigen Prozessen üblich, hat die Korrelationsfunktion eine einfache exponentielle Form

$$K_t = K_0 \exp\{-\Delta s/L_p\} \quad (24.9)$$

L_p ist offenbar ein Maß für die Reichweite über welche die Orientierungen der Tangente korreliert sind. Sie wird für steife Stäbe $L_p \gg L_c$. Man bezeichnet L_p als **Persistenzlänge**. Sie wurde von Kratky und Porod eingeführt; ebenso wie die Bezeichnung **wurmartige Ketten** für semiflexible Polymere (engl. worm-like chains). Physikalisch ist die Reichweite der Korrelation zwischen den Orientierungen der Tangenten durch die Biegesteifigkeit B der Kette bestimmt. In Analogie zur Biegesteifigkeit von Membranen ist diese durch die Biegeenergie

$$G_b = \frac{1}{2} B \int_0^{L_c} \left(\frac{1}{R(s)} - \frac{1}{R_0} \right)^2 ds \quad (24.10)$$

definiert, wobei $R(s)$ der lokale Krümmungsradius am Ort s ist und R_0 eine spontane Krümmung (die im Allgemeinen vernachlässigt wird). Man beachte auch, dass für eindimensionale Objekte B die Dimension $[B] = 1 \text{ Jm}$ hat. Man hat also zwei Größen zur Charakterisierung der Steifigkeit: Glücklicherweise hängen die beiden Definitionen der Flexibilität der wurmartigen Ketten durch folgende universelle Beziehung zusammen.

$$B = L_p k_B T \quad (24.11)$$

(zur Ableitung s. [Doi Edwards] Ch. 8), Im Gegensatz zur Gauss'schen Kette ist der mittlere End-zu-End Abstand semiflexibler Ketten von der Biegesteifigkeit abhängig:

$$\langle L^2 \rangle = \langle (\bar{R}(L) - \bar{R}(0))^2 \rangle = 2L_c L_p - 2L_p^2 \left(1 - \exp\left\{ -\frac{L_c}{L_p} \right\} \right) \quad (24.12)$$

Zwei wichtige Spezialfälle sind: erstens, der Fall flexibler Ketten ($L_c/L_p \gg 1$) für den $\langle L^2 \rangle = 2L_c L_p$ wird und zweitens, der Fall steifer Stäbchen ($L_c/L_p \ll 1$) für den wie erwartet $\langle L^2 \rangle = L_c^2$ wird. Für den Grenzfall flexibler Ketten entspricht die Länge L_p der Kuhnlänge. Lehrreiche Ableitungen der Gleichungen 24.9 bis 24.12 findet man in [Doi], Ch 8 oder [LandauLifshitz] Band V, §127). Diese Gleichung spielt eine wichtige Rolle zur Abschätzung der Biegesteifigkeit von Proteinfilamenten durch Messung der End-zu-End Abstände der Filamente. Dies kann durch statistische Analyse von EM- oder Mikrofluoreszenz-Aufnahmen oder von mittels AFM aufgenommenen Bildern erfolgen. Diese Methode wird insbesondere erfolgreich zur Untersuchung der Struktur der DNA Konformationen benutzt (s. Abb. 36.X in §36).

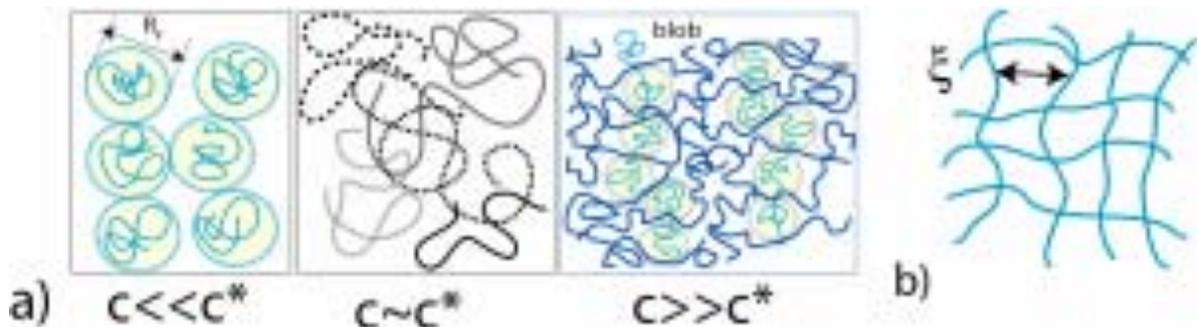
Kleindruck

Bei der Anwendung der Gl.24.12 zur genauen Messung von L_p muß man vorsichtig sein. Sie setzt voraus, dass die Enden der Filamente unabhängig voneinander diffundieren und ihre Positionen eine Gauss-Verteilung aufweisen. Um genaue Werte von L_p zu erhalten muss man die Verteilung der Kettenenden auf der Basis der Elastizitätstheorie semiflexibler Filamente numerisch berechnen [Frey Wilhelm]

24.5 Charakterisierung der Struktur makromolekularer Lösungen .

Obwohl nur wenige der Biopolymere ideal flexibel sind wollen wir uns zunächst die wesentlichen physikalischen Eigenschaften nicht-vernetzter makromolekularen Lösungen befassen da sie die Voraussetzung für das Verständnis vieler biologischer Prozesse, wie die Selbstorganisation der DNA in Viren oder die Funktion der Proteoglykane im Gewebe bilden. Sie besitzen viele überraschende und faszinierenden physikalische Eigenschaften. Im Gegensatz zu Lösungen aus kleinen Molekülen ändert sich die Physik schon bei sehr kleinen Konzentration fundamental ([de Gennes 1979]). Erst langsam beginnt man zu verstehen, in welcher vielfältiger Weise die Natur diese speziellen Eigenschaften in der Biologie ausnutzt. Da die Physik der Materialien aus flexiblen Ketten eine lange Tradition hat, versteht man schon viele ihrer Eigenschaften recht gut. Im Gegensatz dazu steckt die Erforschung der Netzwerke aus semiflexiblen Makromolekülen noch in den Kinderschuhen. Motiviert durch die biologischen Fragestellungen rückten die Physik semi-flexibler Polymere und steifer Stäbchen in das Zentrum des Interesses der Polymerforschung.

Eine überraschende und wichtige Eigenschaft der Lösungen aus flexiblen Polymere ist das plötzliche Umschlagen der physikalischen Eigenschaften beim Überschreiten gewisser Konzentrationsgrenzen, das an Phasenumwandlungen erinnert. Aufgrund solcher Übergänge (engl. cross-over) definiert man drei Konzentrationsbereiche: verdünnt, halbverdünnt und konzentriert². In der verdünnten Lösung (bei Konzentrationen $c_p \ll c_p^*$) verhalten sich die Knäuel wie ein ideales Gas unabhängiger Partikel. Bei $c_p \sim c_p^*$ beginnen sich die Ketten zu überlappen. Die Struktur und die physikalischen Eigenschaften sind durch den Flory-Radius R_F bestimmt. Bei $c_p \gg c_p^*$ sind diese Eigenschaften unabhängig von der Grösse der Polymere und nur durch die **Maschenweite ξ** bestimmt. Zwischen den Maschen bilden die flexiblen Segmente Knäuel (sog blobs), die sich wie ideale Ketten verhalten. Sie bestimmen die elastischen Eigenschaften der halbverdünnten Lösung. Eine ähnliche Klassifizierung der Zustände gilt auch für Lösungen semiflexibler Makromoleküle. Allerdings findet der Übergang verdünnt→halbverdünnt bei viel kleineren Volumbrüchen des Polymers statt, als bei Lösungen flexibler Polymere. Daher sind die Bereiche zwischen den Maschen nicht mit Monomeren ausgefüllt, sondern enthalten nur Lösungsmittel. Die Filamente zwischen den Verschlaufungen sind aufgrund der thermisch angeregten Biegefluktuationen wie Membranen dynamisch aufgeraut und diese Rauigkeit bestimmt die **viskoelastischen Eigenschaft**e der Netzwerke, wie wir in § 26 sehen werden.



[PolymereLsg]

Figure 24.2

Charakterisierung der Lösungen unterschiedlicher Konzentration von flexiblen bis semisteifer Polymeren in guten Lösungsmitteln (in Abwesenheit von Vernetzern). c_p ist die Konzentration der Polymere..

a) Links: Hoch verdünnte Lösung ($c_p \leq c_p^*$) aus Knäueln mit vernachlässigbarer Wechselwirkung. Mitte: Verdünnte Lösung ($c_p \sim c_p^*$) mit beginnender Überlappung benachbarter Ketten (und damit der Beginn der Verschlaufung). Rechts: Hoch konzentrierte Lösungen (oder

² Wir benutzen wahlweise folgende Maße für die Konzentrationen: $[c_p]$ = Mol Polymer /ltr, oder $[c_m]$ = Mol Monomer /ltr, so dass $c_p = c_m/N$ ist.

Polymerschmelze) mit starker Überlappung der Ketten ($c_p \gg c_p^*$). und definierter Maschenweite. Erstaunlicherweise bilden die Ketten lokal ideale statistische Knäuel (auch blobs genannt) die den Raum zwischen den Maschen ausfüllen aber nicht mit der Umgebung wechselwirken [de Gennes].

b) Verschlaufte (verhedertes) Netzwerk semiflexibler Polymere und Definition der Maschenweite als mittlerer Abstand der Ketten. Man beachte, dass die Ketten aufgrund thermisch angeregter Biegefluktuationen dynamisch aufgeraut sind (ganz analog zur Situation bei biologischen Membranen).

Aus zahlreichen Streuexperimenten und Diffusionsmessungen hat man gelernt, dass verdünnte Lösungen Suspensionen unabhängiger Knäuel sind, die sich wie harte Kugeln benehmen. Die Diffusionskoeffizienten der Makromoleküle gehorchen der Stokes-Einstein-Beziehung $D = k_B T / (6\pi\eta R_F)$ und ihre Viskosität entspricht der berühmten Einstein Beziehung für Suspensionen: $\eta = \eta_0(1 + 5/2\phi)$, wobei ϕ der Volumenbruch (s. Gl.24.13) der Polymerlösung ist. Tatsächlich wurde aus der Übereinstimmung gemessener Diffusionskoeffizienten und Zähigkeiten mit obigen Voraussagen erstmals gezeigt, daß Makromoleküle sich wie sphärische Gebilde benehmen [de Gennes]. Im halbverdünnten Bereich beginnen die Ketten sich zu durchdringen und bilden ein (dynamisches) Netzwerk, das sich bei schnellen Deformationen schon elastisch verhält wie wir unten sehen werden. Der Großteil des Raumes ist aber noch mit Lösungsmittel gefüllt. Auf der Skala der makromolekularen Dimension betrachtet (~ 10 nm) bilden die Makromoleküle ein verheddertes Netzwerk, dessen Topologie durch die **Maschenweite** ξ bestimmt ist (s Abb 24.2b). Diese Definition der Struktur der Netzwerke wird uns bei der Beschreibung der viskoelastischen Eigenschaften verheddeter Systeme semiflexibler Makromoleküle sehr helfen.

Kleindruck:

24.5.1 Eine kurze Bemerkung zu nematisch flüssigkristallinen Zuständen steifer Stäbchen.

Bei der bisherigen Betrachtung konnten wir die Dicke der Polymere bei der Betrachtung des ausgeschlossenen Volumens vernachlässigen. Dies gilt für stäbchenförmiger Moleküle (wie Mikrotubuli) nicht mehr die ein Eigenvolumen von Lb^2 (L =Stäbchenlänge und b =Stäbchendurchmesser) besitzen. Dies wurde erstmals von Onsager erkannt. Mit zunehmender Konzentration c_p der Stäbchen treten zwei Situationen auf: Bei $c_p^* \leq 1/L^3$ können die Moleküle frei rotieren und man hat die Situation einer verdünnten Lösung. Bei $c_p^{**} \leq 1/(bL^2)$ wird die freie Rotation der Stäbchen durch sterische Abstoßung behindert. In Analogie zum Verhalten eines

realen Gases wird die Entropie durch die sterische Abstossung der Stäbchen reduziert. Daher findet eine **Phasenumwandlung** zweiter Ordnung von der isotropen Phase in einen Zustand statt, in dem die Moleküle zwar frei beweglich, aber bevorzugt parallel orientiert sind. Man nennt den neuen Zustand **nematische Phase** (s. § 10-11). Der Übergang wurde erstmals von Onsager in einer sehr berühmten und lesenswerten Arbeit theoretisch begründet.[Onsager 1949],[Doi]. Man hat in einigen Fällen die Bildung nematischer Phasen in konzentrierten Lösungen von kurzen Aktin-Filamenten beobachtet. Bisher gibt es aber noch keine Hinweise auf eine biologische Funktion der außergewöhnlichen elastischen Eigenschaften nematischer Phasen. Es ist jedoch möglich, dass die Physik der Phasenumwandlung isotrop→nematisch bei der Bildung von Aktinbündel durch zweiwertige Ionen in Lösung eine wichtige Rolle spielt [BorukhovBruisma]. Eine ausführliche Darstellung der Physik der Lösungen aus semisteifen Filamenten findet man in dem Buch von Doi und Edwards [Doi, Edwards]

24.6 Thermodynamik makromolekularer Lösungen und Polyelektrolyten.

Bei der folgenden Beschreibung der Thermodynamik makromolekularer Lösungen wollen wir uns auf die Eigenschaften konzentrieren, die für das Verhalten lebender Materie und die biologische Funktion der Polymere wichtig sind. Die thermodynamischen Eigenschaften der Lösungen flexibler Makromoleküle lassen sich erstaunlich gut mit dem einfachen aber eleganten Gittergasmodell von Flory und Huggins verstehen, eine Übertragung der Theorie regulärer Lösungen (die wir bei den Membranen kennen lernten). Den Physikern ist die Theorie als Gittergas- oder **Bragg-Williams-Modell** bekannt. In völliger Analogie zur Beschreibung einzelner Makromoleküle geht man davon aus, daß die Monomere der Makromoleküle und die Moleküle des Lösungsmittels statistisch unabhängige Irrflüge auf einem Gitter machen können. Die nicht von Monomeren besetzten Plätze werden von Lösungsmittelmolekülen eingenommen. Das einfache Modell setzt voraus, dass die molekulare Volumen beider Moleküle etwa gleich groß sind, da sonst ein Monomeres mehr als einen Gitterplatz einnehmen würde. Der Durchmesser der Moleküle einer sei a . Mit dieser Annahme ist der Bruchteil der durch Monomere bzw. Lösungsmittel besetzten Gitterplätze gegeben durch

$$\varphi_m = \frac{MN}{MN + N_l} = \frac{N_m}{N_0}; \quad \varphi_l = \frac{N_l}{N_0} \quad (24.13)$$

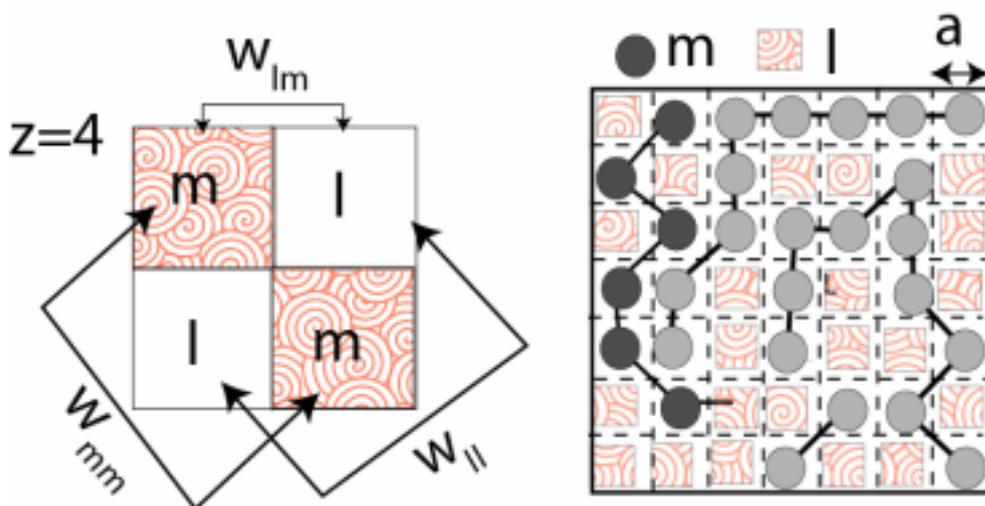
Dabei ist M die Gesamtzahl der Polymere, N die Zahl der Monomere des Makromoleküls (auch **Polymerisationsgrad** genannt) und $N_0 = MN + N_l$ die Gesamtzahl der Gitterplätze. (Da φ_m und φ_l

gleichzeitig die Bruchteile der von Monomeren und Lösungsmittel besetzten Volumina sind, nennt man sie auch **Volumenbrüche** (in Analogie zur Definition der **Molbrüche**).

Betrachten wir nun die entropischen und energetischen Beiträge zur freien Energie ΔG_{mix} der Mischung. Dabei interessieren nur die Überschussbeiträge (die oft Exzessgrößen genannt werden), die durch Mischung der Komponenten eingeführt werden (d.h. nicht die Größen der reinen Komponenten). Betrachten wir zunächst die Freie Enthalpie ($\Delta G_{\text{mix}} = \Delta H_{\text{mix}} - k_B T \Delta S_{\text{mix}}$) der Lösung. Wir nehmen an, dass die Makromoleküle in der Lösung ideale statistische Knäuel bilden und die Monomere daher unabhängige Irrflüge ausführen können. Daher ist die Mischungsentropie wie bei Mischungen kleiner Moleküle allein durch die den Beitrag die Vertauschbarkeit der von den Monomeren und Lösungsmittelmolekülen besetzten Gitterplätze bestimmt. Dies ist gegeben durch

$$\Delta S_{\text{mix}} = N_0 \cdot k_B \cdot \left(\frac{\varphi_m}{N} \ln \varphi_m + \varphi_l \ln \varphi_l \right) \quad (31.13)$$

Eine detaillierte Ableitung dieser Beziehung findet man in dem Buch, von Hill ([Hill], Ch. 21). Die für uns wichtigste Änderung gegenüber der Mischungsentropie regulärer Lösungen kleiner Moleküle (die wir im §11 betrachteten) ist der Faktor $1/N$ im ersten Summanden, der folgende Ursache hat. Vertauscht man die Gitterplätze zweier Elemente (z.B. l und m), so müssen alle N Monomere des Makromoleküls umverteilt werden, damit es der End-zu-End-Abstand wieder ins thermodynamische Gleichgewicht kommt. Die Reduktion der Mischungsentropie um den Faktor $1/N$ führt dazu, daß sich Polymerlösungen völlig anders verhalten als normale Legierungen, wie wir gleich sehen werden.



[Mischungsenthalpie]

Figure 24.3

Zur Berechnung der Mischungsenthalpie ΔH_{mix} einer makromolekularen Lösung. Fall eines kubischen Gitters mit der Koordinationszahl $z=4$ in 2D und $z=6$ in 3D. Das linke Bild zeigt die möglichen Paarwechselwirkungen.

Auch bei der Berechnung der Mischungsenthalpie betrachtet man (in Analogie zum Van der Waals-Gas) die Paarwechselwirkungsenergien zwischen zwei Lösungsmittelmolekülen (w_{ll}), zwischen einem Paar l, m (w_{lm}) und zwischen zwei Monomeren (w_{mm}). Es folgt

$$\Delta H_{\text{mix}} = N_0 \cdot z \cdot J \cdot \varphi_m \varphi_l \quad \text{mit} \quad J = w_{lm} - \frac{1}{2} \cdot (w_{ll} + w_{mm}) \quad (24.14)$$

J ist eine Art Austauschterm, der angibt, um wieviel die Bindungsenergie zwischen Lösungsmittelmolekülen und Monomeren stärker ist als die gemittelte Energie zwischen gleichen Partnern. In der Regel sind die Van der Waalskräfte zwischen den Molekülen attraktiv und $w_{ij} < 0$ is. Man gewinnt also Energie bei der Mischung, wenn die Paarwechselwirkung zwischen l und m größer ist als zwischen gleichen Partnern. Traditionsgemäß gibt man J in Einheiten von $k_B T$ an und führt den sogenannten Flory -Parameter χ ein. (in Analogie zum Bragg-Williams Modell der Auscheidung in Metall-Legierungen).

$$\chi = \frac{z \cdot J}{k_B T} \quad (24.15.a)$$

$$\Delta H_{\text{mix}} = N_0 \cdot \chi \cdot k_B T \cdot \varphi_m \varphi_l \quad (24.15.b)$$

Gut verständliche Ableitung der freien Energie der Mischung findet man in den Lehrbüchern von R. Becker [Becker], und T. Hill [Hill]..

Wie in der Van der Waals Theorie ist es sehr hilfreich die freie Energie der Mischung $\Delta G_{\text{mix}} = \Delta H_{\text{m}} - T \Delta S_{\text{m}}$ als Virialentwicklung nach φ_m darzustellen (da der Molebruch der Monomere sehr klein ist). Aus 24.13 und 24.15b erhält man folgende Entwicklung bis zum zweiten **Virialkoeffizienten der Polymerlösung** Eine relativ einfache Rechnung liefert

$$(24.16)$$

Dabei werden lineare Terme in φ_m heraus gelassen, da diese nicht zur Physik der Mischung aufgrund der Wechselwirkung zwischen Monomeren und dem Lösungsmittel beitragen. beitragen.

Mit dieser genäherten Beschreibung bekommt der zweite Term der Virial-Entwicklung eine wichtige anschauliche Bedeutung. Der positive Term ($\varphi_m^2/2$) berücksichtigt die effektive sterische Abstoßung zwischen den Monomere und der negative Summand die Van der Waals-Anziehung.

Mit dieser Kenntnis erhält der in Gl (24.6) eingeführte Parameter einen physikalischen Sinn. Durch Vergleich der gesamten Wechselwirkungsenergie der Monomere nach Gl 24.6b mit dem zweiten Term auf der rechten Seite der Gleichung (24.16) folgt

$$v=1/2 a^3(1-2\chi) \quad (24.17)$$

Dies ist wieder ein praktisch sehr wichtiges Ergebnis denn der oben völlig formal eingeführte Parameter v des Flory Modells selbstvermeidende Ketten kann mit Materialeigenschaften der Lösungen verknüpft werden. Nach Gl 24.6a ist das Volumen einer Flory-Kette proportional zu $v^{3/5}$, was uns erlaubt den Grad des Quellens mit molekularen Wechselwirkungen zu verknüpfen. Wir werden diese Beziehung weiter unten benutzen, um das Aufblähen biologischer Makromoleküle durch elektrostatische Kräfte, oder die dadurch bedingten außergewöhnlich großen **osmotischen Kräfte der Polymerlösungen** abzuschätzen. Ohne diese würden unserer Gelenke nicht arbeiten, unsere Augen würden austrocknen und die Spinne könnte keine Beute fangen.

Es gibt nun drei Spezialfälle:

1. $|w_{lm}| > 1/2(|w_{ll}+w_{mm}|)$ (bzw. $0 < \chi < 1/2$): Die attraktive Wechselwirkung zwischen l und m überwiegt, das Polymer löst sich also gut. Man spricht daher von einem guten Lösungsmittel.
2. $|w_{lm}| < 1/2|w_{ll}+w_{mm}|$, bzw. $\chi > 1/2$: Die Löslichkeit ist extrem gering (das Lösungsmittel ist schlecht), da sich gleiche Partner stärker anziehen als ungleiche.
3. $|w_{lm}| = 1/2|w_{ll}+w_{mm}|$, $\chi = 0$, $\Delta H_{mix} = 0$: Die freie Mischungsenergie ist allein durch die Entropie bestimmt; die Mischung verhält sich wie ein ideales Gas. Man spricht von einem **θ -Lösungsmittel**.

Im Folgenden diskutieren wir drei für das Verhalten von Biomaterialien wichtige Konsequenzen der Gl. (24.16), die zeigen wie unterschiedlich das Verhalten von Polymerlösungen gegenüber Mischungen kleiner Moleküle ist. Die Beispiele zeigen, dass unser Überleben sehr wesentlich durch das Phasenverhalten der Polymermischungen bestimmt ist, wie schon das Beispiel der Sichelzellenanämie zeigte.

24.7 Phasentrennung in Polymerlösungen

Abbildung 24.4a zeigt die freie Mischungsenergie für zwei Fälle: $\chi > 1/2$ und $\chi < 1/2$. Wie erwartet findet man für $\chi < 1/2$ (Dominanz der attraktiven Wechselwirkung w_{lm}) eine nach oben

offene Parabel; d.h. die Mischung ist homogen. Im Fall $\chi > 1/2$ hat ΔG_{mix} ein Doppelminimum und die Lösung zerfällt in eine extrem verdünnte Lösung (in der man die Makromoleküle oft kaum nachweisen kann) und in eine hoch konzentrierte Lösung. Dies ist die Folge der sehr starken Asymmetrie des Phasendiagramms aufgrund des Faktors $1/N$ in der Mischungsentropie. Das hypothetische T- φ_m -Phasendiagramm der **Abb. 24.4b** zeigt zwei andere wichtigen Eigenschaften:

1. Wie Legierungen aus Atomen, kleinen Molekülen oder Lipiden ist das Phasendiagramm durch zwei ausgezeichnete Kurven bestimmt: (i) die **Binodale**, welche den Koexistenzbereich der zwei Phasen ($\varphi_{m\alpha}$ und $\varphi_{m\beta}$) festlegt, und (ii) die sog. **Spinodale**, die durch die Bedingung $\partial^2 G_{\text{mix}} / \partial \varphi_m^2 = 0$ definiert ist. Zwischen den beiden Kurven ist die Bedingung der thermodynamischen Stabilität ($\partial^2 G_{\text{mix}} / \partial \varphi_m^2 > 0$) noch erfüllt, aber die Mischung ist metastabil und zerfällt durch Diffusion entgegen den lokalen Konzentrationsgradienten da der effektive Diffusionskoeffizient D_{eff} negativ wird (man spricht daher von Bergauf-Diffusion (s. **Aufgabe 24.x**)). Diese sog. spinodale Entmischung ist ein typischer nichtlinearer dynamischer Prozess. Durch die starke Verlangsamung der Diffusionsprozesse ermöglichen spinodale Entmischungen die Ausbildung langlebiger Konzentrationsmuster, die in Polymermischungen besonders lange leben, da D_{eff} sehr klein ist. Möglicherweise werden viele biologischen Materialien, wie unser Augapfel (§23), in solchen metastabilen Zuständen gehalten
2. Den Volumenbruch des kritischen Punktes erhält man aus der Bedingung

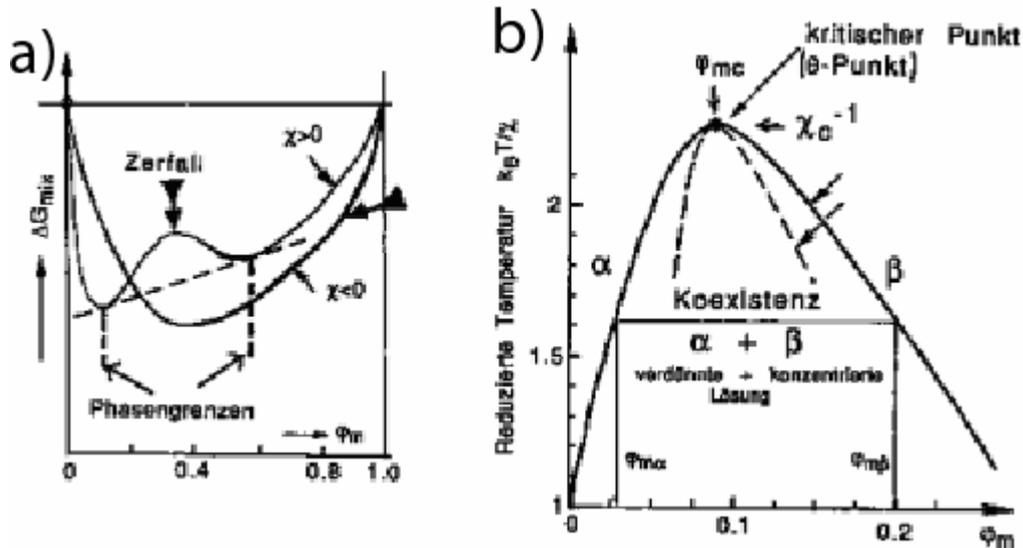
$$\frac{\partial^2 G_{\text{mix}}}{\partial \varphi_m^2} = \frac{\partial^3 G_{\text{mix}}}{\partial \varphi_m^3} = 0$$

Zweimaliges Differenzieren der Gleichung 24.16 liefert nach einer einfachen Rechnung

$$\chi_c = 1/2 + N^{-1/2} \quad \text{und} \quad \varphi_c = N^{-1/2} \quad (24.17)$$

Wir lernen aus diesen Gleichungen etwas sehr Wichtiges. Die Löslichkeit der flexiblen Makromoleküle ist eine universelle Funktion der Zahl der Monomere und damit des Molekulargewichts. Große Makromoleküle wie Hyaluronsäure ($N \sim 25000$) scheiden schon bei unmessbar kleinen Konzentrationen ($\varphi_m < 10^{-3}$) aus und bilden bei ($\varphi_m < 0,1$) homogene Zustände. χ_c charakterisiert die Qualität des Mediums für ein gegebenes Makromolekül. Bei $\chi_c = 1/2$ findet ein Umschlag von einem guten ($\chi_c > 1/2$) zu einem schlechten Lösungsmittel statt. Da in der Biologie das Medium stets Wasser ist kann die Natur die Löslichkeit der Moleküle nur über die Polarität

oder den Ladungszustand der Polymere einstellen. Mit diesem Aspekt wollen wir uns als nächstes befassen.



[PolymPhasenDia]

Figure 24.4

Hypothetisches Phasendiagramm der Polymerlösungen.

a) Darstellung der freien Mischungsenergie (nach Gl. (24.16)) als Funktion des Volumenbruchs der Monomeren. Man bemerke die starke Asymmetrie der Parabeln, deren Minima bei sehr kleinen ϕ_m (typischerweise $\sim 0,01$) liegen (s. Gl 24.17).

b) Hypothetisches Phasendiagramm einer Mischung mit $\chi > 0$ wobei auf der Ordinate die reduzierte Temperatur $T_{red} = k_B T / \chi$ aufgetragen ist. Man erhält die Phasendiagramme aus der freien Energie nach der in §12A) gezeigten Methode der Doppeltangenten-Konstruktion. Oberhalb des kritischen Punktes (ϕ_{mc}, χ_c) ist die Lösung stabil, während unterhalb Zerfall in eine sehr verdünnte und eine hoch konzentrierte Lösung auftritt.

24.8 Besonderheiten makromolekularer Lösungen und Anwendungen in Natur und Technik.

24.8.1 Der osmotische Druck und der Dampfdruck

Lösungen von Makromolekülen verhalten sich schon bei sehr kleinen Konzentrationen nicht-ideal und Natur und Menschen machen von dieser Eigenschaft oft Gebrauch. Ein wichtiges Beispiel ist der osmotische Druck Π halbverdünnter Lösungen, der erstaunlicherweise oft durch den zweiten Virialkoeffizienten bestimmt ist. Man erhält Π in üblicher Weise aus der freien Energie der Mischung nach [Hill]:

$$\Pi = - \left(\frac{\partial G}{\partial V_1} \right)_{T, N_i} = - \frac{1}{v_1} \cdot \frac{\partial \Delta G_{\text{mix}}}{\partial N_1} = - \frac{\Delta \mu_1}{v_1} \quad (24.18)$$

Es ist hilfreich Π als Virialentwicklung darzustellen:

$$\Pi = \frac{k_B T}{a^3} \left\{ \frac{\phi_m}{N} + \frac{1}{2} (1 - 2\chi) \cdot \phi_m^2 \right\} \quad (24.19)$$

Bei sehr verdünnter Lösung ist $\phi_m \approx N N_m / N_1 = c_p$, d. h. gleich der Konzentration der Polymere (s. Gl 24.12). Nach dem **Raoult'schen Gesetz** besagt dies, dass sich die Lösung wie eine Suspension harter Kugeln verhält. Das Gesetz wurde vielfach bewiesen, vor allem durch Messung der **Gyrationsradien mit** Röntgen- und Neutronenbeugung. Durch Anwendung dieses Gesetzes hat man erstmals gezeigt, dass Makromoleküle tatsächlich quasisphärische Knäuel bilden und man benutzt es heute noch zur Messung der Molekulargewichte von Makromolekülen und Proteinen. Bei halbverdünnten Lösungen ist der osmotische Druck erstaunlicherweise durch den zweiten Virialkoeffizienten bestimmt, da der ersten Term der Entwicklung wegen des Faktors $1/N$ (d.h. der stark reduzierten Mischungsentropie) sehr klein ist [de Gennes]. Wie erwähnt nutzt unser Körper diese Gesetzmäßigkeit zur Erzeugung eines sehr hohen osmotischen Drucks in der Gelenkflüssigkeit.

Eine zweites wichtiges Beispiel ist der Dampfdruck über makromolekularen Lösungen Der Dampfdruck des Wassers p_1 über einer wässrigen Lösung ist proportional zum osmotischen Druck. Ist p_1^0 der Dampfdruck über reinem Wasser (Molvolumen v_1), so gilt für die makromolekularen Lösungen

$$\ln \left(\frac{p_1}{p_1^0} \right) = \frac{v_1 \cdot \Pi}{k_B T} = \frac{\phi_m}{N} + \frac{1}{2} (1 - 2\chi) \cdot \phi_m^2 \quad (24.20)$$

Auch der Dampfdruck wird durch Makromoleküle aufgrund des zweiten Virialkoeffizienten extrem stark reduziert. Der Unterschied zwischen Makromolekülen und kleinen Molekülen (für die das Raoult-Gesetz gilt) ist beeindruckend. Der relative Dampfdruck p_1/p_1^0 eines gelösten Polymers mit $\chi=0$ und Polarisationsgrad $N=1000$ wird bei einem Molenbruch der Monomere von $x_m=0,02$ auf 30% reduziert während kleine Moleküle [mit $N=1$] lediglich eine Reduktion um ca 2 %

schaffen (s. auch [Hill], Ch21). Der Effekt wird durch elektrische Ladungen noch wesentlich verstärkt, wie wir unten sehen werden.

Die enorme Reduktion des Dampfdrucks hat viele wichtige Konsequenzen. Dünne Schichten aus geladenen Polysacchariden (wie Hyaluronsäure) quellen schon bei relativen Luftfeuchten von 50 % um einen Faktor 1,3. Dies spielt eine wichtige Rolle für die Bildung ultradünner Wasserfilme auf der Hornhaut der Augen, dessen Fehlen uns erhebliche Schmerzen bereitet. Die Hornhaut (Cornea) der Augen bildet eine stark gekrümmte Auswölbung über der Linse. Sie besteht aus (mit vielen Nervenleitern durchzogenem) Gewebe, das zur Versorgung mit einer Schicht aus Epithelzellen bedeckt ist. Diese wird ihrerseits von einer dünnen Schicht einer wässrigen Lösung von Glykoproteinen bedeckt, die das Austrocknen verhindert. Sie muss aber ständig (über Drüsen) erneuert werden. Das Entweichen von Wasser wird zusätzlich durch einen Film aus Amphiphilen verhindert.

Die Spinnen benutzen das Prinzip, um ihre Fangfäden auch tagsüber feucht zu halten [Vollrath].

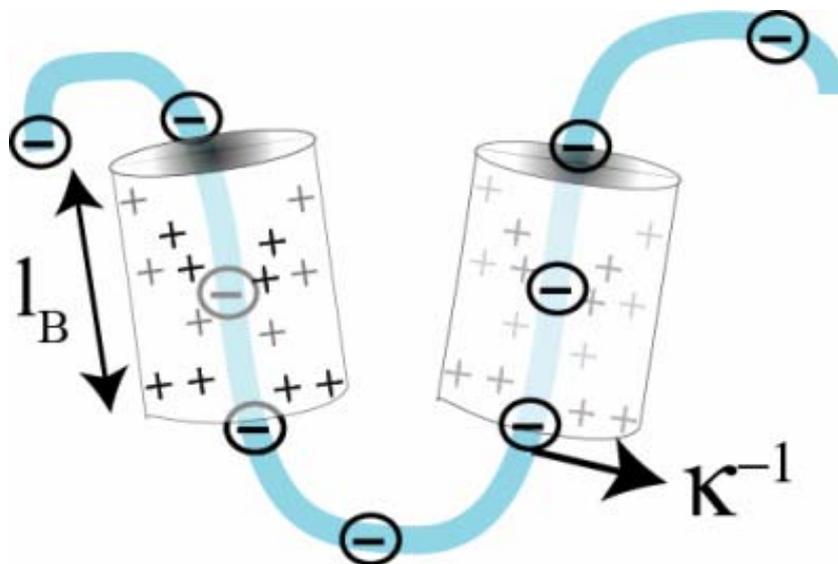
Ein anderes faszinierendes Beispiel sind die Fangfäden der Spinnweben [Vollhardt]. Sie bestehen, wie das gesamte Netz aus Seidenfäden. Die Fäden stellt die Spinne mit speziellen Drüsen (??) her. Sie umgibt diese mit einer dünnen Schicht einer gallertartigen Masse aus Polymeren (wahrscheinlich Glykoproteinen und Polysacchariden). Diese quellen durch Aufnahme einer großen Menge von Wasser, und zwar so stark, dass ein dünner Flüssigkeitsmantel entsteht. Dieser zerfällt in eine perlschnurartige Anordnung aus tropfenförmigen und zylinderförmigen Bereichen. Der Grund ist wahrscheinlich aufgrund einer Rayleigh Instabilität. Der Faden bildet in den verdickten Bereichen ein Knäuel, die wie eine Entropiefeder wirken. Dadurch kann der Faden um das 300 fache gedehnt werden wenn die Beute auftritt.

Das Problem für die Spinne besteht nun darin, den Faden immer feucht zu halten. Dies erreicht sie mit dem Polymerfilm, der den Dampfdruck so stark erniedrigt, dass er auch im Sommer über Stunden feucht bleiben kann, wie folgende Abschätzung zeigt. Bei durchaus realistischen Werten des Polymerisationsgrades von $N \approx 1000$ (und einem guten Lösungsmittel, $\chi=0$) wird die Luftfeuchte bei einem Volumenbruch von $\varphi_m = 0,4$ ca 50 %. Dies entspricht etwa der Luftfeuchte in einem Kleefeld oder Roggenfeld im Sommer.

24.9 Modifikation der Skalengesetze und Eigenschaften durch Aufladung der Makromoleküle. Die Ladungskondensation.

24.9.1 Vorbemerkung:

Viele intrazellulären Makromoleküle sind stark negativ elektrisch geladen was ihre hohe Löslichkeit und Quellfähigkeit garantiert. Die linearen Ladungsdichten λ (Elementarladung pro nm) liegen bei $\lambda \sim 6e \text{ nm}^{-1}$ für DNA und $\lambda \sim 2e \text{ nm}^{-1}$ bei Chondroitinsulfat, den Haaren der Proteoglykane. Es ist intuitiv klar, daß geladene Polymere gegenüber neutralen durch die elektrostatische Abstoßung gestreckt und damit (durch Zunahme der Persistenzlänge) steifer werden. Durch die Abstoßung zwischen den geladenen Monomeren werden die Ketten aufgebläht und der osmotische Druck nimmt zu. Die Situation wäre aufgrund der großen Reichweite elektrostatischer Kräfte hoffnungslos kompliziert, wenn nicht mehrere Umstände zu Hilfe kämen. Praktisch alle biologischen Makromoleküle sind negativ geladen während positive Moleküle wie Histone, Amine oder Ionen die lokale Wechselwirkung kontrollieren. Wie wir im §37) sehen werden sind hoch geladene Makromoleküle in Elektrolyten instabil, was zur **Kondensation** von **Gegenionen** (nach ihrem Entdecker auch Manning-Kondensation genannt [Manning, 1969]) auf der Oberfläche des Polymers führt. Die Kondensation erfolgt schon bei extrem kleinen Salzkonzentrationen (in der Grössenordnung von nM) und unter normalen physiologischen Salzkonzentrationen ($> 100\text{mM}$) ist die Bedingung der Ladungskondensation sicher erfüllt.



[GeladenMakromolek]

Figure 24.5 (ehem. 24.6)

Zur Charakterisierung geladener flexibler Makromoleküle. Die Zahl der Kuhn-Segmente pro Kette sei wieder N , die Konturlänge L_c . Die Ladung pro Segment sei e (Elementarladung) und die lineare Ladungsdichte $\lambda = N e / L_c$. Die Teilchendichte der Gegenionen der Sorte i ist n_i . Man beachte Folgendes: Erstens, unter physiologischen Bedingungen ist der Abstand der Ladungen

aufgrund der Ladungskondensation gleich der Bjerrum Länge l_B ($\approx 0,7\text{nm}$). Zweitens, nur die positiven Überschussladungen der Gegenionenwolke werden gezeigt, wobei κ^{-1} die Debye Abschirmlänge ist.

Im Folgenden werden wir die Effekte der Ladung auf die Persistenzlänge, den Flory Radius und den osmotischen Druck diskutieren, wobei wir zwischen flexiblen und semi-flexiblen Polymeren unterscheiden müssen. Für die flexiblen Ketten können wir bei der Berechnung des Einflusses der Ladungen auf den Flory χ -Parameter auf die Debye Hückel (DB) zurückgreifen, während wir für semiflexible Ketten die Theorie auf eindimensionale Objekte erweitern müssen. Deren Verhalten ist durch zwei Längen bestimmt: die uns vertraute Debye Abschirmlänge κ^{-1} und die Bjerrum-Länge l_B , die wie folgt definiert sind:

$$\kappa = \sqrt{\sum_i \frac{z_i^2 e_0^2 c_{i,0}}{\epsilon \epsilon_0 k_B T}} \quad l_B = \frac{e^2}{4\pi \epsilon \epsilon_0 k_B T} \quad (24.21)$$

l_B hat eine anschauliche Bedeutung. Zwei Ladungen im Abstand l_B haben die Coulomb-Energie $k_B T$. Unter Standardbedingungen (25°C und $\epsilon=80$) wird $l_B=0,78\text{ nm}$. Ist der Abstand zwischen den Ladungen kleiner (wie im Fall der DNA) so findet Ladungskondensation statt bis die Ladungsdichte die Bedingung $\lambda^*=e_0/l_B$ erfüllt. Eine kurze Begründung für die Kondensation der Ladung bringen wir in §36

Wir betrachten nun zwei wichtige Sonderfälle:

1. Ist $\kappa^{-1} \gg L_c$ so wird die Kette durch elektrostatische Abstoßung zwischen den Monomeren gestreckt bis zum Grenzfall starrer Stäbe.
2. Falls $l_B \ll \kappa^{-1} \ll L_c$ ist, wird die Persistenzlänge L_p (oder Kuhn-Länge) um einen elektrostatischen Beitrag verlängert auf $L_p^* = L_p + L_{p,el}$. Von Odijk [Odijk 1978] wurde das Kuhn-Kratky-Porod-Modell erweitert und $L_{p,el}$ über die Debye-Hückel-Näherung berechnet. Hier soll nur das Ergebnis (mit der Definition der Abb. 24.6) angegeben werden.

$$L_{p,el} = \frac{l_B}{4\kappa^2} \frac{1}{L_p^2} \quad (24.22)$$

Da $\kappa \propto \sqrt{c_i}$ ist, hängt $L_{p,el}$ linear von der Salzkonzentration c ab. Welchen Effekt können wir nun für physiologische Situationen erwarten. In der Zelle ($c_i \sim 400\text{mM}$) ist $\kappa^{-1} \sim 1\text{ nm}$. Für DNA (mit einer Ladungsdichte von $\approx 6e/\text{nm}$) und der Persistenzlänge $L_p \sim 50\text{ nm}$ wird $\kappa L_p \sim 10$, d.h. der Effekt der Ladung ist sehr klein. Wesentlich dramatischere Effekte hat die elektrostatische Wechselwirkung auf die Virialkoeffizienten, wie im Folgenden gezeigt werden soll.

24.10 Der elektro-osmotische Zusatzdruck von geladenen Polymeren.

Es ist intuitiv klar, daß die elektrostatische Abstoßung zwischen den Segmenten zu einer zusätzlichen Wasseraufnahme durch das Polymer führt. Die Ursache ist letztlich eine Folge der Bedingung der Elektroneutralität. Diese führt dazu, daß die Konzentration der frei beweglichen Gegenionen innerhalb der Polymer-Knäul größer ist als außerhalb. Den osmotischen Zusatzdruck erhält man am einfachsten durch Berechnung des Beitrags der elektrostatischen Wechselwirkung zum zweiten Virialkoeffizienten, wobei für das Paarpotential benachbarter geladener Segmente der Ausdruck der Debye-Hückel Theorie eingesetzt wird. Dies ist für interessierte Leser ein lehrreiches Beispiel der Anwendung des Konzepts des Van der Waals Gases zur Beschreibung der Thermodynamik kolloidaler Lösungen.

Wie im Appendix 24. A gezeigt wird, ist der elektrostatische Beitrag zum Virialkoeffizienten in erster Näherung gegeben durch

$$B_{2,el} = \frac{z_m^2}{2a^3 \sum_i n_i z_i^2} \quad (24.22)$$

Bei der Berechnung des Beitrags dieses Virialkoeffizienten zum osmotischen Drucks müssen wir nun noch beachten, dass wir nur den Beitrag der geladenen Segmente zur Virialentwicklung berücksichtigen dürfen, da wir im Appendix den Beitrag der sterischen Abstoßung eliminiert haben. Daher müssen wir den Volumbruch der Monmere φ_m mit dem Bruchteil α geladener Segmente multiplizieren. Wir ersetzen also φ_m durch $\alpha\varphi_m$. Einsetzen in die allgemeine Gleichung für den osmotischen Druck ergibt

$$\Pi_{el} = \frac{k_B T}{a^6} \frac{z_m^2}{2 \sum_i n_i z_i^2} \alpha^2 \varphi_m^2 \quad (24.23)$$

Ein analoger Ausdruck wurde in [Hill] abgeleitet. Wir haben den Virialkoeffizienten durch Berücksichtigung der elektrostatischen Abstossung zwischen den Segmenten abgeleitet. Da wir dabei die Debye Theorie benutzt haben können wir den Zusatzdruck auch als Folge der Einstellung des Zustandes der Elektroneutralität interpretieren.

Die wichtigste Konsequenz der elektrostatischen Wechselwirkung ist die Verbesserung der Qualität des Lösungsmittels Wasser, denn der Flory-Parameter wird um den elektrostatischen Beitrag χ_{el} reduziert gemäß

$$\chi_{eff} = \chi - \frac{\alpha^2 z_m^2}{2 \sum_i n_i z_i^2 a^3} \quad (24.34)$$

wobei n_i die Teilchendichte der Gegenionen ist. Die Effekte können sehr groß sein, wie folgende Betrachtung zeigt. Nach Gl (24.17) wächst das Volumen eines Moleküls gemäss $(1-2\chi)^{3/5}$. Daher ändert sich das Volumen eines Makromoleküls bei der Aufladung relativ zum neutralen Zustand (V_0) um

$$V_z = V_0 \left\{ \frac{1-2\chi_{eff}}{1-2\chi_0} \right\}^{3/5} \quad (31.35)$$

Betrachten wir ein Polymer mit einem Wert $\chi_0=0,25$ im neutralen Zustand und nehmen an, dass die Monomere und Wassermoleküle das gleiche Molvolumen von $a^3 \approx 3 \cdot 10^{-26} \text{ m}^3$ besitzen. Für ein Polymer der Ladungsdichte $1e$ pro Monome (wie Hyaluronsäure) und einer Ionenkonzentration von 100 mM wird $\chi \approx 13$. und damit $V_z \approx 10 V_0$. Die elektrostatischen Effekte können also sehr groß sein. Insbesondere kann der Volumenbedarf der Polymere über den Dissoziationsgrad α über weite Bereiche variiert werden.

24.11 Appendix A. Elektrostatischer Beitrag zum Virialkoeffizienten geladener Makromoleküle

Wir betrachten die Monomere wieder als Kugeln mit dem Eigenvolumen a^3 . Das Wechselwirkungspotential zweier Monomere mit der Ladung ez_m im Abstand $r > a$ ist dann durch das in § xxx abgeleitete Paarpotential

$$w_{mm} = \frac{z_m^2 e_0^2 \exp\{-\kappa r\}}{4\pi\epsilon\epsilon_0 r} \quad (24 A.1)$$

bestimmt, während für $r < a$ $w_{mm} = \infty$ ist.

Der Beitrag der elektrostatischen Abstoßung zum Virialkoeffizienten ist dann bekanntlich durch das folgende Integral gegeben [Landaulifshitz)

$$B_{el} = \frac{2\pi}{a^3} \int_{2a}^{\infty} \left\{ 1 - \exp\left[-\frac{w_{mm}}{k_B T}\right] \right\} r^2 dr \quad (24.A.2)$$

Man beachte, dass dieser Ausdruck nur die elektrostatische Kopplung berücksichtigt, während die sterische Abstossung durch das Eigenvolumen durch das Intergral zwischen 0 und $2a$ bestimmt ist. Um das Integral zu lösen, muß die Exponentialfunktion entwickelt werden. Berücksichtigt man nur Terme bis zur Ordnung $(w_{mm}/k_B T)$, so folgt nach einer nicht allzu schwierigen Rechnung

$$B_{el} \approx \frac{e_0 z_m^2}{2 a^3 \sum n_i z_i^2}$$

Zur Vereinfachung wurde ein Term der Größenordnung z_m^4 vernachlässigt, da er einem Virialkoeffizient höherer Ordnung entsprechen würde.

24.12 Appendix B: Häufig benutzte Bezeichnungen des §24.

In der Polymerphysik gibt es eine gewisse Tradition der Bezeichnungen der physikalischen Parameter, Wir benutzen in diesem Paragraphen folgend Abkürzungen, die von denen in den anderen Paragraphen manchmal abweichen können.

c_p	Teilchendichte der Polymere (Ketten/m ³)
c_m	Teilchendichte der Segmente (Segmente/m ³)
ρ_m	Massendichte der Polymere (Masse/m ³)
N	Monomere pro Kette (Polymerisationsgrad)
M	Zahl der Polymere in einer Lösung
N_m, N_l	Zahl der Monomere bzw. Lösungsmittelmoleküle in einer Lösung
ϕ_m, ϕ_l	Volumenbrüche der Polymere bzw. des Lösungsmittels
L_c	Konturlänge flexibler oder steifer Makromoleküle
L_p	Persistenzlänge
\vec{L}	End-zu-End Vektor des Polymers
R_F	Flory-Radius
N_c	Zahl der Segmente zwischen zwei Knoten eines Netzwerks
M_c	Zahl der Ketten zwischen den Netzpunkten

25 Molekulare Dynamik und Elastizität semiflexibler Filamente

25.1 Einleitung

In den folgenden Paragraphen befassen wir uns mit den dynamischen und elastischen Eigenschaften verschlaufter und verknoteter Netzwerke (Gele) semiflexibler Filamente. Da Zellen und Gewebe aus dieser Klasse von Makromolekülen aufgebaut sind, ist dies ein hoch interessantes und intensiv studiertes Gebiet der Physik biologischer Materie und von großem praktischen Interesse. Daher ist in wenigen Jahren eine sehr umfangreiche Literatur entstanden und wir beschränken uns auf die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeiten. Wir werden uns dabei vorwiegend auf die Physik der Aktinnetzwerke konzentrieren da diese am intensivsten untersucht wurden und eine so zentrale Rolle für die Funktion der Zelle spielen. Wir sind insbesondere daran interessiert herauszufinden, ob und (gegebenenfalls) welchen Gebrauch die Zellen von der Vielfalt und den außergewöhnlichen elastischen Eigenschaften der Aktin-Netzwerke und -Gele machen.

Der Tradition der Biologischen Physik folgend werden wir versuchen die Fragestellung durch Vergleich der Eigenschaften von *in vitro* Modellen und natürlicher Systeme anzugehen. Wir beschränken uns auf die Zusammenstellung der wichtigsten theoretischen Grundlagen, die häufig aus Skalengesetzen bestehen und noch kontrovers diskutiert werden. Wir beginnen mit der Dynamik und Elastizität von Einzelfilamenten und deren Diskussion auf der Basis des Röhrenmodells von Edwards. Dieses Konzept wurde ursprünglich zur quantitativen Beschreibung der Dynamik flexibler Makromoleküle eingeführt und erwies sich später ebenso erfolgreich zur Behandlung semiflexibler Filamente. In den nächsten zwei Paragraphen geben wir eine kurze Einführung in die Dynamik wurmartiger Ketten und deren Untersuchung mittels mikrooptischer und mikomechanischer Methoden. Wir zeigen dann am Beispiel homogener Aktinnetzwerke, wie man durch solchen Experimenten Beziehungen zwischen makroskopischen mechanischen Eigenschaften der Zelle und moleküldynamischen Prozessen herstellen kann. Wir betrachten dann die biologisch realistischere Situation heterogener Netzwerke (Heterogeale) und beschließen das Gebiet mit einer Diskussion der

Microviskoelastizität der Zellen und deren Kontrolle durch zelluläre Spannungssensoren und intrazelluläre Signalsysteme.

25.2 Einzelfilamentdynamik und Elastizität semiflexibler Filamente.

Das elastische Verhalten von Netzwerken und Gelen aus semiflexiblen oder steifen Makromolekülen ist wesentlich komplexer als das aus ideal flexiblen Ketten. Relativ einfach ist die Situation nur für verschlaufte oder leicht vernetzte und daher homogene Gele. Ihr Verhalten lässt sich mit dem Röhrenmodell von Edwards und de Gennes gut beschreiben, das auf folgender schönen Idee basiert. Man nimmt an, dass die Wechselwirkung eines heraus gegriffenen Testfilaments mit seiner Umgebung durch einen röhrenartiger Käfig ersetzen kann. Die thermisch angeregten Biegefluktuationen des Filaments werden durch die Wände der Röhre eingeschränkt. Diese Anregungen treiben, zusammen mit den fluktuierenden Kräften der Umgebung auch die Selbstdiffusion des Filaments entlang der Röhrenachse, d.h. die Filamente schlängeln sich durch Polymere wie Schlangen durch das Gras und man bezeichnet die Selbstdiffusion der Ketten oft als **Reptation**.

Um die Dynamik einzelner Makromoleküle zu analysieren markiert man diese mit fluoreszierenden Farbstoffen oder mit Goldpartikeln und beobachtet deren Brownsche Bewegung mittels Mikrofluoreszenz oder Ultramikroskopie [Dichtl NJP]. Der Vorteil der letzten Methoden ist, dass sie auch in Zellen eingesetzt werden können.

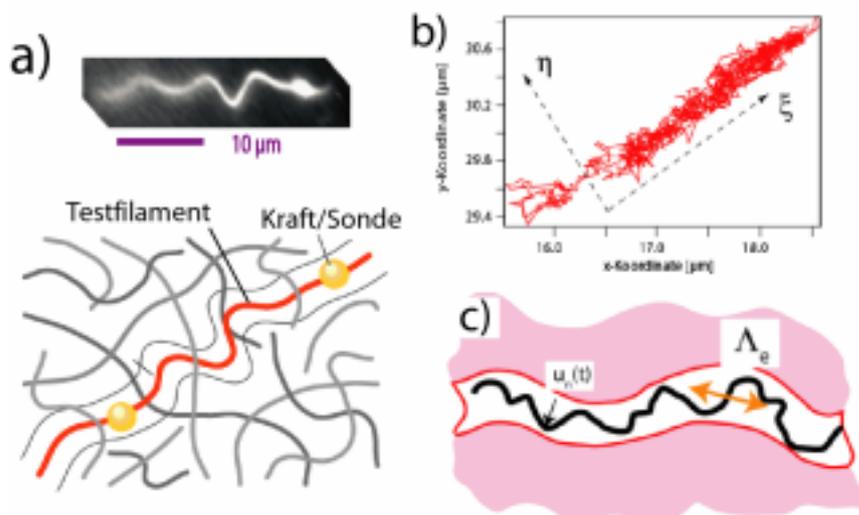


Figure 25.1

(a) Beobachtung der Bewegung von Aktinfilaments durch Markierung mit Fluoreszenzsonden (oben) oder mit Goldpartikeln von $\Phi \sim 10$ nm (unten). b) Beobachtung der anisotropen Bewegung der kolloidalen Sonde im Ultramikroskop. Durch Analyse der optischen Transferfunktion der Sonden mittels dynamischer Bildverarbeitung kann deren Position in der Bildebene mit 10 nm lateraler und 10 msec zeitlicher Auflösung verfolgt werden. Die dicke der wurstartigen Bewegung ist ein Maß für den Durchmesser der Reptationsröhre. c) Momentanbild eines Filaments und der Reptationsröhre, sowie Definition der Verhedderungslänge Λ_e . Quellen: Bild a : Doktorarbeit Josef Kaes TUM 199X); Bild c): M. Dichtl and E. Sackmann New J. Physics 1, 18.1-18.11 (1999))

Abb. 25.1b zeigt eine Langzeitbeobachtung eines Reporterfilaments. Durch Analyse der anisotropen Brownschen Bewegung der Sonde kann man die mittleren Verschiebungsquadrate der Filamente senkrecht und parallel zur Röhrenachse [Dichtl] messen. Diese liefern wichtige Information über die Dynamik der Filamente und die Struktur der Netzwerke oder ermöglicht genaue Messungen der Biegesteifigkeit des F-Aktins wie wir nun zeigen werden.

1. Die Messung in paralleler Richtung liefert den Selbstdiffusionskoeffizient entlang der Röhre nach der Beziehung

$$\Delta \xi(t)^2 = \langle [\xi(t) - \xi(0)]^2 \rangle = 2 D_p t$$

Die Messung der Abb25.1b liefert für ein Filament mit $L_c = 10 \mu\text{m}$ einen Wert von $D_p = 10^{-16} \text{ m s}^{-2}$ (s. Aufgabe 25.1)

2. Das Verschiebungsquadrat in senkrechter Richtung zerfällt in zwei Zeitbereiche. Für Zeiten $t < \tau_e$ wird

$$\Delta \eta(t)^2 = \langle [\eta(t) - \eta(0)]^2 \rangle = 2 D_s t^{-3/4} .$$

Solches Verhalten (oft **sub-diffusiv** genannt) ist typisch für Diffusionsprozesse in viskoelastischen Medien (s. § 26) und Zellen. Mit dem in §26 eingeführten verallgemeinerten Einstein-Gesetz, $D \sim k_B T / \zeta(t)$, folgt daraus, dass die Viskosität zeitabhängig ist und einem Potenzgesetz $\eta(\tau) \sim \tau^{-1/4}$ gehorcht. Bei $t \gg \tau_e$ sättigt das Verschiebungsquadrat, aber dessen Wert $\Delta \eta^2$ fluktuiert zeitlich und zeigt eine gaussartige Verteilung. Aus der Verteilung der Sättigungswerte erhält man die Maschenweite des Netzwerks als Funktion der Aktinkonzentration, das Wechselwirkungspotential zwischen Wand und Filament, sowie die Biegesteifigkeit der Filamente (in Analogie zu Vorgehen bei Membranen §12.X).

25.3 Messung der Biegesteifigkeit der Rauigkeit und der Verhederungslänge semiflexibler Filamente.

Wie wir in der Membranphysik gelernt haben, können wir aus der Fluktuation in Richtung der Normalen viele andere wichtige Dinge lernen. Da wir das Problem thermischer Fluktuationen semiflexibler Systeme im §12 ausführlich behandelten, stellen wir hier nur einige wichtige Konsequenzen der undulatorischen Anregungen der Aktinfilamente zusammen.

1. Wie im Fall der Membranen kann man durch Fourieranalyse der Biegefluktuationen die Biegesteifigkeit der Filamente messen. Wir betrachten dazu die mit einer momentanen Deformation verbundene elastische Energie der wurmartigen Kette der Länge L . Im Grenzfall kleiner Amplituden (klein gegen den Filamentdurchmesser a) gilt für ein freies Filament.

$$G_{ela} = \frac{1}{2} B \iint dx dy \left\{ \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial y^2} \right\}^2 \quad (25.1)$$

Wobei $\mathbf{u}(x,t) = (u_x(t), u_y(t))$ die Amplituden der Auslenkung des Filaments in die zwei Normalenrichtungen sind. Durch Fourierzerlegung der Anregungen: $\mathbf{u}(x,t) = \sum u_{q_x}(t) \exp\{iq_x x\}$ mit $\pi/L \leq q_x \leq \pi/a$ und der Anwendung des Äquipartitionsprinzips (nach demselben Schema wie im Fall der Membranen in §12) erhält man das folgende Ergebnis:

$$L^2 u_q^2 = \frac{k_B T}{B q^4} \quad (25.2)$$

Wie im Fall der Membranen ermöglicht die Analyse möglichst vieler Mikrofluoreszenzaufnahmen präzise Messungen der Biegesteifigkeit B einzelner Filamente ([Isambert] oder auch von Aktin-Bündeln [Lieg]).

Eine andere nützliche und praktisch wichtige Größe ist das mittlere Amplitudenquadrat (**oft** wie bei Membranen **Rauhigkeitsfaktor genannt**) das man durch Integration der Amplituden über alle Wellenvektoren q erhält

$$\langle u^2 \rangle \approx \frac{k_B T}{B} L^3 = \frac{L^3}{L_p} \quad (25.3)$$

Wir sehen, dass das Amplitudenquadrat mit der dritten Potenz der Konturlänge zunimmt (d.h. schneller als im Fall der Membranen). Für $L \sim 10\mu\text{m}$ $L_p \sim 15\mu\text{m}$ wird $\langle u^2 \rangle \approx 67 \mu\text{m}^2$ und $\langle u \rangle \approx 8 \mu\text{m}$.

Betrachten wir nun die Konsequenz der eingeschränkten Bewegung etwas genauer. Da die Maschenweiten $\xi \leq 1\mu\text{m}$ sind werden alle Fluktuationen unterdrückt deren Rauhigkeit $\langle u^2 \rangle$ größer als ξ^2 ist. Mit dieser Bedingung folgt aus Gl (25.3), dass die Wellenlänge der langwelligsten Anregung die nicht unterdrückt wird von der Größenordnung [Morse 2003]¹

$$\Lambda_e \sim \xi^{2/3} L_p^{1/3} \quad (25.4)$$

ist. In Analogie zur Definition der (in §12 eingeführten) Persistenzlänge der Membranen können wir das in der Röhre eingespernte Filament aus Stücken der Länge Λ_e zusammengesetzt denken, die unabhängig voneinander fluktuieren [Odijk, Isambert Maggs]. Λ_e ist neben L und L_p die dritte Längenskala welche die Bewegungsfreiheit der Filamente in Netzwerken (und damit die viskoelastischen Module) bestimmt. Sie ist immer (um den Faktor $(L_p/\xi^{1/3})$ größer als die Maschenweite ($\Lambda_e \sim 2\mu\text{m}$ für $\xi \sim 1\mu\text{m}$). Wir nenne sie Verhedderungslänge (engl entanglement length).

Tabelle 25.1

Zusammenstellung einiger Biegemodule (B) semiflexibler Biopolymere als Persistenzlängen ($B=k_B T L_p$).

Filament	Behandlung	L_p [μm]
----------	------------	-------------------------

¹ Eine genaue Rechnung liefert $\Lambda_e \sim \xi^{4/5} L_p^{1/5}$ Deren Ableitung bedarf einer längeren Betrachtung, die wir uns hier ersparen da die Abweichungen klein sind.[Isambert Maggs].

Aktin	ATP-Mg	17
Aktin	ADP	9
Aktin	Tropomyosin/Troponoin	11
Mikrotubuli	in vivtro	10 ³
IMF	in vitro	6-8

25.4 Die anisotrope Federkonstante semiflexibler Filamente.

Um die Federkonstante semiflexibler Filament zu bestimmen betrachten wir das Verhalten des dynamisch rauhen Filaments unter einer äußeren Kraft, τ , parallel zur Längsachse. In Analogie zur Situation bei Membranen ist die elastische Energie bestimmt durch

$$\Delta G_{ela} = \int_0^L ds \left\{ \frac{B}{2} \left(\frac{\partial^2 u}{\partial s} \right)^2 + \frac{\tau}{2} \left(\frac{\partial u}{\partial s} \right)^2 \right\} \quad (25.5a)$$

Wie bei der Berechnung der entropischen Spannung von Membranen (§12) oder bei der Ableitung der Gl (25.2) können wir die Reduktion der dynamische Rauigkeit durch die Spannung bestimmen, indem wir die thermischen Anregungen als Fourierreihe darstellen und den Gleichverteilungssatzes anwenden. Man erhält für die Amplituden der Fouriermoden:

$$\langle u_q^2 \rangle = \frac{k_B T}{Bq^4 + \tau q^2} \quad (25.5b)$$

Aus dieser Gleichung können wir nun die Federkonstante bestimmen, indem wir die Differenz zwischen der Konturlänge L_c dem End-zu-End-Abstandes $\langle L \rangle$ als Funktion von τ berechnen. Wenn τ in Richtung der mittleren Achse (x) des Filaments gerichtet ist, entspricht $\langle L \rangle$ der Projektion des Filaments auf die x -Achse und die Kraftkonstante des Filaments ist gegeben durch $\delta L = L_c - \langle L \rangle = k\tau$

Es ist klar, dass $\langle L \rangle$ aufgrund der thermischen Anregung kleiner ist als L_c . Als nächstes beachten wir dass folgender Zusammenhang zwischen der Konturlänge des Filaments und der lokalen Auslenkung $u(x,y)$ gilt.

$$L_c = \int_0^L ds = \int_0^{L_c} dx (1 + 1/2 \nabla u^2)$$

und daher $\delta L = 1/2 \int dx \nabla u^2$ wird. Wie üblich, ersetzen wir die Summe durch das Integral:

$$\sum_q f(q) \rightarrow \frac{L}{\pi} \int f(q) dq \dots$$

und erhalten.

$$L_c - L = \frac{k_B T}{B} \int_{q_{\min}}^{q_{\max}} \frac{dq}{q^2 + \sqrt{\tau}/B} = \frac{L}{L_p} \sqrt{\frac{B}{\tau}} \left\{ \operatorname{arctg} \frac{\sqrt{B}}{L_c \sqrt{\tau}} - \operatorname{arctg} \frac{\sqrt{B}}{a \sqrt{\tau}} \right\}.$$

Für Aktin ($B \sim 10^{-26}$ Jm und $a \sim 10$ nm) und Kräfte im pN-Bereich wird das Argument des zweiten Terms sehr groß und $\operatorname{arctg} = \pi/2$. Das Argument des ersten Terms wird ebenfalls größer als eins und der interessierte Leser kann leicht nachvollziehen, daß die Dehnungs-Spannungskurve folgende Form erhält [MacKintosh] [Fixman] [Marko Siggli]

$$\delta L \approx 3 \frac{k_B T L^4}{B^2} \tau \quad (25.4b)$$

Dies ist ein sehr wichtiges Ergebnis denn es zeigt den fundamentalen Unterschied zwischen flexiblen und semiflexiblen Filamenten. Wir sehen, daß die Federkonstante quadratisch mit der Biegesteifigkeit zunimmt und, ganz im Gegensatz zur Entropiefeder, mit der Temperatur abnimmt. Dieses Verhalten erinnert daher an das eines flexiblen Stabes [E. Frey] und ist die Folge der endlichen Biegesteifigkeit der Filamente. Aus diesem Grund hängt die Deformation der Filamente sehr empfindlich von der Richtung der äußeren Kraft zur Filamentachse ab. Ist diese senkrecht zur Längsachse so wird die Deformation eines einseitig eingespannten Filaments durch eine am freien Ende senkrecht zur Filamentachse wirkende Kraft t_s gegeben durch (s [Landau Lifshitz] Vol VII, § 20.)

$$\delta u(L) = \frac{L^3}{3B} \tau_s \quad (25.6)$$

Eine Interpolationsformel zwischen den beiden extremen Situationen findet man in [Frey et al].

Eine wichtige Konsequenz des semisteifen Verhaltens der Biopolymere ist die mechanische Instabilität der Filamente (engl. buckling) gegen parallel zur Achse wirkenden Kompressionskräften, die sog. Euler-Instabilität. Diese setzt oberhalb eines kritischen Wertes, der sog. **Knickkraft** (engl. **buckling force**) ein, die wieder von den geometrischen Bedingungen abhängt. Wir haben die Theorie von Euler im §25 schon benutzt, um abzuschätzen, wie groß die Maschenweite des Aktin-Netzwerks der Pseudopodien sein darf, um Pseudopodien der Zellen mit nN-Kräften voranzutreiben.

25.5 Relaxationszeiten der thermischen Anregungen

Zur Behandlung der dynamischen mechanischen Eigenschaften der Filamente, die Einführung in die **Viskoelastizität makromolekularer Netzwerke** von zentraler Bedeutung ist, benötigen wir die Differentialgleichung, welche die Bewegung der Filamente in Richtung senkrecht zur Filamentachse beschreibt. Die mechanische Rückstellkraft gegen Auslenkungen aus der Ruhelage (der erste Term auf der rechten Seite der Gl.25.7) ist ganz analog wie bei Membranen (§12) durch die zweite Ableitung der globalen Krümmungsenergie gegeben. Die Bewegungsgleichung lautet daher (s. [Isambert und Maggs])

$$\zeta \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} = -B \frac{\partial^4 \vec{u}}{\partial s^4} + \varphi_s(t) \quad (25.7)$$

wobei ζ der Reibungskoeffizient des Filaments ist. Dabei repräsentiert $\varphi_s(t)$ die in § Rudi X ?? eingeführte thermische Kraft, deren Amplitude durch ihre Korrelationsfunktion $\langle f(t)f(t-t') \rangle = 2k_B T \eta$ bestimmt ist (siehe auch [LL] Band V.I §119). Die Mechanische Rückstellkraft erhält man durch Variation des Funktionals der globalen Biegeenergie der Gl (25.1). Für uns ist nur die Relaxationszeit τ_q der thermisch angeregten Eigenschwingungen (Moden) interessant, da wir diese im §26 benötigen. Diese erhält der interessierte Leser leicht durch Fourierzerlegung der thermischen Anregungen und Lösung der Gl 25.8 für $\varphi_s(t)=0$. Für die Wellenlänge $\Lambda = 2\pi/q$ wird

$$\tau_q = \frac{\zeta}{k_B T L_p q^4} = \frac{\zeta}{B q^4} \quad (25.8)$$

ζ ist der Reibungskoeffizient eines Filaments den wir bei der Behandlung der Flagellen einführen. Die Gleichung zeigt uns, dass langwellige Moden sehr viel langlebiger sind als kurzwellige. Dieses Ergebnis ist von zentraler Bedeutung, denn es wird uns helfen die phänomenologischen viskoelastischen Eigenschaften des Zytoskeletts auf molekulare Bewegungsprozesse zurückzuführen.

Letzte Änderung (Shoh): 04.03.2009

Endversion 29.2.09

26 Viskoelastizität homogener Netzwerken und Gele.

26.1 26.1 Einleitung: Das Prinzip der Viskoelastizität und was wir daraus lernen können.

Unter viskoelastischem Verhalten eines Materials versteht man die Überlagerung der durch das Hook'sche Gesetz bestimmten elastischen Deformation (die im Idealfall unendlich schnell erfolgt) und einem verzögerten viskosen Fließen nach Anlegen einer äußeren Kraft. Das einfachste Modell eines viskoelastischen Körpers ist eine parallele Anordnung aus einer Feder (der Federkonstante k) und einem Stossdämpfer (mit dem Reibungskoeffizient ζ), die uns das Fahren im Auto angenehmer macht. Eine Anordnung solcher Element zeigt Abb. 26.1a. Der Zeitverlauf der Deformation wird durch folgende einfache Differentialgleichung bestimmt

$$\zeta \frac{dx}{dt} + kx = F_0 H(t) \quad (26.1a)$$

$H(t)$ ist die **Heaviside-Funktion** mit den Werten $H=0$ für $t \leq 0$ und $H=1$ für $t \geq 0$. Man erhält diese Gleichung einfach indem man beachtet, dass die äußere Kraft (in x-Richtung) durch die Reibungskraft und die Federkraft kompensiert wird. Man kann auch durch Probieren oder Lösung der Differentialgleichung (s. Aufgabe 26.1) nachvollziehen, dass die Deformation folgender Gleichung gehorcht.

$$x(t) = \frac{k}{F} (1 - \exp\{-t/\tau\}) \quad \text{mit} \quad \tau = \zeta/k \quad (26.1b)$$

Man bezeichnet τ als Ansprechzeit. Die Deformation der parallelen Anordnung der Element steigt langsam mit der Zeit an und erreicht erst bei $t/\tau \rightarrow \infty$ den (durch das Hook'sche Gesetz bestimmten) Sättigungswert: $x(\infty) = f/F$. Ist das Verhalten unabhängig von der Amplitude der Kraft, so spricht man von **linearer Viskoelastizität**. Falls unser Beobachtungsinstrument die Deformation viel langsamer registriert als die

Anfangsgeschwindigkeit der Auslenkung und wir auch nicht unendlich lange beobachten können, würde uns der Körper als ideal elastisch erscheinen.

Tatsächlich sind alle Materialien viskoelastisch. Wenn wir lange genug warten, beginnt jeder Körper unter der Wirkung äußerer Kräfte (z.B. der eigenen Schwere) zu fließen, d.h. der elastische Modul realer Materialien ist keine Konstante sondern eine Funktion der Zeit. Ein Festkörper braucht dazu eine unbeobachtbar lange Zeit, während bei Wasser die Fließzeit bei $\sim 10^{-12}$ sec m liegt. Man nennt die Zeit t_D , die ein Körper zum Fließen braucht manchmal auch **Deborah-Zahl**, in Anlehnung an das Wort Deborahs im 5-ten Buch der Richter im Alten Testament: *'Und die Berge flossen vor Gott'* (dem ältesten bekannte Zitat über die Viskoelastizität). Im Zeitalter der globalen Erwärmung äußert sich die Viskoelastizität der Erde am Heben der Täler nach dem Abschmelzen der Gletscher. Sehr alte Kirchenfenster sind unten etwas dicker als oben, da das Glas im Lauf der Jahrhunderte nach unten geflossen ist. Man nennt die Lehre vom diesem dynamischen mechanischen Verhalten der Materie auch **Rheologie**, ein durch Kombination der griechischen Wörter für fließen (*rhei*) und Lehre (*logos*) gebildeter Ausdruck.

Das Paradigma eines viskoelastischen Systems ist der Glaszustand, wie der Entdecker der Viskoelastizität, James Maxwell, erstmals erkannte. Seither lernen wir, dass Gläser unterkühlte Flüssigkeiten sind. Da Maxwell es liebte, die Physik des elektromagnetischen Feldes durch mechanische Modelle zu untermauern, gelangen ihm viele wichtigen Entdeckungen auf dem Gebiet der Kontinuumsmechanik. Maxwell erkannte, dass das viskoelastische Verhalten der Gläser auf interne Relaxationsprozesse durch Brechen interner Bindungen zurückzuführen ist.

Auf molekularer Ebene können wir uns das Hooke'sche Verhalten durch die eingeschränkte Bewegung der Moleküle im harmonische Potential vorstellen, während das Fließen auf Übergänge zwischen Minima des Wechselwirkungspotentials beruht, die durch Aktivierungsbarrieren getrennt sind.

Seit Maxwells Entdeckung ist die Rheologie eine zentrale Methode zur Untersuchung der Struktur und Dynamik molekularer Umordnungsprozesse in komplexer kondensierter Materie geworden. Da biologische Materialien ständig in Bewegung sein müssen (denken wir nur an den Transport der Blutzellen durch enge Kapillaren, an die Deformation des Gewebes der Fußsohlen oder der Knorpel unserer Gelenke beim Gehen), ist die Biorheologie ein besonders wichtiges Gebiet. Studenten der Physiker lernen während ihres Studiums kaum etwas über Viskoelastizität. Ein Grund ist die enorme Schwierigkeit und der Umfang des Gebiets, denn es erfordert die Kombination von Kontinuumsmechanik und

statistischer Physik. Der Klassiker der praktischen Rheologie von Ferry [Ferry] hat rund 600 Seiten. Eine kurze aber stimulierende Einführung in das Gebiet der Rheologie gibt das Buch von Barnes et al. [Barnes]. Die Biorheologie ist auch sehr verständlich in dem Buch von Y.C Fung [Fung] beschrieben. Im Folgenden sollen die wichtigsten Grundlagen der Rheologie, soweit sie für die Biologie wichtig erscheinen, dargestellt werden, wobei Gleichungen nicht abgeleitet sondern, soweit möglich, nur plausibel gemacht werden sollen. Als weitere Basis dient dabei das Buch von Doi und Edwards [Doi-Edwards], in dem die Theorie viskoelastischen Eigenschaften der Polymere in einer auch für den Experimentalphysiker zugänglichen Weise dargestellt wird..

26.1.1 Kontinuumsmechanische Konzepte und Methoden der Rheometrie

Zur Einführung des Konzepts der linearen Viskoelastizität und der Messmethoden betrachten wir die Situation der Scherung eines Kubus um ein Winkel $d\Theta$ (siehe Abb. 26.1). Anstatt des Hookschen Gesetzes der instantanen mechanischen Antwort gilt, dass die zeitliche Änderung der Spannung $d\sigma/dt$ proportional zur Deformationsgeschwindigkeit ($d\Theta/dt$) ist

$$\frac{d\sigma}{dt} = G(t) \frac{d\theta}{dt} \quad (26.2)$$

$G(t)$ ist ein zeitabhängiger elastischer Modul und heißt der **Relaxationsmodul**. Wie wir aus „§ „**Rudi's Kramerstheorie**“ wissen, folgen alle Entbindungsprozesse der Kraft mit einer gewissen Verzögerung, die wir **Ansprechzeit oder Relaxationszeit** nennen. Da die Änderung der internen Spannung $\sigma(t)$ der Variation der Scherung ($d\Theta/dt$) verzögert folgt, hängt die zeitabhängige Spannung $\sigma(t)$ von der Vorgeschichte der Deformation $\Theta(t)$ ab. Nach dem Prinzip der linearen Antwort ist $\sigma(t)$ durch Konvolution des viskoelastischen Moduls $G(t)$ mit $\Theta(t)$ bestimmt.

$$\sigma(t) = \int_0^t G(t-t') \frac{d\Theta(t')}{dt'} dt' \quad (26.3a)$$

In Analogie dazu ist die Deformation $\Theta(t)$ als Antwort auf eine zeitliche Änderung der Scherspannung σ gegeben durch

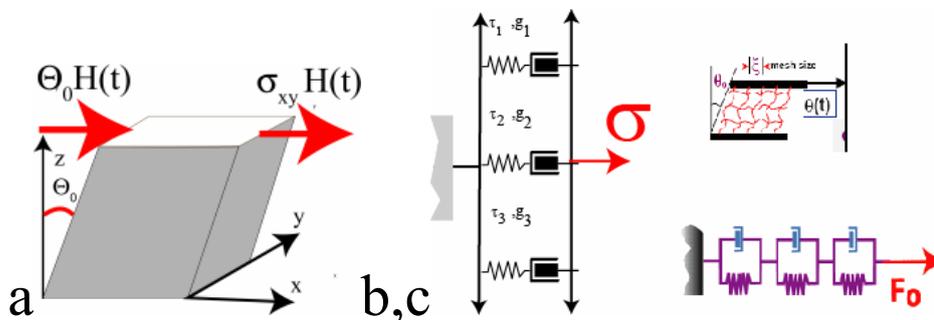
$$\Theta(t) = \int_0^t J(t-t') \frac{d\sigma(t')}{dt'} dt' \quad \sim \quad b$$

Man nennt $J(t-t')$ den **Retardationsmodulus**.

Die Namen für $G(t)$ und $J(t)$ charakterisieren den Messprozess:

In dem durch Gl (26.3a) charakterisierten Fall misst man die Relaxation der internen Spannungen (die ein Beobachter im Körper spüren würde). $d\sigma(t)/dt$ ist ein Maß für die zeitliche Abnahme der internen Spannungen aufgrund des Kraftinduzierten Brechens interner Bindungen in Gläsern oder der Entfaltung von Verschlaufungen in Polymernetzwerken.

- Im zweiten Fall (Gl 26.3b) würde ein interner Beobachter feststellen, dass das Fließen der angelegten Kraft mit einer zeitlichen Verzögerung folgt. Die charakteristischen **rheologischen Relaxations-** und die **Verzögerungszeiten** sind gleich.



[ScherdeformationMaxwell]

Figure 26.1

Definition der Scherdeformation und mechanischer Äquivalenz-Modelle der Viskoelastizität.

- a) Definition der Scherdeformation eines Körpers. Θ_0 ist die Scherdeformation (engl. shear deformation). Der Pfeil $\Theta_0 H(t)$ repräsentiert eine sprunghafte Deformation und der Pfeil $\sigma_{x,z} H(t)$ eine stufenartige Scherspannung (engl. shearing stress).

b) Maxwell Modell zur Interpretation der Relaxation interner Spannungen eines Materials nach einem Deformationssprung. c) Voigt-Kelvin Modell zur Repräsentation der Kriechexperimente, bei dem die durch einen Kraftsprung induzierten Deformation des Körpers als Funktion der Zeit beobachtet wird.

Es wird oft darüber diskutiert, welche der beiden Methoden besser ist. Für die Untersuchung biologischer Materialien (z.B. an Zellen) ist die Messung der Retardationsfunktion einfacher, wie wir bei der Diskussion der Mikrorheologie sehen werden¹. Andererseits ist für die Diskussion der das viskoelastische Verhalten bestimmenden molekularen Prozesse das Konzept des Relaxationsmodulus anschaulicher. Glücklicherweise sind aber die beiden Module durch das folgende Integral miteinander verknüpft (s. [Ferry]).

$$\int_0^t J(t-t')G(t')dt' = t \quad (26.3)$$

26.1.2 Grundlagen der Relaxationsexperimente

Es ist für das Verständnis der mechanischen Relaxation hilfreich (Maxwell folgend) sich das Beispiel der Scherdeformation des verschlauften Netzwerkes oder eines Glases mit einer Deborah-Zahl t_D etwas genauer anzusehen (s. Abb. 26.1a). Bei schnellen Deformationen ($\delta\Theta/\delta\tau \gg \Theta_0/\tau_D$) verhält sich das Material wie ein Festkörper und das Hook'sche Gesetz ($\sigma_{zx} = G(\Theta)$) gilt. Wird Θ jedoch so langsam geändert wird, dass das Glas fließen kann, so gilt das Newtonsche Reibungsgesetz $\sigma_{xz} = \eta d\Theta/dt$. Dabei ist η die Viskosität des Materials und hat die Dimension $[\eta] = 1 \text{ Pa s}$. Wir können beide Verhaltensweisen in eine allgemeine Gleichung zusammenfassen, wenn wir für die Deborahzahl $t_D = \zeta G(0)$ schreiben

$$t_D \frac{d\sigma_{zx}}{dt} + \sigma_{zx} = \eta \frac{d\Theta}{dt} \quad (26.6)$$

¹ Bei der Messung des Relaxationsmoduls muss man die Kraft messen, die notwendig ist, um die durch eine äußerer Störung induzierte Deformation zu kompensieren. Wir werden bei der Diskussion der Funktion der inneren Haarzellen des Hörsinns (in § 34) sehen, dass die beiden Methoden völlig verschiedene Ergebnisse liefern können.

Wir sehen, dass die Gleichung zwischen den beiden Verhaltensweisen interpoliert. Bei schnellen Deformationen ist das mittlere Glied vernachlässigbar und man erhält das Hookesche Gesetz während im Grenzfall unendlich langsamer Deformation ($t_D/dt \rightarrow 0$) das Newtonsche Gesetz gilt. (siehe auch [Landau-Lifshitz], Vol VII § 36).

Ein wichtiges Hilfsmittel für die Interpretation experimenteller Daten auf der Basis von molekularen Prozessen sind mechanische Modelle (die auch auf Maxwell zurückgehen). Dazu muss man die zwei Grenzfälle der sprunghaften Änderung der Deformation oder der Kraft separat betrachten.

- Im Fall der Relaxation der inneren Spannung $\sigma(t)$ nach einem Deformationssprung $d\theta/dt$ besagt Gl (26.6), dass die Scherung $d\theta$ zwei interne Kräfte induziert: eine zeitlich konstante Hookesche Spannung (σ_{zx}) und einen zeitlich variablen Beitrag ($d\sigma_{zx}/dt$) die in einer Zeit τ relaxiert. Erstere entspricht der Deformation einer Feder und letztere der eines Dämpfungsgliedes. Diese Situation kann durch ein einfaches mechanisches Modell (dem sog Maxwellmodell) aus einem Dämpfungsglied und einer Feder in Reihenschaltung repräsentiert werden (s. Abb. 26.1a). Wenn wir nun (in einem Gedankenexperiment) die Deformierung abschalten, relaxiert die innere Spannung gemäß: $\sigma = \sigma_0 \exp\{-t/t_D\}$ mit $t_D = \eta/G(0)$. Aus diesem Grund hat der Relaxationsmodul die Form

$$G(t) = G(0) \exp(-t/t_D) \quad (26.7a)$$

- Wir können Gl 26.6 auch auf das Kraftsprungexperiment anwenden, bei der die Deformation gemessen wird. Dies entspricht genau der durch Gl 26.1 beschriebenen Situation. Daher die Deformation die Form

$$\theta(t) = \frac{\sigma_0}{G(0)} (1 - \exp\{-t/\tau\}) \quad (26.7b)$$

hat. Man nennt das mechanische System der parallelen Anordnung aus einem elastischen und einem viskosen Element in der Technik oft **Voigt-Element**².

² Die mechanischen Modelle und deren Kombinationen sind sehr hilfreich, um Einblick in spezifische Relaxationsprozesse zu gewinnen. Sie sind Denkmodelle die unser Vorstellungsvermögen unterstützen, obwohl man in manchen Fällen den mechanischen Elementen auch molekulare Prozesse zuordnen kann. Diese Hilfsfunktion kommt auch dadurch zum Ausdruck, dass man jede Funktion $G(t)$ oder $J(t)$ durch sehr viele

In realen Systemen werden die Relaxationsprozesse durch eine sehr große Zahl von Einzelereignissen bestimmt, wie wir am Beispiel des Aktinnetzwerkes sehen werden. Die mechanischen **Antwortfunktionen** $G(t)$ und $J(t)$ auf stufenartige Erregungen bestehen daher aus Summen über viele Einzelelemente und haben (nach Gl 26.7) die allgemeine Formen.

$$G(t) = \sum_i g_{i0} \exp\{-t/\tau_i\} \quad 26.8a$$

$$J(t) = \sum_i j_{0i} (1 - \exp\{-t/\tau_i\}) \quad (26.8b)$$

26.1.3 Grundlegend der Impedanzspektroskopie

Der zweite Weg zur Messung der viskoelastischen Module basiert auf der periodischen Störung des Körpers, beispielsweise durch periodische Scherung mit konstanter Amplitude. Wir betrachten wieder den Fall der homogenen Scherung (Abb. 27.1a). Zur Vereinfachung der mathematischen Behandlung benutzen wir die komplexe Schreibweise, und schreiben die periodische Scherung in der Form $\Theta = \Theta_0 \exp\{i\omega t\}$. Wir setzen diesen Ansatz in die Grundgleichung 26.6 ein und erhalten nach einer einfachen Rechnung die Komplexe Spannung

$$\sigma^* = \frac{i\omega\Theta}{1 + i\omega\tau} \quad (26.9)$$

Spaltet man σ in Real und Imaginärteil auf so erhält man die **viskoelastische Impedanz**

$$G^*(\omega) = G'(\omega) + i G''(\omega) = \sum_i g_i \left\{ \left[\frac{\omega^2 \tau_i^2}{1 + \omega^2 \tau_i^2} \right] + \left[\frac{i \omega \tau_i}{1 + \omega^2 \tau_i^2} \right] \right\} \quad (26.10a)$$

Man bezeichnet die komplexe Antwortfunktion $G^*(\omega)$ als **Viskoelastische Impedanz**, den Realteil $G'(\omega)$ als **Speichermodul** (engl. storage modulus) und den Imaginärteil $G''(\omega)$ als **Verlustmodul** (engl. loss modulus). Die Gründe für diese Namen werden wir die wir gleich sehen.

verschiedene Anordnungen aus Federn und Dämpfungsglieder reproduzieren kann, ein Umstand auf den erstmals Poincaré hinwies [Ferry].

Wie anfangs erwähnt (Gl 26.3) erfolgt die viskoelastisch Antwort der Körper auf eine Störung nicht spontan, sondern mit einer gewissen Verzögerung. Daher sind Erregung und Antwort um einen Winkel φ phasenverschoben. Dies ist durch folgende einfache Beziehung gegeben.

$$\operatorname{tg} \varphi = \frac{G'(\omega)}{G''(\omega)} \quad (26.11)$$

Man bezeichnet $\operatorname{tg} \varphi$ daher auch als **Verlustwinkel**. Dieser variiert zwischen $\operatorname{tg} \varphi = 0$ ($\varphi = 0$) für Festkörper und $\operatorname{tg} \varphi = \infty$ ($\varphi = \pi/2$) für Flüssigkeiten und man benutzt ihn oft als Maß für den Flüssigkeitscharakter eines Materials .

In Gl (26.6) haben wir die Viskosität η als konstant betrachtet. Man kann jedoch auch eine frequenzabhängige Viskosität $\eta^*(\omega)$ einführen. Es besteht dann folgende wichtige Beziehung zwischen dem Realteil von η^* , der die Frequenzabhängigkeit der Viskosität wiedergibt, und dem Verlustmodul

$$\eta(\omega) = G''(\omega)/\omega \quad (26.12)$$

Wir geben dieses Ergebnis ohne Ableitung an, da wir es weiter unten benötigen. Der interessierte Leser kann es jedoch nachvollziehen, wenn er die Grundgleichung Gl(26.6) im Grenzfall sehr langsamer Prozesse betrachtet und sie für den Fall periodischer Anregungen $\theta = \Theta \exp \{i\omega t\}$ löst.

Die physikalische Bedeutung der beiden Module $G'(\omega)$ und $G''(\omega)$ der komplexen Impedanz wird klar, wenn wir den Energieumsatz pro Periode betrachten. Für kleine Deformationen sind der mit einer Deformation verknüpfte elastische Energieumsatz W_{ela} und die durch Reibung dissipierte Energien W_{disp} gegeben durch

$$\delta W_{\text{ela}} = \sigma \delta \Theta = G'(\omega) \Theta \delta \Theta \quad \text{und} \quad W_{\text{disp}} = \eta \delta \Theta \, dt \quad (26.13)$$

Wie man leicht durch Integration nachvollziehen kann, sind die während einer Periode $T=2\pi/\omega$ im Körper gespeicherte oder in diesem dissipierte mittlere Energien:

$$W_{\text{ela}} = \frac{1}{4} G' \Theta_0^2 \quad W_{\text{disp}} = \frac{1}{4} G'' \Theta_0^2 \quad 26.14$$

Daraus folgt: die Phasenverschiebung φ ist ein Maß für das Verhältnis der während einer Periode dissipierten zur gespeicherten Energie

$$\tan\varphi = G''/G' = W_{\text{disp}}/W_{\text{ela}} \quad (26.15)$$

Am Ende sind noch zwei Bemerkungen angebracht:

1. Wie schon erwähnt, erstrecken sich die Relaxationszeiten über viele Größenordnungen der Zeit, wobei die kürzesten Zeiten ($\sim 10^{-12}$ s.) durch die Rotationsfrequenzen der Moleküle bestimmt wird. In realen Experimenten erfasst man in der Regel ein Zeitfenster von etwa sechs Frequenzdekaden, und man muss mehrere Methoden anwenden, um den ganzen Zeitbereich zu überstreichen. Die Situation ist ähnlich wie bei dielektrischen Relaxationsprozessen die ja auch den Frequenzbereich von Radiowellen bis Lichtwellen umfasst. Glücklicherweise kann man in vielen Fällen aus einer Antwortfunktion spezifische Relaxationsprozesse herausfiltern (wie wir am Beispiel der [Abb 26.2](#) ?? sehen werden). Zahlreiche trickreiche Methoden zur Analyse und Interpretation der Impedanzspektren findet man in der Monographie von Ferry [Ferry].
2. Reale Systeme wie Gläser und Gele sind durch mehrere kontinuierliche Spektren von Relaxationszeiten bestimmt und man muss die Summen in Gl.26.8 streng genommen durch Integration über diese Relaxationsspektren ersetzen. In dem Buch von Ferry findet man auch Information darüber, wie man solche Spektren reproduzieren kann, wenn sie nicht über den ganzen Frequenzbereich gemessen werden können. n Radiowellen bis Lichtwellen umfasst. In biologischen Systemen sind Messungen meist nur über 3-4 Dekaden der Zeit oder Frequenz möglich. Unter günstigen Umständen (wie im Fall der *in vitro* Aktinnetzwerke) wird die viskoelastische Relaxation durch wenige Prozesse mit stark unterschiedlichen Relaxationszeiten bestimmt. Dann (und nur dann) lässt sich aus den viskoelastischen Messungen quantitative Information über spezifische molekulare Relaxationsprozesse gewinnen.

26.2 Konzepte und Methoden der Nano-Rheometrie.

Aufgrund der sehr großen Bedeutung der Rheometrie in der reinen und angewandten Materialforschung wurden seit Maxwell zahlreiche Methoden zur Messung viskoelastischer Impedanzspektren entwickelt. Zum Studium langsamer Prozesse benutzt man vorwiegend Torsionsrheometer [Ferry]. Die Untersuchung schneller molekularer Bewegungsprozesse erfordert einen größeren Aufwand. Dazu eignen sich besonders die Methode der dynamische Lichtstreuung [Doi Edwards] und der quasielastischen Neutronen-Beugung sowie akustische Methoden. Alle diese Methoden erfordern oft große Mengen des zu untersuchenden Materials. Außerdem müssen diese in eine einfache Form (z. B. die eines Stabes) gebracht werden, damit die Zusammenhänge zwischen Spannung und Deformation theoretisch berechnet werden können. Nur so kann man Absolutwerte der viskoelastischen Module bestimmen. Man nennt diese Beziehungen zwischen Deformation und Spannung oft auch **konstitutive Gleichungen** (constitutive equations).

Diese klassischen Methoden versagen wenn es darum geht, lokale mechanische Prozesse in Zellen oder Gewebe zu studieren oder Absolutwerte viskoelastischer Module zu messen. Solche Messungen eröffnen neue Möglichkeiten, um mutations- oder krankheitsbedingte Veränderungen der Zellen quantitativ zu charakterisieren. Dazu wurde die Mikrorheometrie mit kolloidalen Sonden (**Nanopartikel**) entwickelt. Man bettet die Sonden in die Materialien ein, oder koppelt sie spezifisch an einzelne Organellen der Netzwerke oder der Zellen (wie Membranen oder Mikrotubuli) an wie wir unten sehen werden. Messungen der viskoelastischen Impedanz können dann auf aktive oder passive Weise erfolgen. Wir beschreiben letztere Methode etwas genauer weil sie uns auf eine neues Prinzip diffusiver Prozess in **komplexen Materialien** vermittelt

- In der aktiven Nano- oder **Mikro-Rheometrie** mit magnetischen Pinzetten benutzt man super-paramagnetische Kolloide³. Man lenkt die Partikel im inhomogenen Magnetfeld impulsartig oder periodisch aus und registriert im ersten Fall die Kriechfunktion $J(t)$ und im zweiten die frequenzabhängigen Module $G'(\omega)$ und $G''(\omega)$ (s. z.B. [Ziemann]). Ein Vorteil der Impulsmethode liegt in der Möglichkeit, das Deformationsfeld als Funktion des Ortes zu messen, indem man gleichzeitig nicht-magnetische **kolloidale Sonden** in das System einbettet und deren induzierten Deformation $u(x,y,z)$ bestimmt. Diese Strategie hat folgenden großen Vorteil wenn es um die Untersuchung von komplex aufgebauten Objekten (wie Zellen) geht. Da die Form der Objekte (d.h. der Zelle) vorgegeben ist, ist

³ Dabei handelt es sich um polymere Mikrokapseln in die magnetische Mikrokristalle mit Dimensionen der Weiss'schen Bezirke eingebettet werden, und zwar so, daß sie frei rotieren können. Die Elementarmagneten richten sich sehr schnell im inhomogenen Feld aus und erzeugen so sehr große magnetische Momente.

es sehr viel schwieriger Absolutwerte der viskoelastischen Module aus den gemessenen Deformations-Kraft Diagrammen zu bestimmen. Eine Möglichkeit ist die Berechnung der Spannungs-Dehnungs-Beziehungen durch die numerische Methode der finiten Elemente. Die durch Punktkräfte induzierten Deformationsfelder lassen sich häufig auch analytisch berechnen und man kann dann durch Vergleich berechneter und gemessener Daten die Module bestimmen.

- Die passive Mikrorheometrie [Weitz ,Crocker] basiert auf der Messung der mittleren Verschiebungsquadrate der kolloidaler Sonden und der Anwendung der verallgemeinerten Einstein Beziehung zwischen dem **zeitabhängigen Reibungskoeffizienten** $\zeta(t)$ und dem ebenfalls von der Zeit abhängigen Diffusionskoeffizienten:

$$D(t) = k_B T / \zeta(t). \quad (26.16)$$

Die klassische Theorie der Brown'schen Bewegung geht davon aus, dass die Stöße zwischen den Moleküle auf allen Zeitskalen unabhängig voneinander sind. Es ist intuitiv einsichtig, dass die durch molekulare Stöße getriebenen diffusiven Sprünge der Moleküle in viskoelastischen Körpern nicht mehr bis zu atomaren Dimensionen unabhängig voneinander sind, sondern aufgrund des mechanischen Gedächtnisses von der Vorgeschichte abhängen. Man kann sich das wie folgt vorstellen: Erleidet eine Mess-Sonde nach einem ersten Stoss einen zweiten, ehe sie das thermodynamische Gleichgewicht erreicht hat, so sind die Prozesse nicht mehr unabhängig voneinander. Dadurch wird der Reibungskoeffizienten zeitabhängig. Das mittlere Verschiebungsquadrat ist dann gegeben durch

$$\langle |x(t) - x(0)|^2 \rangle = 2Dt = \{2 k_B T / \zeta(t)\} t \quad (26.17)$$

Dies ist ein sehr wichtiges Ergebnis, denn es bildet die Grundlage der in der Biologie oft beobachteten Abweichung diffusiver Bewegungen vom idealen Verhalten der Einstein Theorie.

Um die Beziehung zur Rheologie herzustellen benutzen wir Gl. (26. 12). Für sphärische Teilchen mit Radius a ist die zeitabhängige Viskosität $\eta(t) = \zeta(t) / 6\pi a$. Da im Frequenzraum

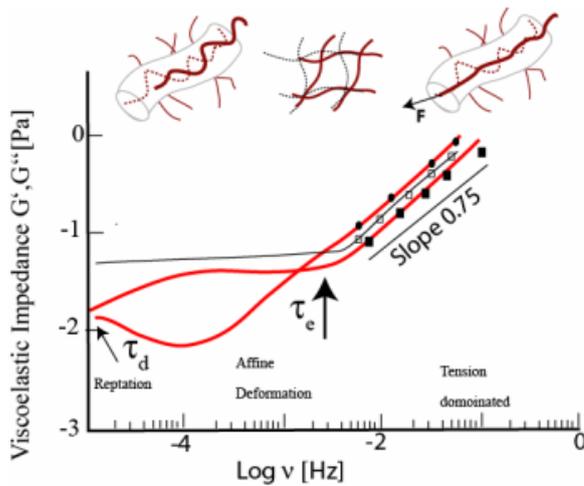
die Beziehung $\eta(\omega) = G''(\omega)/\omega$ gilt erhält man $G''(\omega)$ durch Fouriertransformation von $\eta(t)$ ⁴. Um den Realteil $G'(\omega)$ zu bestimmen muß man die Kramers-Kronig Relation anwenden. Dies erfordert allerdings Messungen über einen sehr großen Frequenzbereich.

Die kraftfreie Mikrorheometrie liefert nur lokale Werte der Impedanz $G^*(\omega)$. Diese stimmen nicht notwendigerweise mit den mit der konventionellen Torsions Rheometrie gemessenen Spektren überein, da die Sonden nur die Fluktuationen seiner nächsten Umgebung erfassen. Diese Probleme kann man elegant durch Messung der Korrelationsfunktion zwischen zwei kolloidalen Sonden umgehen [Crocker et al].

26.3 Viskoelastische Impedanz verschlaurter und schwach verknoteter Netzwerke des Aktins.

Wir betrachten dieses Beispiel aus mehreren Gründen etwas ausführlicher. Erstens zeigt es, daß quantitative rheologische Messungen detaillierte Information über mikroskopische und molekulare Prozesse liefern können, die für das Verständnis der biologischen Funktion der Biopolymere wichtig sind. Es ist außerdem eines der wenigen Beispiele, in denen es gelingt, phänomenologische viskoelastische Module mit der Dynamik einzelner Makromoleküle zu verknüpfen. Schließlich, bilden diese Experimente die Basis zur Untersuchung der dynamischen elastischen Eigenschaften komplexerer Gelzuständen, wie des Aktinkortexes in Zellen.

⁴ Der interessierte Leser findet eine rigorose Ableitung dieser Beziehung in H. Scher and M. Lax (Stochastic Transport in disordered Solids Phys Rev B 7, 4490 (1973) und eine etwas einfachere Begründung in der Arbeit von Caspi et al [caspi])



[RelaxModulAktinNetwork]

Figure 26.2

Frequenzspektrum des Relaxationsmoduls $G(t)$ eines verhedderten und schwach verknoteten ($\Delta_{cc} \gg \lambda_e$) Netzwerks aus F-Aktin mit Zuordnung der dominanten molekularen Bewegungsprozesse zu den drei Bereichen des Spektrums. Maschenweite $\xi \approx 1 \mu\text{m}$; $L_c \sim 20 \mu\text{m}$. Man beachte: Das Minimum des Verlustmoduls und der Abfall von G_0' bei $\omega < \omega_t$ verschwinden schnell wenn die Filamente durch Vernetzer sukzessive verknotet werden auch wenn sich der Plateaumodul G_0' kaum ändert.

Die oberer Reihe zeigt eine Darstellung der molekularen Prozesse in den drei Bereichen der Kriechfunktion: Reptation, affine Deformation des Netzwerks durch Biegedeformation der Reptationsröhren und der durch die entropische Spannung der Einzelfilamente bestimmte Hochfrequenz-Bereich (s. Text). Man beachte, dass der Bereich des Fließens nach Vernetzung mit α -Actinin verschwindet. (Quelle: Unveröffentlichte Daten eines Autors, E.S.)

Abb 26.2 zeigt das Frequenzspektrum der viskoelastischen Impedanz eines verhedderten Netzwerkes des Aktins über 6 Dekaden der Frequenz. Man beobachtet drei Bereiche. Bei hohen Frequenzen steigen $G'(\omega)$ und $G''(\omega)$ mit zunehmender Frequenz nach dem Potenzgesetz $\omega^{3/4}$ an. Bei $\omega \leq \omega_e$ ($t > \tau_e$) geht der Speichermodul $G'(\omega)$ in ein Plateau über, während $G''(\omega)$ ein Minimum besitzt. Unterhalb einer zweiten Grenzfrequenz ω_t geht G' gegen null, während G'' (und damit die zeitabhängige Viskosität η des Netzwerkes) einem Maximum zustrebt. Hier beginnt das verhedderte Netzwerk wie eine Flüssigkeit zu fließen

und man nennt ihn terminalen Bereich. Er verschwindet nach leichter Vernetzung mit α -Aktinin.

Eine detailliert ausgearbeiteter umfassende Theorien der viskoelastischen Impedanz verschlaufter und leicht vernetzter Netzwerke semiflexibler Filamente auf der Basis des **Röhrenmodells** (Referenzen siehe [Morse 1998]) und der Vergleich mit den Untersuchungen der molekularen Dynamik der Einzelfilamente (s. **Abb 25.1?**) erlaubt uns, jedem der Bereiche einen definierten molekularen Prozess zuzuordnen, die wir im folgenden zusammenfassen. Die gesamte im Netzwerk gespeicherte Energie (nach einer Deformation) wird wesentlich durch drei Faktoren bestimmt: erstens, die entropische Spannung aufgrund der Streckung der Filamente, zweitens, die affine Deformation des Netzwerks (d.h. insbesondere der Deformation der Repationsröhren) und drittens, ein entropische Beitrag aufgrund der Einschränkung der Rotationsfreiheit der freien Kettenenden. Der erste Beitrag zum komplexen Modul ist zwei Größenordnungen größer als der zweite und der dritte ist meist vernachlässigbar [Morse I].

- Betrachten wir zuerst das Gebiet hoher Frequenz $\omega > \omega_e$. In diesem relaxieren die durch die Deformation gestreckten Filamente mit den in § 25 (Gl. (25.8)) berechneten Relaxationszeiten $\tau_q \propto q^{-4}$. Nach Gl 25.2 tragen die kurzwelligen Anregungen der Biegefluktuation außerdem viel stärker zur entropischen Spannung bei als die langwelligen. Man erwartet daher, dass der Speichermodul mit abnehmender Frequenz. Von D. Morse wurde folgendes Gesetz abgeleitet [Morse I].

$$G(\omega < \omega_e) \cong \frac{\rho k_B T}{L_p} \left(\frac{\zeta_s L_p^3 \omega}{k_B T} \right)^{3/4} \quad (26.18)$$

dabei ist ζ_s der Reibungskoeffizient und ρ die Dichte der Makromoleküle, angegeben als gesamte Konturlänge pro m^3 ⁵

Wie Abb. 26.2 zeigt ist die Übereinstimmung zwischen der Theorie und dem Experiment sehr gut. Aus Gl 26.18) folgt auch, dass der Relaxationsmodulus $G(t)$ mit der Zeit nach dem Potenzgesetz $t^{-3/4}$ abnimmt.

- Der Plateaubereich beginnt bei der Frequenz $\omega_e = 2\pi\tau_e^{-1}$, wobei τ_e die Relaxationszeit der langwelligste Anregung mit der durch die Verhedderungslänge bestimmten

⁵ Man kann ρ auch als Funktion der Monomerenkonzentration c_A [M/ltr] ausdrücken: $\rho = c_A N_A a / 1000$ (mit $a = 2,8$ nm).

Wellenlänge Λ_e ist. Die Filamente stehen nun nur noch aufgrund der Biegedeformation der Röhren unter Spannung. Daher ist der Speichermodul durch die Scherdeformation des Netzwerkes bestimmt. Dieses verhält sich elastisch wie Gummi. Man nennt daher G_0' den **Plateau-Modul**. Er entspricht dem Schermodul eines semiflexiblen Gummnetzwerkes. Die detaillierte Rechnung von D. Morse liefert

$$G_0' = \frac{0,4 k_B T}{L_p^{1/5} \xi^{14/5}} = 0.4 \frac{k_B T}{\xi^3} \left(\frac{\xi}{L_p} \right)^{1/5} \quad (26.19)$$

Das quasi-elastische Verhalten kommt auch dadurch zum Ausdruck, dass die Dissipation $G''(\omega)$ minimal wird. Dies ist ein wichtiges Ergebnis, das experimentell verifiziert wurde [Hinner]. Es erlaubt uns die Maschenweite der Aktinnetzwerke aus Messungen des Plateaumoduls zu bestimmen. Wir werden später sehen, wie man Gl (26.19) anwende kann, um die Maschenweite der Aktinnetzwerke in Zellen abzuschätzen.

- Kommen wir nun zum Bereich des Fließens. Um die Spannung aufgrund der Deformation des Netzwerkes abzubauen, müssen sich alle Filamente aus ihren Röhren durch **Reptation** befreien. Die Relaxationszeit τ_t ist durch die Zeit bestimmt, die ein Filament der Konturlänge L_c braucht, um sich aus der **Reptationsröhre** (durch Selbstdiffusion) zu entweichen. Bei $t > \tau_t$ verhält sich das Netzwerk verhält sich wie eine Flüssigkeit. Kennt man die mittlere Konturlänge L_c der Filamente, so erhält man aus der Grenzfrequenz (auch terminale Frequenz genannt) ν_t direkt den Koeffizienten der Reptationsdiffusion (D_{rept}) gemäß

$$\tau_t = D_{rept} / 2L_c^2 \quad (26.20)$$

Man beachte, dass D_{rept} mit dem in Abb 26.1 gemessenen Selbstdiffusionskoeffizienten der Filament entlang der Röhre identisch ist.

Man kann die Ergebnisse der rheologischen Messungen mit denen der Experimente an Einzelfilamenten vergleichen (s. Abb. 25.1, §25) und hilfreiche Beziehungen zwischen phänomenologischen Eigenschaften und molekularen Bewegungsprozessen herstellen. Dies zeigen zwei Beispiele:

- Das Potenzgesetz der Gl 26.18 stimmt mit dem aus Abb 25.1 gewonnenen Ergebnis der sub-diffusiven Bewegung der Filamente in der Reptationsröhre ($\langle \Delta \eta^2 \rangle \propto t^{-3/4}$) überein. Damit verstehen wir auch die in Abb. 25.1 beobachtete Abweichung vom Einstein-

Gesetz der Brownschen Bewegung. Die von einem diffundierenden Filament erzeugte thermische Kraft deformiert seine Reptationsröhre, Da das Netzwerk aber viskoelastisch ist, bremst es das Filament aus. Wir sehen an diesem Beispiel, dass die Gesetze der Diffusion in komplexen Materialien völlig anders sind, als wir es von normalen Flüssigkeiten gewohnt sind.

- Wie oben erwähnt (s. Gl 26.20), müssen die aus der terminalen Frequenz ν_t und der Abb. 25.1 bestimmten Diffusionskoeffizienten übereinstimmen. Der aus Abb 25.1 erhaltene Wert $D_p = 10^{-16} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ und der Wert $D_{rept} = \frac{1}{2} \nu_t L_c^2$ von $5 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ stimmen in der Tat gut überein, denn in beiden Fällen war das Filament etwa $10 \mu\text{m}$ lang.

26.4 Synopsis

Die in diesem Paragraphen beschriebenen theoretischen Grundlagen und praktische Analyse rheologischer Experimente zeigen, dass die Viskoelastizität ein schwieriges Gebiet ist, das auf den nicht mit dem Gebiet vertrauten Leser frustrierend wirken kann. Auf der anderen Seite gibt es kaum eine andere Methode, mit der man so detaillierte Einsichten in Beziehungen zwischen molekularen Bewegungsprozessen und phänomenologischen Eigenschaften komplexer weicher Materialien gewinnen kann. Deren Kenntnis ist aber notwendig, um Einblick in die Kontrolle zellulärer Bewegungsprozesse durch die Struktur des Zytoskeletts zu gewinnen. Erst die kombinierte Anwendung makroskopischer und mikroskopischer Methoden macht dies möglich.

Letzte Version (Shoh): 02.03.2009

Endversion 29 2 09

27 Physik und Funktion der Gele: Zustände zwischen Festkörper und Flüssigkeit

27.1 Einleitung

Unter Gelen versteht man dicht Maschenwerke aus chemisch oder physikalisch vernetzten Makromolekülen die mechanische Eigenschaften von Festkörpern haben, obwohl der Grossteil des Volumens aus Lösungsmittel besteht [Tanaka]. Sie bilden einen besonderen Zustand der Materie zwischen Festkörper und Flüssigkeit und unterscheiden sich in zweifacher Weise von den bisher betrachteten verhedderten Netzwerken:

Erstens, verhalten sie sich in der Regel auch bei kleinen Deformationsgeschwindigkeiten elastisch, Bei biologischen Gelen (wie im Zytoskelett) kann sehr langsames Kriechen durch kraftinduzierte Entkopplung der Verbindungen zwischen Vernetzern und Aktin auftreten. Dies gilt insbesondere dann, wenn man sich in der Nähe des chemischen Gleichgewichts der Komplexbildung zwischen Aktin-Vernetzern befindet, (wie wir noch sehen werden).

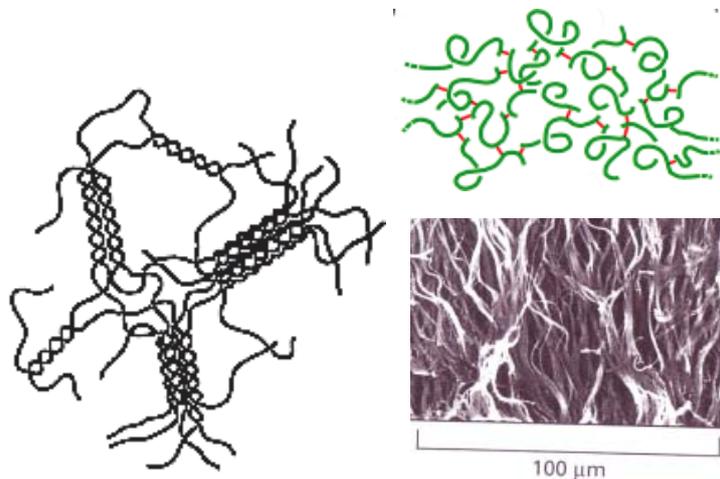
Zweitens ist die Aufnahme von Lösungsmitteln beschränkt, da sich das Netzwerk nur soweit ausdehnen kann bis der osmotische Druck gleich der elastischen Energiedichte (aufgrund der Dehnung des Netzwerkes) wird.

Gele spielen in unserem täglichen Leben eine wichtige Rolle, angefangen von technischen Produkten (wie Agarose für die Chromatographie oder Gummi) über Nahrungsmittel (z.B. Götterspeise) bis zu Kosmetika (Haarspray). Sie bestimmen jedoch auch die mechanische Stabilität von Bindegewebe der Haut oder der großen Adern (s. Abb 27.1).

Wir werden uns zunächst einige Beispiele von Gelen ansehen, um die zentralen Kontrollparameter einzuführen und dann den besonders wichtigen Prozess der Gelbildung durch Perkolation am Beispiel des Systems Aktin/ α -Actinin diskutieren. Im zweiten Teil stellen wir die durch die Vielfalt der Vernetzermoleküle vermittelten Gelzustände des Aktins vor, wobei wir hier und im nächsten Paragraphen die Frage angehen, ob universelle Prinzipien der Physik der Gele für die Selbstorganisation und biologische Funktion des Zytoskeletts eine

Rolle spielen. In diesem Zusammenhang diskutieren wir die Möglichkeit, mechanische Zellmodelle durch Rekonstitution des Zytoskeletts in mikroskopischen Räumen (wie Riesenvesikel) aufzubauen.

Aus Platzgründen verzichten wir auf die Diskussion der außerordentlich interessanten Eigenschaften polyelektrolytischer Gele. Dem Leser der sich genauer mit den thermodynamischen und mechanischen Eigenschaften dieser Klasse von Materialien befassen möchte (oder muß), empfehlen wir vor allem das Buch von T. Hill [Hill], in dem man eine sehr klare und solide Darstellung dieses Themas findet. Hier wird auch eine interessante Anwendung solcher Gele zum Bau isotherm arbeitender Maschinen von Aharon Katchalsky diskutiert, die auf der Hysterisis von durch pH-Änderunegn induzierten Sol-Gel-Übergängen beruht.



[Biogele]

Figure 27.1

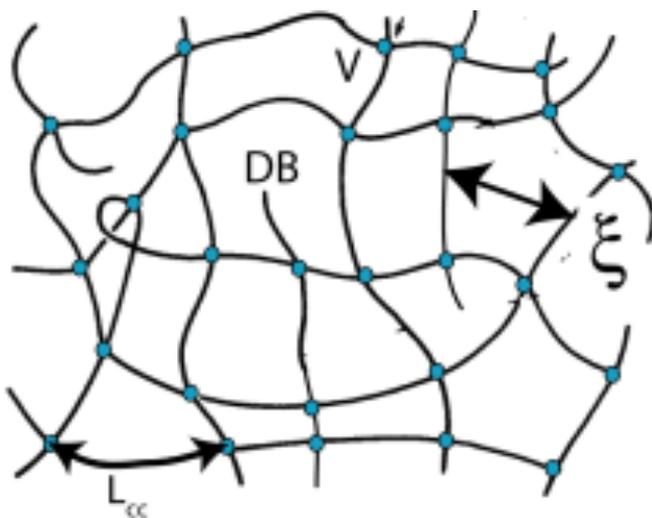
Beispiele von Biogelen

(a) Gelierung durch lokale Selbstassoziation vorgeformter Makromoleküle. Beispiel Agarose-Gele für die Gelchromatographie, die durch Assoziation α -helikaler Segmente des Polyzuckers vernetzt wird werden.

b) Schematische Darstellung und EM-Aufnahme (mittels Rastermikroskopie) des Gels aus Elastin, das ein wesentliches elastisches Element der Haut darstellt.

27.2 Die Elastizität homogener Gele gleicht der Gummielastizität idealer Netzwerke

Die **Elastizität homogener Gele** (und Gummi) wird durch mehrere (in Abbildung 26.3 gezeigte) Größen bestimmt: (i) die mittlere Maschenweite ξ , (ii) die gesamte Zahl der Verbindungen M_c (der Konturlänge L_c) zwischen zwei Knoten, die jeweils aus N_c Monomeren bestehen; (iii) die Dichte ν_c (Zahl /m³) der Verbindungen zwischen den Knoten (mit $\nu_c = M_c/V$) und (iv) die Konzentration freier Enden (engl. dangling bonds). M_c spielt also dieselbe Rolle wie die Zahl der Polymere in einer Polymerlösung. In idealen Netzwerken (aus Gaussketten) ist die Wechselwirkung zwischen den Segmenten und Knoten vernachlässigbar und Deformation ist alleine mit einer Abnahme der Entropie der Einzelketten verknüpft. Die Gele verhalten sich elastisch wie Festkörper



[GelTopologie]

Figure 27.2

Charakterisierung der Topologie eines Gels. Die Segmente zwischen den Knoten können aus Gaussche Ketten, wie im Fall des Gummis, oder aus semiflexiblen Aktinfilamenten bestehen. Die Struktur des homogenen Netzwerkes wird durch die Maschenweite ξ und die Konturlänge L_c des Segments zwischen den Knotenpunkten bestimmt. Der Zusammenhang zwischen L_c und ξ hängt von der Art des Makromoleküls ab. Dieses kann daher durch die Kuhnlänge λ_K oder die Persistenzlänge L_p bestimmt sein.

Für kleine Deformationen kann die freie elastische Energie elastischer ideale Netzwerke berechnet werden. Wir geben hier nur das Ergebnis an. Der interessierte Leser findet eine sehr ausführliche Ableitung in der Monographie von T. Hill [Hill]. Die Theorie liefert die folgende, erstaunlich einfache Beziehung für den Schermodul G_0' ($[G_0'] = 1 \text{ J/m}^3$)

$$G_0' = gM_c \cdot k_B T = g \frac{c}{N_c} \cdot k_B T = g \frac{k_B T}{\xi^3} \quad (27.1)$$

Dabei ist c die Monomerendichte (Monomere /m²) und g ein von der Topologie des Netzwerks abhängiger geometrischer Faktor der Größenordnung 1. Die erste Beziehung besagt einfach, dass sich ein Quader aus Gummi (mit dem Volumen V) wie eine Anordnung von M_c Filamenten mit der Federkonstante einer idealen Gauss'schen Kette ($k \sim k_B T/a^2$) verhält. Die dritte Beziehung auf der rechten Seite besagt, dass G_0 im Wesentlichen die gesamte elastische Energiedichte einer Einheitszelle des Netzwerkes mit dem Volumen ξ^3 ist. Dieses Gesetz ist für viele Gumminetzwerke erstaunlich gut erfüllt, auch wenn die Zahl von Monomeren zwischen den Netzpunkten in der Praxis oft nur $N_c \sim 50 \dots 100$ beträgt; wie bei Gummi.

Betrachten wir als Beispiel die Schersteifigkeit des zweidimensionalen Spektrin-Aktin-Zytoskeletts der Erythrozyten. Nach §9, Abb 9.2) besteht das Netzwerk aus $M_c \approx 5 \cdot 10^5$ Verbindungen aus Spektrin-Tetrameren. Die Hülle der Zelle hat eine mittlere Fläche von $A = 141 \mu\text{m}^2$. Daraus folgt ein (2D) Schermodul von $\mu \sim 1.4 \cdot 10^{-5} \text{ Nm}^{-1}$. Der Wert ist nur um einen Faktor 2 größer als der gemessene Wert ($\mu = 6 \cdot 10^{-6} \text{ N/m}$).

27.3 Die Gummi-Elastizität verknotteter semiflexibler Netzwerke

Das viskoelastische Verhalten verknotteten Netzwerke des Aktins ist durch die in §24 eingeführten Längen: L_p (oder B), ξ und Λ_e bestimmt. Als neuer Kontrollparameter kommt der mittlere Abstand Δ_{cc} zwischen den Vernetzern ins Spiel, der der Zahl der Verbindungen M_c entspricht. Diesen erhält man aus der oben eingeführten Dichte, ν_c , der Knoten: $\Delta_{cc} \approx \nu_c^{-1/3}$. Wie oben erwähnt kann diese unter physiologischen Bedingungen ($T=37^\circ\text{C}$) wesentlich von der gesamten Dichte vorhandener Vernetzer abweichen, da deren Aktivität, wie in §18 gezeigt wurde, biochemisch kontrolliert wird. Wir haben es in der Biologie mit lebenden Netzwerken zu tun.

Wir betrachten nun den Zusammenhang zwischen dem (durch die Messung der [Abb 26.2](#) definierten) Plateau-Modul und den obigen Parametern. Dieser ist sehr wichtig, um Zusammenhänge zwischen der Struktur und Topologie des Zytoskeletts und der elastischen Eigenschaften der Zelle zu verstehen. Da eine umfangreiche Darstellung der oft noch kontrovers diskutierten theoretischen Grundlagen den Rahmen des Buches sprengen würde, begnügen wir uns mit der Darstellung der wesentlichen Ergebnisse, die auch experimentell bestätigt wurden. Wir haben für homogene Netzwerke drei Fälle des Zusammenhangs zwischen Plateaumodul und Maschenweite zu unterscheiden.

1. Das verschlaufte oder schwach verknottete Netzwerk ($\epsilon = \Delta_{cc}/\xi \gg 1$). Der Plateau Modul wird durch die affine Deformation (z.B eine reine Scherung) des gesamten Netzwerkes bestimmt. Für die Abhängigkeit des Plateaumoduls von der Maschenweite wurde das empirische Gesetz $G_0 \sim \xi^{14/5}$ gefunden. . Es wurde auf der Basis der Skalentheorie bestätigt [Hinner] und der Vorfaktor wurde mit dem Röhrenmodell auch berechnet [D. Morse2003].

$$G_0' = \frac{0,4 k_B T}{L_p^{1/5} \xi^{14/5}} = 0.4 \frac{k_B T}{\xi^3} \left(\frac{\xi}{L_p} \right)^{1/5} \quad (27.2)$$

Dieses Gesetz gilt auch noch für schwach vernetzte Systeme, falls der Abstand der Vernetzer Δ_{cc} grösser ist als die [Verhedderungslänge](#) Λ_e , da dann diese Größe den Elastizitätsmodul bestimmt. Wir sehen dass G_0' nur wenig vom Verhalten $G_0' \propto \xi^{-3}$ idealer Netzwerke abweicht und somit wesentlich durch die Entropie bestimmt wird.

2. Die Situation ändert sich dramatisch wenn Δ_{cc} erheblich kleiner als die Maschenweite oder Λ_e wird. Die Deformierbarkeit ist durch die Streckung der dynamisch rauen Segmente zwischen den Verknottungen bestimmt. Der Schermodul ist gleich der im vorigen Paragraphen (Gl 25.4a) abgeleitete Kraftkonstanten (der Dimension N) für semiflexible Filamente, multipliziert mit der Flächendichte der Ketten. Letztere ist gleich dem Quadrat der reziproken Maschenweite (ξ^{-2}) [MacKintosh]. Da bei affinen Deformationen keine Biegungen auftreten, muss die in §25.4 abgeleitete Kraftkonstante) der Streckung semiflexibler Filamente eingesetzt werden. Damit folgt, in Analogie zur Ableitung der Gl 27.1, für den Plateau-Modul:

$$G_0' = \frac{B^2}{k_B T} \frac{1}{\xi^2 \Lambda_e^3} \sim \frac{k_B T}{\xi^3} \left(\frac{L_p}{\xi} \right)^{7/5} \quad (27.3)$$

Der Schermodul ist also gegenüber dem Fall idealer Gummi-Netzwerke um den Faktor $(L_p/\xi)^{7/5}$ vergrößert. Diese Versteifung ist einfach eine Folge der größeren Steifigkeit der semiflexiblen Makromoleküle.

27.4 Kontrolle der Filamentsteifigkeit durch Bündelbildung :

Bei hohen Vernetzerdichten $\Delta_{cc} \ll \xi$ wird die Situation sehr kompliziert, da die Netzwerke in der Regel heterogen werden. Wie bei der starken Vernetzung flexibler Polymere erwartet man in der Regel Phasentrennung in Bereiche aus dem dicht gepacktem Netzwerk (der **Gel-Phase**) und einer Lösung freier Filamente (**der Sol-Phase**). Ein biologisches Beispiel eines solchen Zustandes ist der in §23 beschriebene Augapfel. Da die dicht gepackten Domänen oft über Vernetzer oder dünne Bündel von Filamenten verbunden sind entsteht ein über makroskopische Dimensionen verknottetes Gebilde. Solche schaumartigen Zustände nennt man häufig **Heterogele**. Dieser Fall wird etwas ausführlicher im nächsten Paragraphen diskutiert.

Das Verhalten hängt in sehr komplexer Weise von der spezifischen Struktur der Vernetzer, dem chemischen Gleichgewicht der Aktin-Vernetzer-Bindung sowie der Aktinkonzentration (und damit dem freien Volumen) ab. Manche Vernetzer, wie das verzweigte Filamin oder die kurzen Stäbchen Fimbrin oder Fascin bilden heterogene Gele aus schwach vernetztem (oder verhedderten) F-Aktin und Aktin-Bündeln [Tharmann]. Diese Zustände besitzen gewisse Ähnlichkeiten mit den Spannungsfasern in Zellen (s. § 28). Man beobachtet zwei Gruppen solcher Bündelbildner. Messungen der Biegesteifigkeit mittels Fourieranalyse der Biegefluktuationen zeigen, dass die Bündel je nach der Art des Vernetzers linear oder quadratisch von der Zahl n der Filamente abhängen können. Zur ersten Klasse zählt Fimbrin, das bevorzugt an der Bildung von Microvilli beteiligt ist. Zur zweiten zählen Fascin (der Filopodien bildende Vernetzer) und Filamin (der Spannungsfasern bildende Vernetzer). Das Verhalten hängt von der Kopplungsstärke zwischen den Filamenten ab. Sind diese frei tangential verschiebbar so wird $B_n = n B$, da die Filamente während der Biegung gegeneinander gleiten können. Im Fall der starken Kopplung verhalten sich die Filamente wie starre Stäbe und daher wird $B_n = n^2 B$.

Der wichtigste Schluss, den wir aus den bisherigen Experimenten an Modellen des Zytoskeletts ziehen können ist, dass den Zellen eine Vielfalt von Möglichkeiten zur Verfügung steht, ihre mechanischen Eigenschaften an die biologischen Bedingungen anzupassen. Die bisherigen *in vitro* Experimente wurden in makroskopischen Volumina

durchgeführt. In den abgeschlossenen mikroskopischen Räumen der Zellen, die mit Organellen voll gepackt sind, können die Prozesse der Vernetzung ganz anders ablaufen.

27.5 Gelbildung als Perkulationsprozess.

Gele entstehen auf verschiedene Weise. Erstens, durch Co-Polymerisation von Monomeren mit zwei (oder mehr) funktionellen Gruppen. Beispiele sind Gummi und Polyacrylamid. Zweitens durch Aggregation von Clustern aus sehr grossen Makromolekülen oder Nanopartikel, die in biologischer Materie eine zentrale Rolle spielt. Die Aggregation kann entweder durch kovalente Bindungen oder durch schwache Wechselwirkung, wie dem hydrophoben Effekt oder durch elektrostatischen Kräften, vermittelt werden. Ein Beispiel für die Verknüpfung durch den hydrophoben Effekt ist das Polysaccharid Agarose, das durch Assoziation von helikalen Segmenten geliert (s. Abb 27.1a). Ein wichtiges Beispiel eines durch kovalente Bindung entstehenden Biogels ist das Elastin-Netzwerk des **Bindgewebes**. Es besteht durch Vernetzung von Tropoelastin, ein lösliches Polypeptid aus rund 800 Aminosäure. Dieses wird in der Zelle synthetisiert und ist reich an hydrophobem Glycin und Alanin und dem chemisch aktiven Lysin. Letzteres sorgt für die kovalente Vernetzung des Tropoelastins. Die molekulare Organisation des oft faserigen Elastins ist noch unklar, denn für die Stabilität des Gels spielen auch Mikrofibrillen aus Glykoproteinen eine wichtige Rolle. Ein anderes wichtiges Beispiel, eines Biogels, die Basalmembran aus **Kollagen IV**, haben wir schon in §23 kennen gelernt.

Der Prozess der **Gelbildung** ist noch wenig verstanden, da es nur wenige Systeme gibt an denen der Prozeß direkt beobachtet werden kann:

Technisch wichtige Beispiele sind die Vulkanisierung von Gummi, oder die Bildung von Polyacrylamidgelen für die Gel-Elektrophorese. Gummi entsteht durch Verknüpfung der Makromoleküle des Kautschuks durch Schwefelbrücken (Vulkanisierung). **Polyacrylamid** dagegen wird durch eine Kettenreaktion hergestellt, bei der die Monomere zu verzweigten Netzwerken polymerisieren. Man kann sich die Gele als riesige Makromoleküle vorstellen, in denen die monomeren Bausteine durch ein, den ganzen Körper durchdringendes Netzwerk von Bindungen verknüpft sind. Die Bildung solcher Netzwerke wird häufig durch den Prozess der **Perkolation** beschrieben [de Gennes],[Stauffer]. der auf zwei Weisen erfolgen kann:

1. Erstens, durch Wachstum baumartig verzweigter Maschenwerke (die den Physikern als Bethe Gitter bekannt sind), die während der Polymerisation in Lösung erfolgt (siehe [de Gennes] Ch 5).
2. Zweitens, durch chemische Verbindung der natürlichen Verhedderungspunkten eines schon bestehenden verschlauften Netzwerkes.

Ein wichtiges biologisches Beispiel für den ersten Prozess ist die Bildung der Aktin-Netzwerke in Pseudopodien durch Arp2/3 Proteine (§ 18). Beispiele für den zweiten Prozess sind die Bildung der Basalmembran durch Verknotung der Enden der Kollagen IV Moleküle (s. §23) oder die Vernetzung von Aktinfilamenten durch **α -Actinin** das wir unten besprechen werden. In diesen Fällen bestehen die Monomer aus den Makromolekülen.

In beiden Perkulationsprozessen bilden sich in statistisch verteilten Zentren spontan Cluster aus vernetzten Filamenten. Diese wachsen mit der Zeit, bis sie sich berühren und verschmelzen, so daß das oben erwähnte makroskopische Molekül entsteht.

Die charakteristischen Größen dieses Prozesses sind: (i) der Bruchteil p der geknüpften Bindungen (mit $0 \leq p \leq 1$); (ii) der Bruchteil $S(p)$ der freien (oder sehr kleine Aggregate bildenden) Monomere (die **Solfraktion**); und (iii) die **Gelfraktion** $G(p)=1-S(p)$. Hinzu kommt die Funktionalität der Vernetzung (z), d.h. die maximale Zahl von Verbindungen, die ein Vernetzermolekül vermitteln kann, und die für die Struktur der entstehenden Gele wichtig ist.

Es gibt zwei Theorien der Perkulation, die zu unterschiedlichen Potenzgesetzen für die Gelfraktion $S(p)$ oder für die Zunahme der elastischen Konstanten (z.B. der Scherung) $E(p)$ mit dem Vernetzungsgrad p führen: die mittlere Feldtheorie und die Perkulationstheorie, welche lokale Fluktuationen in Betracht zieht (s. [de Gennes]). Die Perkulationsmodelle wurden in mehreren Lehrbüchern ausführlich beschrieben (s. de Gennes 1979, Stauffer Ch.V;). Wir wollen uns hier nur drei für uns wichtige Vorhersagen genauer ansehen:

1. Die mittlere Größe der vernetzten Domänen wächst mit dem Bruchteil der Bindungen und erstreckt sich bei Erreichen eines kritischen Wertes p_c über den ganzen Raum. Diese sog. **Perkulationsschwelle** hängt von der Funktionalität z der Verbindungen gemäß $p_c=1/(1-z)$ ab. Auch bei Erreichen der Schwelle p_c bleibt noch ein erheblicher Teil der Monomere frei oder ist nur in kleinen Domänen gebunden.
2. Die **Solfraktion** $S(p)$ nimmt kontinuierlich mit p ab und die Gelfraktion wächst entsprechend bei Annäherung an die Schwelle $p \rightarrow p_c$ gemäß

$$G(p) = 1 - S(p) \approx z \cdot (p - p_c)^\beta \quad (24.5)$$

Nach der klassischen Theorie der Perkolation ist $\beta=0.39$ [de Gennes]

3. Die für uns wichtigsten Gesetze betreffen den Elastizitätsmodul $E(p)$ und die Viskosität $\eta(p)$. Der Young Modul E nimmt bei Werten $p > p_c$ abrupt nach dem Potenzgesetz

$$E = (p - p_c)^t \quad (27.6)$$

zu, wobei nach dem klassischen Gesetz $t \approx 1.8$ und nach dem strengen Perkolationstheorie $t=3.8$ vorhergesagt wird. Für die Viskosität gilt das Potenzgesetz

$$\eta = (p_c - p)^{-s} \quad (247)$$

mit $s=0.75$.

Es sind noch zwei praktisch wichtige Ergebnisse zu beachten. Der Elastizitätsmodul nimmt wegen dem kleinen Exponenten viel langsamer mit $(p-p_c)$ zu als $G(p)$. Der Grund sind die freien Enden der Ketten. Diese tragen zwar zum Gelationsgrad $G(p)$, nicht aber zur Elastizität bei. Das zweite wichtige Ergebnis ist das unterschiedliche Verhalten der beiden mechanischen Größen E und η . Während der Elastizitätsmodul erst bei $p > p_c$ scharf anzusteigen beginnt, hat die Viskosität bei $p < p_c$ ein Maximum und fällt oberhalb der Schwelle wieder ab.

Dies liegt an dem Wachstum der perkolierten Cluster bei Annäherung an die Schwelle p_c und der Reduktion der Sol-Fraktion. Nach der Einstein Theorie der **Diffusion in Suspensionen** nimmt die Zähigkeit mit dem Volumenbruch φ_p der Partikel (dem von den Teilchen eingenommenen Volumen zum Gesamtvolumen) wie folgt zu [Landau Lifshitz VI]:

$$\eta = \eta_0 \left(1 + \frac{5}{2} \varphi \right). \quad (27.8)$$

Wenn die Cluster zu verschmelzen beginnen und das Gel Festkörpereigenschaften (d.h. bei Annäherung an den Perkolationpunkt annimmt, wird die Viskosität wieder kleiner.

27.6 Perkulationsübergang des AktinNetzwerks :

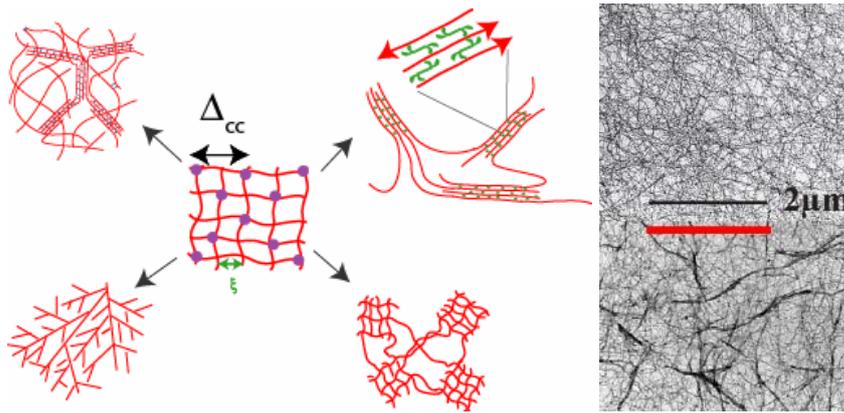
In § 18 hatten wir die Vielfalt der Vernetzer des Aktinnetzwerke kennengelernt und festgestellt: jeder Vernetzer induziert bevorzugt (aber nicht ausschließlich) einen dieser Zustände. Dies ermöglicht den Zellen eine Vielzahl von Gelzuständen einzustellen, um die vielfältigen Aufgaben des Aktinkortexes zu erfüllen. Die Aktivität der Aktinbindungsproteine kann über verschiedene Pfade der intrazellulären Signalkaskade kontrolliert werden, wie wir

in § XXX am Beispiel des Myosin II sehen werden. Daher können mehrere Vernetzer sequentiell oder parallel aktiviert oder inhibiert werden. Auf diese Weise kann die Situation in Zellen sehr komplex werden. Dies ist einer der Gründe weshalb systematische Untersuchungen der Struktur und Rheologie von *in vitro* Modellen der Aktinengele notwendig sind, wenn wir die Kontrolle der zellulären Prozesse durch das Zytoskelett verstehen wollen.

Eine der faszinierendsten und wichtigsten Eigenschaften der Gele ist ihre Fähigkeit, durch Bildung von heterogenen Zuständen poröse Materialien mit erstaunlich hoher mechanischer Festigkeit zu bilden. Sie bestehen dann aus vernetzten Domänen hoher Dichte, die durch Filamente so miteinander verbunden sind, dass ein perkoliertes Netzwerk entsteht. Ein besonders schönes Beispiel ist das technisch wichtige Polyacrylamid (der Baustein von Plexiglas) in Mischungen aus Aceton und Wasser. Das Volumen des Gels kann sich durch Erhöhung des Wassergehalts um nur 1% um mehr als das 100-fache vergrößern. Der Grund ist die Erhöhung der elektrischen Ladung des Gels durch Hydrolyse. Wie wir aus § 24 wissen, führt dies zum Quellen des Gels, da der Flory Parameter wesentlich vergrößert wird. Die Zustandsänderung des Gels hat die typischen Eigenschaften eines Van der Waals Übergangs[Tanaka]

Wir haben schon mehrfach gesehen, dass das Aktin-Zytoskelett in Zellen nicht homogen ist. Ein prominentes Beispiel ist die Bildung von einem oder mehreren Filopodien, die sich an beliebig verteilten Stellen auf der Oberfläche der Zelle bilden können. Die Aktinbündel der Auswüchse sind in dem verzweigten Netzwerk des Aktinkortexes verwurzelt. Es handelt sich also um ein Beispiel der Koexistenz von Bündeln und einem verzweigten Gel. Es entsteht dadurch, dass Arp 2/3 und Fascin nacheinander aktiviert werden. In der Biologie hat man es also mit einer neuen Vielfalt von Sol \leftrightarrow Gel-Übergängen zu tun,.

Man kann die Bildung heterogener Aktin-Gele in Modellsystem beobachten und systematisch untersuchen. Ein Beispiel für ein solches Heterogel ist das System Aktin/ α -Actinin. Auch Myosin II kann aktive Heterogele bilden, wobei ein System verbundener Bündel aus Aktin- und Myosin- Mikrofilamenten entstehen kann(s. Abb 27.4). Dies hat gewisse Ähnlichkeit mit den Mikromuskeln, welche sich im Innern der glatten Muskelzellen ausbilden, allerdings mit dem Unterschied, dass diese auch an der Plasmamembran verankert sind. Wir betrachten im folgenden Abschnitt die reversible Bildung von Heterogelen des Aktins durch α -Actinin etwas genauer..



[AktinGelZust]

Figure 27.3

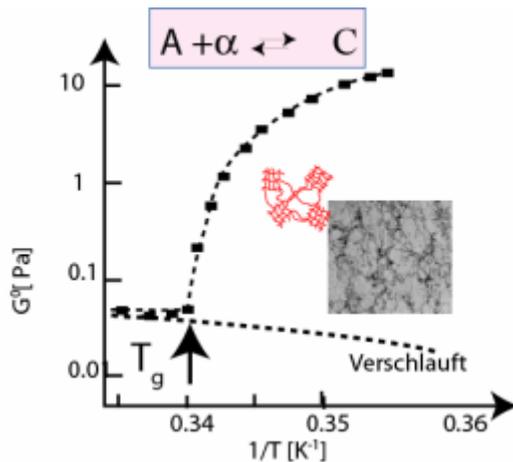
(ehem Fig 24.4)

Zur Vielfalt der Gelzustände der Aktinnetzwerke. Mit zunehmender Vernetzerdichte (oder abnehmendem Abstandsverhältnis $\varepsilon = \Delta_{cc}/\xi$) geht das kubische Netzwerk in der Mitte in eine Vielzahl von Gelzuständen über. Dessen Mikroarchitektur hängt von der Struktur der Vernetzer und der Kinetik des chemischen Gleichgewichts $\text{Vernetzer} \leftrightarrow \text{Aktin}$ ab.

Rechts: EM Aufnahme (Negativfärbung) eines rein verhedderten und eines mit monomerem (und aktiven) Myosin II vernetzten Systems. Die mit einem Aktinnetzwerk koexistierenden Bündel entstehen durch Co-Polymerisation von G-Aktin und monomerem Myosin II, das durch Inkubation in Anwesenheit von xyz mM ATP entsteht .

Da die Bindungsenergie des Komplexes Aktin- α Aktinin mit $\Delta H \approx 2 \text{ kJ/M}$ von der Größenordnung $k_B T$ ist, kann man verschlaufte Aktinnetzwerke durch Variation der Temperatur in reversibler Weise sukzessive verknoten. Dadurch lassen sich durch Aktivierung von Vernetzern induzierte Zustandsänderungen in Zelle simulieren [Tempel]. Abb 27.5 zeigt eine Messung des Plateaumoduls als Funktion der reziproken Temperatur. Man beobachtet das für Perkulationsübergänge typische Verhalten [de Gennes]: G_o' wächst unterhalb der Temperatur $T \leq T_{cl}$ (dem sog **Gelpunkt**) abrupt um zwei Größenordnungen an. Analysiert man das Verhalten durch Betrachtung des Assoziations-Dissoziations - Gleichgewichts quantitativ so kann man den Exponenten t des Perkulationsgesetzes: $G \sim (p - p_c)^t$ bestimmen: Der Wert $t \sim 1,8$ stimmt mit der Vorhersage des Perkulationstheorie (Gl 34.10) gut überein Eine ausführliche Ableitung des über das chemische Gleichgewicht vermittelten Sol \rightarrow Gel-Übergangs findet man in [Tempel]. Die interessanteste Eigenschaft der perkulierten

Heterogeale ist die Kombination der erstaunlich großen mechanischen Steifigkeit, und des hohen Grads an Porosität (wobei **Porosität** das Verhältnis des Hohlraumvolumens zum Gesamtvolumen des Gels ist). Möglicherweise besteht der Aktinkortex ruhender Zellen aus einem derart perkolierten Netzwerk. Die hoch konzentrierten Domänen könnten dabei an Zellrezeptoren (wie ZAM) binden und die Zellen mechanisch stabilisieren, während die Hohlräume Durchlässe für den Vesikeltransport für die Endo- und Exozytose bilden.



[PerkolationAktinVerknotung]

Figure 27.4

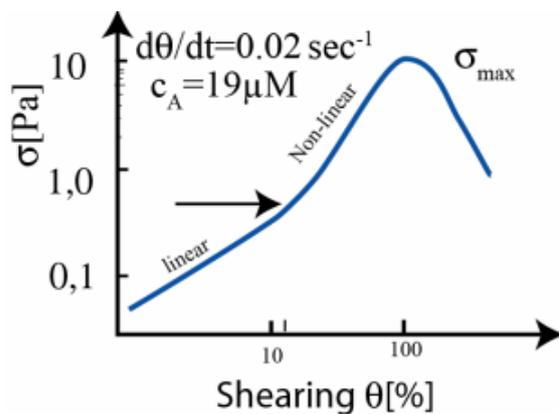
(ehem Fig 24.5)

Perkulationsübergang eines Aktinnetzwerkes durch zunehmende Verknotung mit α -Actinin. Die Dichte der Verknotungen wird durch Verschiebung des chemischen Gleichgewichts zugunsten der Assoziation durch Temperaturerniedrigung induziert. Die Punkte zeigen den Verlauf des Schermoduls während der Perkolation, die am Perkulationspunkt (durch Pfeil markiert) einsetzt. Die durchgezogene Linie zeigt die theoretisch berechnete Kurve (nach M. Tempel et al. Phys. Rev. E. **54**, 1802-1810 (1996)) Die gestrichelte Kurve zeigt den Temperaturverlauf des Schermoduls für ein verschlauftes Aktinnetzwerk. e.

27.7 Nichtlineare mechanisches Verhalten und Grenzen der Stabilität der Aktingele.

Eine biologisch wichtige Frage betrifft die Stabilität der Netzwerke bei hohen Scherraten. Einblick in das Stabilitätsverhalten liefern Messungen der Scherspannung σ als Funktion der maximalen Scherdeformation θ_0 bei konstanter Scherrate (typischerweise $d\theta/dt = 0.02 \text{ sec}^{-1}$). Abb 27.6 zeigt das Ergebnis eines homogenen Aktinnetzwerkes, das mit HMM Fragmenten des Myosin II im Rigorzustand verknötet wurde [Tharmann]. Bis zu einer Scherdeformation von 10 % beobachtet man lineares Verhalten ($\sigma \propto \theta$). Bei größeren Deformationen verhärtet sich das Netzwerk und wird bei $\theta \sim 75\%$ und einer maximalen Scherspannung $\sigma \sim 10 \text{ Pa}$ instabil.

Die hydrodynamischen Scherspannungen in den Blutgefäßen liegen zwischen 1 und 2 Pa [Fung], d.h. erheblich unterhalb dieser nichtlinearen Schwelle. In den oft als Sensor für mechanische Spannungen fungierenden Fibroblasten dagegen treten Spannungen von einigen 100 Pa auf und dort kann die durch Scherung induzierte Härtung eine Rolle spielen und möglicherweise auch die oberhalb σ_m einsetzende Instabilität.



[SpannDehnAktin]

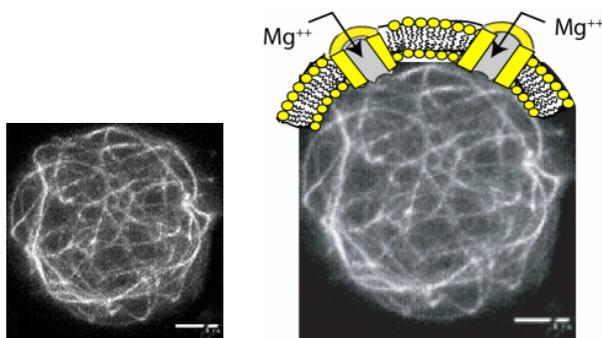
Figure 27.5

(ehem Abb. 24.6)

Spannungs-DehnungsDiagramm eines Netzwerkes aus Aktin das mit HMM Köpfen des Myosins II im Rigor-Zustand (s.§ Muskel) vernetzt wurde. Das Moleverhältnis Aktin-zu-HMMV war $R_{CA} = 1/25$. Die Scherraten betrug $d\theta/dt = 0.02 \text{ sec}^{-1}$ Modifiziert nach (Mit freundlicher Genehmigung A.Bausch)

27.8 Selbstorganisation von Zytoskeletts in Riesenvesikel.-Auf dem Weg zu mechanischen Zellmodellen (Position des Absatzes noch unklar)

Ein erstrebenswertes Fernziel der Physik der Zelle ist der Aufbau realistischer mechanischer Modelle durch Einbau intrazellulärer Funktionssystemen (wie dem Aktin-Zytoskelett mit assoziierten Helferproteinen) in weiche elastische Schalen, beispielsweise aus Lipid/Protein-Membranen. Ein hoffnungsvoller Ansatz ist die Rekonstitution von dünnen Schalen aus Aktinnetzwerken in Riesenvesikel, die grosse Ähnlichkeit mit natürlichen Aktinkorteces aufweisen (s. Abb 27.7). Diese bilden sich spontan wenn man in Riesenvesikel eingeschlossenes G-Aktin durch Einschleußen von Mg^{++} -Ionen über Ionenkanäle polymerisiert. Falls der Radius der Schalen kleiner ist als die Konturlänge ($R < L_c$) bilden die Filamente eine ca $1\mu m$ dicke Schicht an der inneren Oberfläche der Schale aus [Limozin]. Dies ist die Folge der unterschiedlichen Abhängigkeit der Biegesteifigkeit der beiden elastischen Schalen vom Radius. Wir haben im § 11 gelernt, dass die gesamte Biegeenergie der Vesikel unabhängig von Radius ist. Im Gegensatz dazu ist diese für eine Schale aus verhedderten Filamenten proportional zu R^{-1} . Die Bildung der Aktinkortexes wird daher energetisch günstiger. Man kann den Effekt durch Zugabe positiv geladner Lipide in die Membran noch verstärken, da dann die Aktinfilamente an die Innenseite der Membran andocken. In Gegenwart des Vernetzer α -Actinin entstehen Schalen aus verknoteten Bündeln. (s. Abb 27.7 und [Limozin]).



[AktinRiesenVesikel]

Figure 27.6

(ehem Abb 27.7)

a) Spontane Bildung eines Aktin/ α -Actinin Netzwerks an der Innenseite eines Riesenvesikels. Diese entstehen spontan durch Import von Mg^{++} -Ionen über membranständige Ionenkanäle in mit G-Aktin gefüllte Riesenvesikel..

b) (Besseres Bild) Spontane Bildung von sternförmigen Anordnungen des MT in Gegenwart von gentechnisch verkuppelten Kinesin-Motoren (nach Nedelec et. al. Nature **389**, 305-308, 1997).

Auch Mikrotubuli lassen sich in Vesikel einbauen [Elbaum]. In Gegenwart von Clustern aus Motoren der Kinesin-Familie mit zwei (oder mehr) Motordomänen bilden sich in mikroskopischen Räumen spontan sternartige Netzwerke der Mikrotubuli (MT). In diesem Fall entsteht das Netzwerk durch gegenseitige Verschiebung der Filamente. Im Gleichgewicht sammeln sich im Zentrum des Sterns Cluster der Motoren an, ähnlich den **Zentrosomen** der Zellen [Nedelec].

27.9 Stabilisierung der Pflanzen und Bäume durch Fasersysteme.

Ehe wir dieses Kapitel über Gele abschließen, wollen wir noch ein anderes wichtiges Beispiel der Kontrolle der mechanischen Stabilität biologischer Systeme durch Adaption verbundartig aufgebauter Hetero-Gele und Bündelbildung ansprechen. Wir hatten in §23 die Struktur der Zellulose vorgestellt, um zu zeigen welche wunderbare Materialien die Natur im Laufe der Evolution hervorgebracht hat. Wir sahen, dass der verbundartige Aufbau der Zellulose, aus den durch flexible Polymere verklebten, Fasern dem Holz eine besondere Kombination von Festigkeit gegen Zug und Druck verleiht. Wir zeigen nun, dass die Pflanzen noch eine weitere subtile Möglichkeit besitzen, die Festigkeit des Holzes an die Gestalt der Pflanze und an äußere Kräfte anzupassen.

Bäume müssen ihre elastischen Eigenschaften so einstellen, dass sie nicht unter ihrem Eigengewicht kollabieren und gleichzeitig dem Winddruck standhalten können. Nach dem Eulerschen Kriterium der mechanischen Stabilität ist die Knickkraft eines Stammes (mit dem Biegemodul B):

$$F_c = \frac{\pi^2 B}{4L^2} \quad (27.8)$$

wobei wir annehmen, dass die Schwerkraft im Zentrum des Stammes angreift. Der Biegemodul ist gleich dem Produkt aus dem Young Modul E und dem Trägheitsmoment $I = \pi R^2/4$ (siehe [Landau Lifshitz], Vol VII §19). Nach dieser Gleichung sind kurze breite

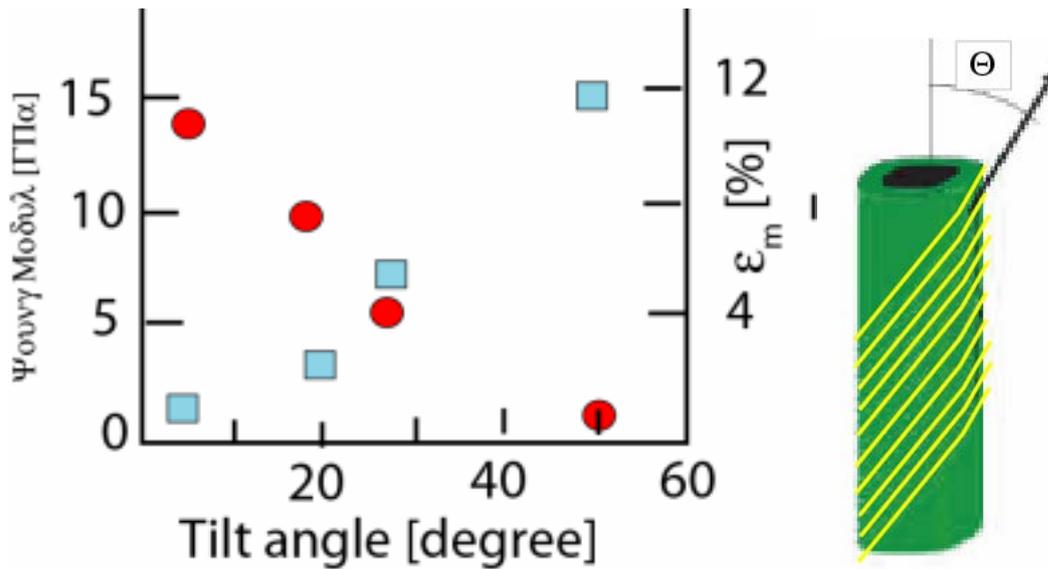
Stämme also günstig. Dies kann jedoch bei Sturm aus folgendem Grund von Nachteil sein. Die Auslenkung der Krone δL in Windrichtung ist für kleine Biegungen gegeben durch

$$\delta L \approx \frac{FL^3}{3B} \quad (27.9),$$

wenn wir den Winddruck durch eine horizontale Kraft F ersetzen. Da die Auslenkung mit zunehmender Biegesteifigkeit $B=EI$ ansteigt, kann der Baum dem Winddruck nicht durch Biegung ausweichen. Dadurch entstehen am unteren Ende des Stammes grosse Drehmomente und die Gefahr der Entwurzelung ist groß. Kleine Steifigkeiten wären daher günstiger.

Die Pflanzen haben daher den Trick mit der Orientierung der Zellulosefibrillen entwickelt. Diese winden sich helikal um die langen, Röhren bildenden Zelle und sind gegen deren Längsachse um einen Winkel Θ geneigt (s. Abb 27.8b). Die in Abb 27.8a dargestellten Messungen der Elastizität und des Bruchverhaltens zeigen, dass der Youngmodul mit zunehmendem Winkel Θ abnimmt. Die Fibrillen verleihen den Zellen die Eigenschaft von Spiralfedern, die umso härter werden je kleiner der Anstellwinkel μ ist. Misst man die Knickkraft, bei der Bruch stattfindet, so zeigt sich, dass diese mit dem Neigungswinkel zunimmt. Dieses gegenläufige Verhalten ermöglicht dem Bäumen die Stabilität durch Variation des Neigungswinkels zu adaptieren. Auch die Äste passen ihre mechanische Stabilität an die Belastung an. Die Neigungswinkel μ (und damit die Bruchfestigkeit) sind an der Unterseite der Äste und in der Nähe des Stammes größer als an der Oberseite. [Fratzl et al].

Eine interessante aber noch völlig offene Frage ist, wie die Pflanzen die Kräfte messen und die Information auf der Ebene der Zellen weitergeleitet wird. An kleinen mechanotaktischen Pflanzen wurden mechanische Spannungssensoren gefunden und gezeigt, dass dabei Ca-Stöme in die Zellen eine wichtige Rolle spielen [Weiler]. Bei älteren Pflanzen könnte die mechanischen Eigenschaften der Zellulose auch durch Variation der Feuchtigkeit und des Salzgehaltes der Kapillarflüssigkeit gesteuert werden, und zwar aus folgendem Grund. Wie in Abb 23.3 gezeigt wurde, ist die Zellulose ein quellbares Gel und ihre elastischen Eigenschaften können über osmotische Effekte variiert werden. Diese Eigenschaft besitzt auch die Zellulose der Holzzellen.



[ZelluloseFibrWinkel]

Figure 27.7

(ehem Abb 27.8)

a) Zusammenhang zwischen dem Neigungswinkel Θ der Zellulosefibrillen gegen die Achse der röhrenförmigen Pflanzenzellen und dem Youngmodul E , sowie der maximalen Dehnung des Holzes (nach P. Fratzl Physik Journal 1 49-55. (2002)) .

b) Schematisches Bild einer röhrenförmigen Zelle mit Zellulosefibrillen und Definition des Neigungswinkels Θ .

Aufgabe 27.21: Begründen Sie weshalb eine Anordnung von MT in Gegenwart von zwei gekoppelte Motordomänen des Kinesins eine asterförmige Anordnungen mit den plus-Enden im Zentrum bilden können.

Letzte Änderung (Shoh): 02.03.2009

Endversion 1.3 09

28 Zellen als Mechanosensoren

28.1 Einleitung

Da Tiere oder Pflanzen ständig äußeren und inneren mechanischen Belastungen unterworfen sind musste die Natur Sensoren zur Kraft- oder Dehnungsmessung entwickeln und Wege finden, die Materialeigenschaften an die ständig wechselnden Spannungen anzupassen. Nachhaltige Änderungen der Materialeigenschaften erfordert auch die Einwirkung mechanischer Kräfte auf den genetischen Apparat. An einem für unser Überleben wichtigen Beispiel der hat sich gezeigt, dass Zellen als Sensoren mechanischer Spannungen fungieren können: bei der Regelung des Blutdrucks und der Anpassung der Zellsteifigkeit an lokale Fluktuationen des Blutflusses. Diese könne durch Schwankungen des Blutdrucks oder lokale Variationen der Durchmesser der Adern auftreten.

Endothelzellen (EZ) reagieren einerseits durch Produktion des Botenmoleküls Stickoxid (NO), das die Durchmesser der Adern über die glatten Muskeln steuert [Schmidt Thews Physiology)]. Andererseits passen sie ihre viskoelastischen Parameter und Adhäsionskräfte durch Reorganisation des Aktinkortexes an zeitlich fluktuierende Scherkräfte an. Diese Adaption wird über mehrere intrazelluläre Signalwege vermittelt die erst teilweise bekannt sind. Es handelt sich daher um ein umfangreiches Gebiet der modernen Zellbiologie und kann hier nicht umfassend behandelt werden. Wir wollen uns hier auf die kontinuumsmechanischen Aspekte dieser physiologischen Prozesse und die damit verbundenen Reorganisation des Aktinkortexes beschränken. Dies sind zwei zentrale Probleme der Physik der Zelle. Im Vordergrund des Interesses stehen zwei Fragen. Erstens, welchen Gebrauch macht die Natur von den physikalischen Prinzipien der Sol-Gel-Umwandlungen im Zellzytoskelett und zweitens, kann man durch mikromechanische Messungen viskoelastischer Module Einblick in die strukturellen Umwandlungen des Zytoskeletts erhalten, die durch äußere Kräfte oder biochemische Signale (Hormone, Wachstumsfaktoren) hervorgerufenen werden.

28.2 Das Endothelium als semipermeable Barrieren und Mechanosensor.

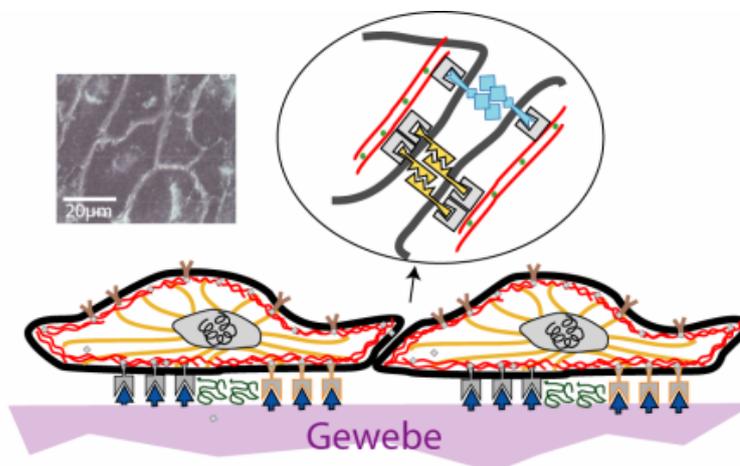
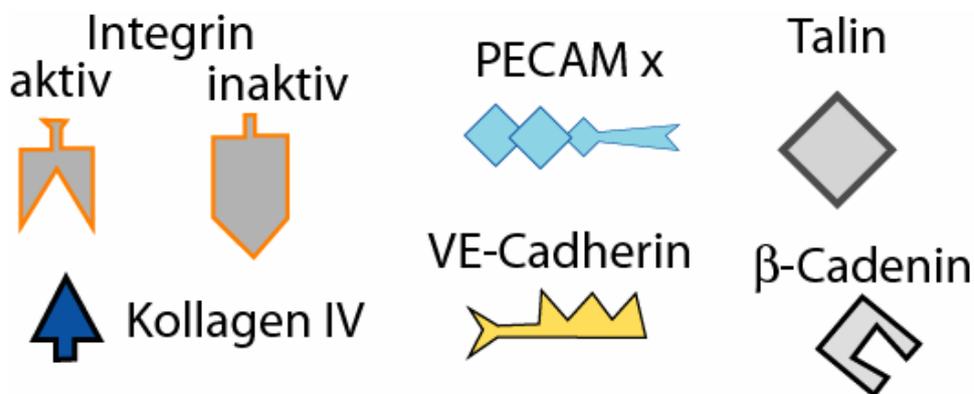
Bei der Beschreibung der biologischen Funktion des Zytoskeletts (§18.a) und der Physik der Adhäsion (§13) hatten wir die Bedeutung der Zell-Zell-Verbindungen für die Bildung semipermeabler Grenzen zwischen Organen und deren Umgebung kennen gelernt. Wir erweitern hier das Bild mit einer Beschreibung der Funktion der Endothelzellen als semipermeable Barriere zwischen Blutbahnen und Gewebe. Dicht gepackte zweidimensionale Schichten aus **Endothelzellen** (das **Endothelium**) spielen eine wichtige Rolle als semipermeable Barriere zwischen den Blutbahnen und dem Gewebe. Ein besonderer Fall dieser Barriere, ist die **Blut-Hirnschranke**, die das Zentralnervensystem von den Blutbahnen trennt. Die Endothelzellschichten dieser Schranke müssen sehr dicht sein, um den Transfer von im Blut zirkulierenden Toxinen oder Krankheitserregern in das ZNS zu unterbinden. Das Endothelium der Blutgefäße dagegen ist weniger dicht gepackt und ist in kontrollierbarer Weise permeabel. Einerseits muss es den unkontrollierten Verlust von Blutzellen unterbinden oder das Donnan-Gleichgewicht zwischen Blut und Gewebe aufrechterhalten (wie wir bei der Beschreibung der elektrochemischen Potentiale im § 15 sahen werden). Andererseits müssen die Blutzellen des Immunsystems zur Abwehr von Fremdstoffen dauernd zwischen den beiden Räumen hin und her wandern, d. h. die Barrierefunktion des Endotheliums muß steuerbar sein [Aron]. Diese gegensätzlichen Aufgaben schaffen die Zellen durch ihre außergewöhnlichen vikoelastischen Eigenschaften und die Wandlungsfähigkeit des AktinNetzwerkes. Das Endothelium ist daher ein lehrreiches Beispiel eines komplexen, für unser Überleben aber extrem wichtigen, biologischen Materials, bei dem die mechanischen Kräfte und die ständige Adaption der Materialeigenschaften der Zellhülle und des Zytoskeletts eine wesentliche Rolle spielen.

Endothelzellen (z.B. aus der menschlichen Nabelschnur) eignen sich gut für physikalische (*in vitro*) Experimente an natürlichen (nicht transformierten) Zellen. Bringt man sie auf feste (mit Kollagen bedeckte) Substrate, so teilen sie sich und wachsen nach einigen (4-6) Tagen zu einer geschlossenen (sog. **konfluenten**) **Zell-Monoschicht** zusammen. Sie befinden sich dann in einer Art Ruhezustand (s Abb 27.1). Erzeugt man mechanisch eine Lücke in einer derart geschlossenen Zell-Monoschicht, so werden die Zellen wieder teilungsfähig und füllen die Lücke wieder mit neuen Zellen. Diese vorübergehende Vermehrung der Zellen (auch **Proliferation** genannt) wird durch den Wachstumsfaktor, (engl. growth factors oder mitogens)VEGF (vascular endothelial growth factor) angeregt (siehe z.B.. [Alberts] Ch. 22).

Dieser Faktor stimuliert auch die Bildung neuer Blutgefäße während der Wundheilung. Es handelt sich um ein kleines Protein aus rund 150 Aminosäuren das von dem spezifischen VEGF- Rezeptor erkannt wird. Dieser gehört zu den im Appendix des §9A beschriebenen Rezeptoren, welche die Zellen über **Tyrosin-Kinasen** aktivieren und daher auch **Rezeptor-Tyrosin-Kinase** genannt werden. Diese Klasse von Rezeptoren vermittelt insbesondere die Aktivierung der Genexpression.

Die mechanische Stabilität des Endotheliums der Blutgefäße wird im Wesentlichen durch zwei Gruppen von **Zelladhäsionsmolekülen (ZAM)**, (siehe Definition in §13) vermittelt:

1. Die laterale Assoziation der Zellen erfolgt vorwiegend durch zwei ZAM: **VE- Cadherine** (wobei VE für Vascular Endothelium steht) und **PECAM**, (Abkürzung für platelet endothelial cell adhesion molecule). Der Name PECAM rührt daher, dass die Rezeptoren auch für die Adhäsion zwischen Blutplättchen und Endothelzellen sorgen. Beide ZAM gehören zur Klasse der **homophilen Adhäsionsmolekülen**, d. h sie binden nur an ihresgleichen
2. Die Verbindung mit der Basalmembran vermitteln verschiedene Integrine, die wir in §13 ausführlich besprochen hatten..



a)

Figure 28.1

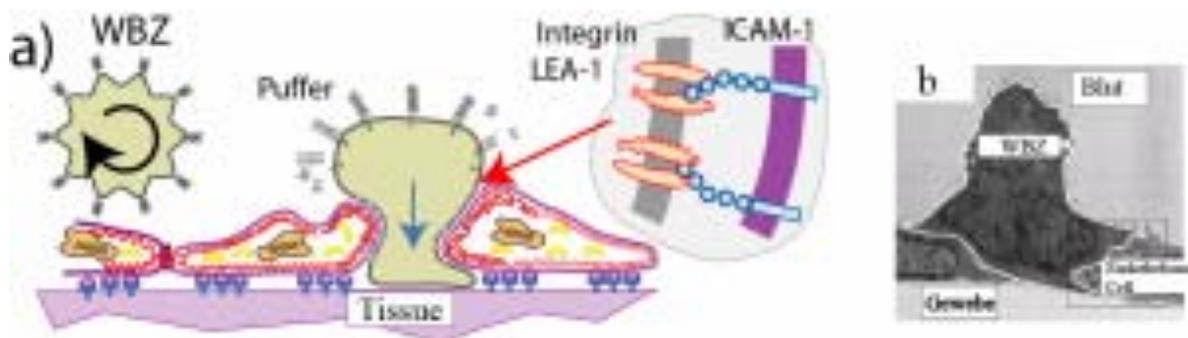
Schematisches Bild der Endothelzell-Monoschicht im Ruhezustand. Der Einsatz links oben zeigt eine Mikrofluoreszenzaufnahme der fixierten Zellschicht mit Verteilung der VE-Cadherine die mit Antikörper markiert wurden. Die Zellen haben nur wenige Spannungsfasern auf der Bauchseite (die nicht gezeigt werden). Der Einsatz rechts oben zeigt schematisch die laterale Zell-Zell-Adhäsion durch die (homophilen) Zelladhäsionsmoleküle der Cadherin Familie und PECAM. Der Einsatz links oben zeigt eine Mikrofluoreszenzaufnahme der Endothelzellschicht deren Cadherine fluoreszieren (Einsatz links oben, modifiziert nach E. Tzima et al EMBO Journal **20**,4639 (2001))

Wie schon in §13 erwähnt, ist die Steuerung der Adhäsion und Migration der weißen Blutzellen (Leucozyten) eine zentrale Funktion des Endotheliums. Sie ist ein besonders eindrucksvolles Beispiel für die Wandelbarkeit der Struktur und Funktion biologischer Materie und ihrer viskoelastischen Eigenschaften. Die Filterfunktion des Endotheliums wird durch zwei weitere wichtige Gruppen von Zellrezeptoren (ZAM): Selektine, und ICAM-1 (ein ZAM mit IgG-analoger Struktur). Die weißen Blutzellen (Granulozyten, Lymphozyten) müssen ständig zwischen Blutbahn und Gewebe patrouillieren, auf der Suche nach Eindringlingen (wie Viren) oder Entzündungsherden. Sie adhären mit ihren zahlreichen Ausbuchtungen leicht auf den EZ und rollen, getrieben durch den Blutstrom, auf den Adern entlang[Lauferberg]. Diese schwache Adhäsion wird durch selektive Bindung von exponierten Oligosacchariden auf den Blutzellen (die in § eingeführten **Lewis X-Faktoren**) an die Selektine der EZ vermittelt. Die lokale Adhäsion verhindert die Entfernung der Zelle von der Oberfläche durch den Magnuseffekt (siehe Aufgabe 27.3). Außerdem wird das durch die Scherkräfte des Blutstroms erzeugte Drehmoment, (das die rollende Bewegung antreibt) optimiert.

Sobald die Zellen in die Nähe eines Infektionsherdes kommen findet (in wenige als 1 sec, [Aron]).eine dramatische Umwandlung statt. Diese wird durch Botenstoffen (die **Zytokine, s. Glossary**) aktiviert, die von den an der Immunabwehr im Gewebe beteiligten Zellen ausgesandt und an der Oberfläche der EZ gebunden werden. Auf der Oberfläche der Zellen wird ein spezifisches Integrin (mit dem unkonventionellen Namen LFA-1) aktiviert. Dieses bindet an ein spezifisches ZAM der Endothelzellen (mit dem Namen ICAM I), wobei es sich um ein Mitglied der in §13 eingeführten interzellulären Adhäsionsmoleküle der ICAM-

Familie handelt. Infolge der starken Adhäsion wird eine Lücke im Endothelium geschaffen, durch welche die Blutzellen in das Gewebe entweichen können.

Die Ursache für das Eindringen der Leukozyten in das Endothelium ist noch ein Rätsel. Es könnte allein durch den **Spreitdruck** vermittelt werden, den die Weißen Blutzellen auf der Oberfläche der Endothelzellen erzeugen. Durch die starke spezifische Bindung zwischen den Rezeptoren (LFA-1 und ICAM-1) gewinnen die WBZ Energie, wenn sie in die Lücke zwischen zwei Endothelzellen eindringen um die Kontaktfläche zu erhöhen. Möglicherweise wird der Prozess aber auch durch eine aktive Kontraktion der Endothelzellen begünstigt, der durch Botenstoffe ausgelöst wird. Einen solchen Mechanismus werden wir im Folgenden diskutieren.



[LeukoMigration]

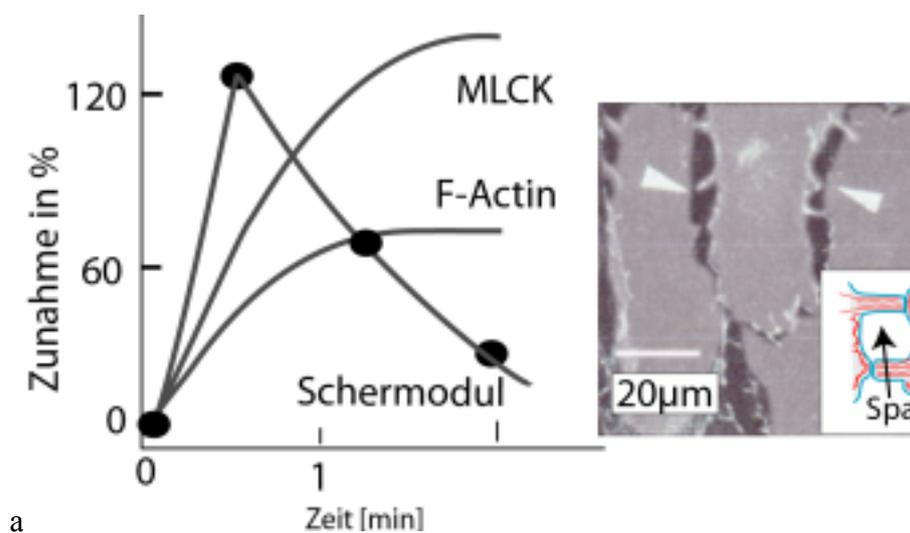
Figure 28.2

Emigration weißer Blutzelle (Leukozyt) durch Monoschichten aus Endothelzellen (EZ). a) Links wird eine leicht adhärierende Weiße Blutzelle (WBZ) mit wellenförmigen Oberflächenprofil gezeigt (s. auch Abb. 13.B1). Sie rollt über das Endothelium, da sie durch schwache lokale Adhäsion an die Oberfläche des Endotheliums angeheftet wird. Dadurch wird das durch die hydrodynamische Scherkraft des Blutflusses erzeugte Drehmoment auf die Zelle besonders groß. An der Oberfläche der EZ adsorbierte Zytokine aktivieren das spezifische Integrin LFA-1 auf der Oberfläche der Blutzellen (durch den in §13 diskutierten Mechanismus). Die Zelle stoppt abrupt und durchdringt die EZ-Schicht. Der Prozess kann im Bruchteil einer Sekunde stattfinden [Aron]. Das linke Bild zeigt eine EM-Aufnahme eines Dünnschnitts durch eine penetrierende Zelle und die sie umgebenden EZ. Modifiziert Nach G. Cinamon et al. Nature Immunology 6 515-521 (2001)

28.3 Hormon-induzierte Reorganisation des Aktinkortexes und Kontraktion der Zellen.

Unter normalen Bedingungen befinden sich die Zellen in einer konfluenten Zellschicht in einer Art Ruhezustand. Der Aktinkortex besteht aus einem dünnen, weitgehend homogen erscheinenden Netzwerk. Die in Abb28.1 gezeigte Anfärbung der Cadherine mit Antikörpern gegen ihre zytoplasmatische Domäne zeigt, dass diese ZAM zusammen mit Aktin fast homogen über die ganzen Innenseite der Zellhülle verteilt sind.

Um die Reorganisation des Zytoskeletts (während der Bildung von Passagen durch die Endothelium) mit physikalischen Methoden zu untersuchen, kann man diese durch spezielle Hormone induzieren, Dazu eignet sich besonders Histamin oder Thrombin. Diese binden an verschiedenen Zellrezeptoren Thrombin ist eine Protease und die Blutgerinnung auslösenden Faktor. Seine Bindung an Rezeptoren der Blutplättchen induziert die in [Abb.18.XX](#) gezeigte sehr schnelle Bildung zahlreicher Filipodien durch Bildung von Aktinbündel. Histamin ist ein vielseitiger Wirkstoff, der bei Entzündungen und allergischen Reaktionen freigesetzt wird und kleine Blutgefäße erweitert.



[HistaminEndothelZ]

Figure 28.3

a) Imitation der Aktivierung der Endothelzellen durch das Hormon **Histamin** und durch **Thrombin**. Gezeigt wird (i) die Erhöhung des Ca-Spiegels, (ii) die Zunahme des Schermoduls der Zellhülle durch Histamin [Feneberg], (iii) die Erhöhung der Fraktion polymerisierten Aktins und (iv) der Grad der Phosphorylierung der leichten Kette (MLC) des Myosins durch Thrombin. Die Zahlen auf der Ordinate geben die relativen Zunahmen des F-Aktin und der Phosphorylierung wieder. Der Schermodul erhöht sich von dem Wert ($\mu \approx 2,5 \cdot 10^2$ Pam) um den Faktor 100. Die Daten der Zunahme des F-Aktins und der Aktivität der MLCK entstammen der Arbeit von Zhao und Davis [Zhao].

b) Die Mikrofluoreszenz-Aufnahme demonstriert die zentripetale Kontraktion der Endothelzellen. Da die Zellen dabei von einer flachen Form in eine eher runde übergehen weichen sie nach oben aus, was zu Passagen (weisse Pfeile) durch das Endothelium führt. Wie der Einsatz rechts zeigt, bleiben die Zellen jedoch über röhrenförmige Ausstülpungen (im Englischen oft tethers genannt) in Kontakt und die Lücken können sich schnell wieder schließen

Gibt man kleine Mengen (von Histamin und Thrombin) zu konfluenten Zellschichten so bilden sich innerhalb weniger Sekunde sehr viele neue Spannungsfäden, wie die man durch Anfärben des Aktins mit Phalloidin beobachten kann. Die Zellen kontrahieren in zentripetaler Richtung und weichen in die dritte Dimension aus, was man mit Hilfe der RICM-Technik in Echtzeit beobachten kann [Feneberg]. Dies führt zur Bildung der in Abb 28.3b gezeigten Spalten zwischen den Zellen und erleichtert so die Emigration der an der Immunabwehr beteiligten Blutzellen. Es ist für unser Überleben sehr wichtig, dass die Lücken nur an wenigen Stellen entstehen wo die Zellschicht dünn ist und dass sie reversibel sind. Durch Abbau des Histamins schließt sich die Lücke beispielsweise nach ca 120 sec wieder und die Zellen werden wieder weicher, wie die Auftragung der Schermoduls in Abb. 28.3a zeigt). Die Reversibilität wird durch die Ausbildung der schlauchartigen Verbindungen zwischen den Zellen begünstigt, da diese (analog zu Filopodien) wie Federn wirken (s. Einsatz in Abb 27.3 b). Man kann diese Zunahme der Permeabilität sehr schnell und empfindlich mittels elektrischer Impedanz-Spektroskopie beobachten. Dabei misst man die komplexe elektrische Impedanz der geschlossenen Zellschicht als Funktion der Frequenz und kann so zwischen Änderungen der Schichtdicke und des elektrischen Widerstands der Zellschicht unterscheiden.

28.4 Generische Mechanismen der Zytoskelett Reorganisation durch intrazelluläre Signale.

Die für uns wichtigste Frage ist, ob bei den oben beschriebenen Reorganisationen des Zytoskeletts universell physikalischen Eigenschaften der Gele eine Rolle spielen. Die Schnelligkeit der Prozesse (wie die Bildung von Spannungsfasern in ca 1 sec) legt den Schluss nahe, dass sich das Aktin-Zytoskelett (die koexistierende monomere und polymere Fraktion) in der Nähe eines Sol-Gel Übergangs befindet. In Abb. 27. 4 hatten wir gezeigt, dass Übergänge in verschiedene Gelzustände einfach durch Variation des Verhältnisses Vernetzerabstand zur Maschenweite ($\epsilon = \Delta_{CC}/\xi$) induzieren können. Dies kann durch Erhöhung der Fraktion polymerisierbaren Aktins und Aktivierung eines spezifischen Vernetzers vermittelt werden.

Zur Ausbildung von Spannungsfasern wären sowohl Filamin als auch Myosin II geeignete. Zur beobachteten Kontraktion der Zellen müssen aber Mikromuskeln gebildet werden. Dies erfolgt durch Aktivierung von zellulärem Myosin II. Dazu muss aber auch der Anteil an polymerisiertem Aktin zunehmen. Tatsächlich haben zahlreiche Messungen an Endothelium gezeigt dass die Aktivierung der Zellen drei Wirkungen auslöst (s. auch Abb28.3):

1. eine Zunahme des polymerisierten Fraktion des Aktins um ca 60%, verbunden mit der Bildung neuer Spannungsfasern.
2. ; eine sehr schnelle Aktivierung des Myosin II durch Phosphorylierung der regulatorischen leichten Kette durch die Kinase MLCK (Akürzung des englischen Wortes myosin-light-chain-kinase; s. Glossarium).
3. ein vorübergehender Anstieg des intrazellulären Ca-Spiegels [Garcia].

Welche Möglichkeiten hat die Zelle nun, um die oben erwähnte Erhöhung des F-Aktins und die Aktivierung des Myosins zu verwirklichen:

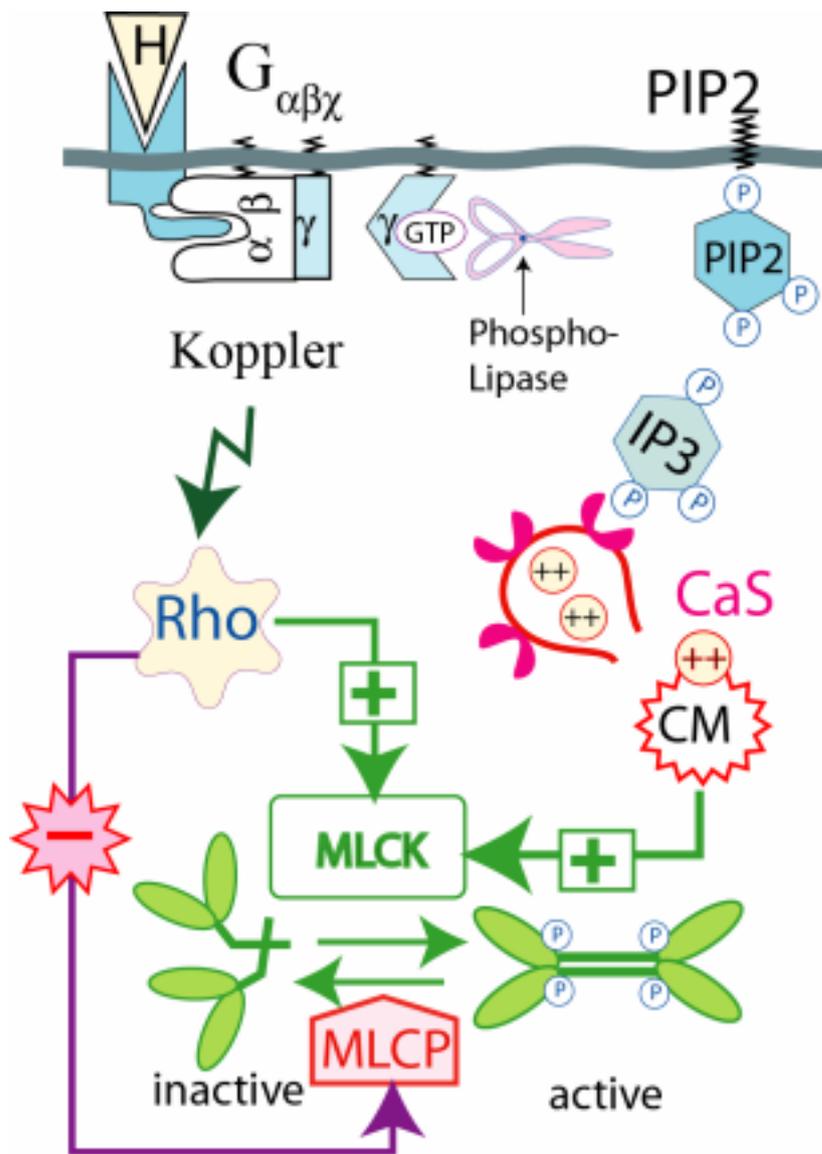
- . Wie wir in § 18 sahen kann eine Zunahme der F-Aktin Fraktion auf verschiedenen Wegen erfolgen. Eine Möglichkeit besteht in der Deaktivierung des Kappenbildners Gelsolin oder des depolymerisierenden Faktors **Cofilin**, die beide durch das **Signalmolekül PIP2** deaktiviert werden. Tatsächlich findet man, dass Histamin die PIP2-Konzentration erhöht und damit zusätzliche Aktinfilamente gebildet werden können.
- Die Bildung von Spannungsfasern aus diesen Filamenten kann dann durch Aktivierung des Filamins oder Myosin II oder beider Proteine vermittelt werden. Wir betrachten der

Einfachheit halber nur die Bildung kontraktile Fasern durch Aktivierung des Myosin II. Wie Abb 28.7 zeigt, kann dies auf den zwei Wegen erfolgen: entweder durch Ca-induzierte Aktivierung von **Calmodulin** oder über die GTPase der Rho-Familie. Beide führen zur Aktivierung der Kinase der leichten Kette MLCK. Die Phosphorylierung des Myosins kann zwei wichtige Wirkungen entfalten:

1. die Motordomäne wird aktiviert und
2. die ursprünglich isolierten Motoren können polare Mikrobündel bilden.

Ursache für die Bündelbildung ist aus heutiger Sicht eine Streckung der schweren Kette durch die Phosphorylierung (s. Abb 28.4 und [Alberts] Ch. 16). Die Bildung von Mikrobündel durch Phosphorylierung kann man auch im Reagenzglas nachgewiesen werden. Der genaue Mechanismus der Kontraktion der Zellen ist noch unbekannt. Sie erfolgt wahrscheinlich ganz ähnlich wie in den glatten Muskelzellen, die wir weiter unten diskutieren

Die Aktivierung des Myosins über den biochemischen Schalter Rho-GTPase, wurde durch folgendes Experiment nachgewiesen. Man kann die Funktion der GTPase durch das Gift (C3) des gefährlichen Darmvirus Clostridium botulinum, ausschalten. Injektion des Giftes in die Zellen unterdrückt die Aktivierung der Mikromuskeln (s [Esser]).



[AktMyoAktivRho]

Figure 28.4

Zwei Wege der Aktivierung der Aktin-Myosin Spannungsfasern über die durch **Rho-GTPasen** und **Calmodulin** vermittelten Signalwege. Die Prozesse können durch Wachstumsfaktoren, Hormone wie Histamin oder Entzündungen eingeleitet werden. Die beiden GTPasen Rho-A und $G_{\alpha\beta\gamma}$ fungieren als biochemische Schalter, die beide über den Hormon-Rezeptor eingeschaltet werden und die MLCK-Kinase aktivieren. Auf dem linken Weg erfolgt die Aktivierung auf dem Umweg der Inhibition der MLC-Phosphatase welche das Myosin dephosphoryliert. Diese Aufgabe übernimmt das durch die Rho-GTPase gesteuerte Kinase ROCK [Garcia], und zwar durch Phosphorylierung der Phosphatase. Gleichzeitig kann auf diesem die Bildung von Myosin-Mikrobündel vermittelt werden. Der

zweite Weg läuft über die Aktivierung des Calmodulins. Die trimere GTPase $G_{\alpha\beta\gamma}$ aktiviert die Phospholipase (wie bei dem in §9 eingeführten Hormonverstärker). Dieses setzt das Botenmolekül IP_3 frei, das die Ca-Speichervesikel (CaS) öffnet und das Calmodulin aktiviert. Die Aktivität des Calmodulins wird durch Ca-Ionen allosterisch gesteuert. Mit zunehmendem Ca-Spiegel kann es die Wirkung des IP_3 wieder abschalten, indem es Ca-Pumpen aktiviert welche das Ion wieder in die Speichervesikel zurück pumpen. Interessanterweise ist der durch Calmodulin vermittelte rechte Signalweg in der Regel schneller als der linke.

28.4.1 Die Aktivierung der glatten Muskulatur folgt demselben Schema

Die glatte Muskulatur besteht aus Ansammlungen spindelförmiger Zellen. An der inneren Oberfläche sind zahlreiche Mikromuskeln aus Myosin und Aktinbündel lokalisiert. Letztere sind mit den Enden über Proteinkomplexe und Intermediärfilamente an die Zellhülle gekoppelt. Die Komplexe spielen dieselbe Rolle wie die Z-Scheiben des Skelettmuskels. Bei der Kontraktion der Muskeln kontrahieren die Zellen daher wie eine Ziehharmonika.

Die Stimulation der glatten Muskulatur erfolgt durch Erhöhung des Ca-Spiegels, mit einer Verzögerung von ca 200 msec, und zwar durch Aktivierung der MLCK durch Calmodulin (d.h. auf dem rechten Weg der Abb. 28,4). Die Erhöhung des Ca Spiegels kann über spannungsabhängige Ca-Kanäle (d. h, von außen) oder durch Freisetzung aus Ca-Speichervesikel (d.h. von innen) über IP_3 erfolgen. Die Empfindlichkeit der Muskeln kann über den linken Weg der Abb. 28.4 reguliert werden, indem die MLC-Phosphatase die Zahl der phosphorylierten (aktiven) Myosine einstellt.

28.5 Spannungssensoren kontrollieren die Adhäsionsstärke der Endothelzellen

Eine erstaunliche Fähigkeit des **Endotheliums** ist die Adaption der Form, Adäsionsstärke und der Struktur des Aktinkortexes der Zellen an erstaunlich kleine, aber physiologisch relevante, hydrodynamische Scherkräfte [Davies, Tzia,]. Legt man eine hydrodynamische Scherspannung von nur etwa $1,2 \text{ N/m}^2$ an, so beobachtet man eine Folge von Ereignissen:

- Die (die Adhäsion auf der Basalmembran vermittelnden) Integrine $\alpha_v\beta_3$ werden aktiviert, die Adhäsionsdomänen wachsen und verschmelzen schon nach wenigen Minuten wie Abb28.5a zeigt.

- Die Zellen werden länglich und orientieren sich mit ihren langen Achsen parallel zur Scherkraft.
- Die Dichte der Aktin-Spannungsfasern nimmt zu und diese richten sich ebenfalls in die Strömungsrichtung aus.

Den Beginn der Orientierung der Zellen beobachtet man (wie die Verschmelzung der Adhäsionsdomänen) schon nach ca 1 min, während die Umorientierung der Aktinbündel erst mit einer Verzögerungszeit von 1 Stunde erfolgt und nach 6 Stunden abgeschlossen ist.

Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang das Verhalten der Rho GTPase. Dessen Aktivität nimmt nach ca 5 min (um etwa einen Faktor 2) ab und steigt dann wieder auf den alten Wert an. Dies ist aus folgendem Grund sehr wichtig. Da Rho die Myosin II-Motoren zur Bildung von Spannungsfasern anregt werden diese zunächst abgebaut. Dieser vorübergehende Abbau ist ein notwendiger Schritt damit die Umorientierung der Aktinbündel stattfinden kann. Hält man nämlich die Aktivität von Rho künstlich aufrecht, so findet die Ausrichtung nicht statt [Tzia;2001].

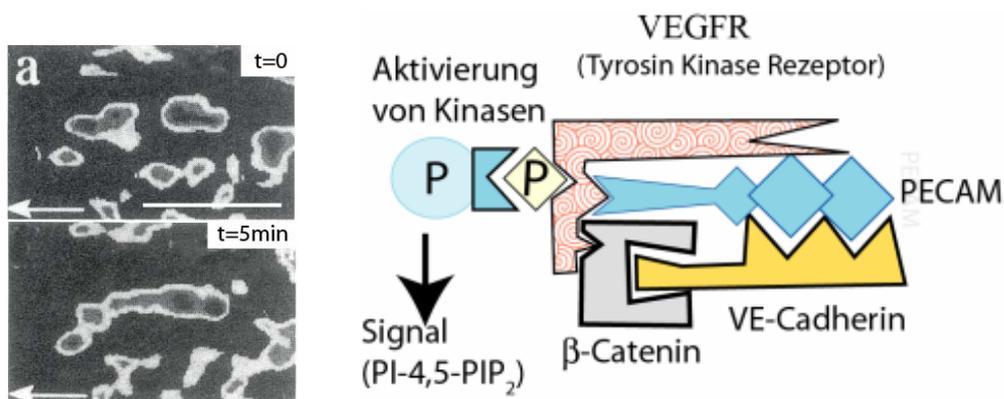
Zusammengenommen zeigen die Experimente, dass die Endothelzellen einen mechanischen Sensor und mehrere **Stellglieder (Aktuatoren)** zur Aktivierung des Integrins und zur Umstrukturierung des Aktinkortexes besitzen. In eleganten Experimenten mit transgenen Mäuse wurde, durch Ausschalten (knock out) verschiedener Gene, gezeigt, dass ein membranassoziierter Protein-Komplex dabei als mechanischer Sensor wirkt.

Der in Abb 28.5 gezeigte Sensor Komplex besteht aus den an der Zell-Zell-Adhäsion beteiligten Rezeptoren VE-Cadherin und PECAM -1, die wir in Abb. 28.1 kennen lernten. Hinzu kommen noch der Rezeptor VEGFR2 des Wachstumsfaktors VEGF, sowie das Protein **β-Catenin**. β- Catenin spielt eine doppelte Rolle. Es koppelt üblicherweise Cadherine an das Aktin-Zytoskelett an, und fungiert so als Aktin-Membran-Koppler. **Gleichzeitig ist es an der Aktivierung der Genexpression beteiligt**. VEGFR-2 gehört zur Familie der Tyrosin-Kinase-Rezeptoren und spielt die Rolle eines Schalters. der andere Proteine der Signalkaskade durch Phosphorylierung aktivieren kann. Wie alle Schalter diese Art kann er mehrere intrazellulären Proteine gleichzeitig phosphorylieren.

Der Sensor ist aktiv wenn der Komplex aus VEGFR, PECAM und Cadherin durch Bindung von Catenin zusammengehalten wird. Das durch den Sensorkomplex aktivierte intrazelluläre Signalsystem reagiert erstaunlich schnell. Legt man eine Scherspannung (durch hydrodynamischen Fluss oder mittels magnetischer Pinzetten) von 1,2 Pa an, so beobachtet man die Aktivierung von zwei Klassen von Kinasen welche verschiedene Prozesse in die Wege leiten.

- PI(3)-Kinase wandelt Phosphatidylinositol in etwa 15 Sekunden zum Botenmolekül PI(3,4)P2 um. Dieses aktiviert das für die Adhäsion auf der **Basalmembran** verantwortliche schlafende Integrin $\alpha_v\beta_3$, durch Bindung von aktiviertem **Talin** an die intrazelluläre Domäne der β -Kette des Integrins und erhöht so die Adhäsionsstärke der Endothelzellen an die Basalmembran (die in Abb28.4a gezeigt wurde).
- Ein Mitglied der Familie **src-Kinasen** schaltet in etwas weniger als 15 sec Transkriptionsfaktoren ein um damit die Genexpression (z.B. des Aktins) zu aktivieren (siehe [Lodish et al] Ch 24 und).
- Die wichtige Rolle des PECAM als mechanisch gesteuerter Regulator des Aktinkortexes zeigt die Beobachtung, dass seine Entfernung die Organisation der Aktin-Spannungsfasern behindert. und auch keine Aktivierung der Genexpression stattfindet Dieser Prozess ist vor allem bei der Regeneration von Blutgefäßen (der sog Angiogenese) nach Verletzung wichtig. Entfernt man beispielsweise einige Zellen aus einer geschlossenen Endothelzellschicht so spürt der Sensor die Lücke und sorgt für die Bildung neuer Zellen durch Proliferation.

Die gleichzeitige Erhöhung der Adhäsionsstärke und die Aktivierung der die Proliferation einleitenden src-Kinasen erscheint zunächst unsinnig. Man muß aber bedenken, dass die Proliferation durch die Transkriptionsfaktoren nur einsetzt wenn man Zellen entfernt. Die Sensoren sind daher möglicherweise auch an der lateralen Inhibition des Wachstums nach der Bildung der Zell-Monoschichten verantwortlich.



[IntegrinAktivierung]

Figure 28.5

a) Die Aktivierung der Integrine durch mechanische Kräfte induziert Wachstum und Verschmelzen der Adhäsionsdomänen (durch graue Bereiche markiert). Eine Ursache ist die Aktivierung der schlafenden Integrine $\alpha_v\beta_3$ durch das Signalmolekül PI-4,5-PIP₂.

b) Minimales Modell des interzellulären Sensors. Er registriert Fluktuationen der Scherspannung und leitet gleichzeitig die Signalkaskaden ein, welche die Adhäsionsstärke der Zellen modulieren. Die Zelladhäsionsmoleküle VE-Cadherin, und PECAM bilden, zusammen mit dem Rezeptor VEGFR des Wachstumsfaktors den Sensor. Das an die innere Domänen der ZAM bindende β -Catenin fungiert als Koppler zwischen den Rezeptoren. VEGFR ist ein Tyrosin-Kinase Rezeptor der, wie alle Vertreter dieser Familie, mehrere intrazelluläre Partner phosphorylieren kann. Die externe Kraft aktiviert den VEGF- Rezeptor, der als biochemischer Schalter (engl. Actuator) wirkt, und eine spezifische Kinase (PI-3-OH) aktiviert. Diese erzeugt PI-4,5-PIP₂, das zusammen mit Talin die Integrine ($\alpha_v\beta_3$) aktiviert welche die Adhäsion der Zelle an die Basalmembran verstärken. VEGFR kann auch β -Catenin aktivieren, welches dann die genetische Expression und Zell-Proliferation einleitet.

28.5.1 Warum benutzen Zellen verschieden schnelle Signalwege

Ein bemerkenswerter Aspekt des in Abb. 28.5 beschriebenen Regelprozesses ist die unterschiedliche Einschaltzeit der beiden verschiedenen Signalwege. Eine solche zeitliche Abstufung wird auch bei anderen Signalprozessen beobachtet und scheint ein generelles Prinzip biologischer Regelprozesse zu sein. In Abb 28,5 kann sie verschiedenen Zwecken dienen:

- Der langsame Prozess kann beispielsweise zur Adaption benutzt werden, der die Zahl aktiver Enzyme langfristig einstellt. während der schnelle Prozess die Zellen kurzfristige aktivieren kann. Dies könnte bei den glatten Muskelzellen eine Rolle spielen. Die Erregung erfolgt durch Ca-Einstrom in die Zelle (nach ca 200 ms). Dessen Wirkung hängt dagegen davon ab, wie viele der leichten Ketten über den langsamen, durch Rho vermittelten Signalweg aktiviert wurden.
- Im Fall der Wirkung des Histamins in Abb. 28.3 ist die sequentielle Aktivierung der Signalwege besonders wichtig. Zunächst bilden sich sehr schnell Spannungsfasern und die Zellhülle versteift sich, während die Phosphorylierung des Myosins nachhinkt. Dies ist aus folgendem Grund sinnvoll. Durch die schnelle Versteifung der Zellhülle wird die Adhäsionsstärke wesentlich erhöht, wie wir in §13 lernten. Dadurch wird verhindert, dass die Zellen von der Basalmembran entbinden wenn die Mikromuskeln aktiv werden und

die Zelle kontrahieren. Es bilden sich als nur kleine Lücken im Endothelium wenn die Zelle sich nach oben aufbäumen (s. Abb28.2)

Eine ganz andere Möglichkeit zur sequentiellen Aktivierung der an Regelprozessen beteiligten Enzyme beruht auf deren Fähigkeit ihre eigene Deaktivierung einzuleiten. Ein Beispiel ist die Aktivierung der Kontraktion der glatten Muskelzellen durch Calmodulin. Dieses allosterisch wirkende Protein kann den Ca-Spiegel nach der Erregung wieder herunterfahren, indem es die Rückführung der Ionen in die Speichervesikel vermittelt.

28.6 Synopsis

Die durch Histamin eingeleitete zentripetale Kontraktion der Endothezellen und die Adaption der Adhäsionsstärke der Endothelzellen an hydrodynamische Scherspannungen des Blutflusses sind Musterbeispiel der Kontrolle der Materialeigenschaften durch Hormone und externe Kräfte. Die Beispiele zeigen, dass man diese Zusammenhänge durch Kombination mehrerer experimentellen Methoden und biochemischer Messungen der intrazellulären Konzentrationen der Botenmoleküle oder der an den Prozessen beteiligten Proteinen aufklären kann. Die Möglichkeit, die an den Prozessen beteiligten Proteine gezielt auszuschalten spielen dabei eine zentrale Rolle

Letzte Änderung (Shoh): 24.02.2009

End- Verbesserung 10.2.09

29 Mikromechanik der Zelle

29.1 Mikromechanische Methoden zur Kartierung von Deformations- oder Kraftfelder.

Wir hatten schon mehrfach erwähnt (z.B. im § 11) wie wichtig genaue Messungen der Absolutwerte der elastischen und **viskoelastischen Module** der Zelle unter möglichst natürlichen Bedingungen sind, um Einblick in die Reorganisation der Mikroarchitektur des Zytoskeletts durch biochemische Signale, Krankheiten und Mutationen zu gewinnen. Im Hintergrund steht die Frage, ob universelle physikalische Eigenschaften makromolekularer Netzwerke dabei eine Rolle spielen. Solche Messungen sind auch notwendig, um die im letzten Paragraphen beschriebene Kontrolle der Adhäsionsstärke durch die Spannungssensoren der Zelle zu verstehen. Durch das wachsende Interesse der Physiker und Ingenieure an diesen Fragestellungen wurden in den letzten Jahren zahlreiche mikromechanischer Methoden zu diesem Zweck entwickelt und erhebliche Fortschritte auf dem Gebiet der Elastizitätstheorie weicher Schalen erzielt (s. §11 und §35.)

Eine klassische experimentelle Methode ist die in § 9 “) eingeführte **Mikropipettentechnik** (. Die AFM Technik eignet sich besonders zur lokalen Messungen der Young Module steifer Zellen, wie der dünnen Pseudopodien [Rotch Radmacher], oder der Schalen der Viren (s. §35 und [Ipsen])und Bakterien. Mit optischen und magnetischen Pinzetten lassen sich viskoelastische Modulen weicher Zellhüllen (mit $E \leq 1\text{kPa}$). messen [Fabri], [Feneberg]. Ein Vorteil dieser Methoden ist die Möglichkeit der parallelen Messung der viskoelastischen Module ($G'(t)$ und $G''(t)$) der Membran und des Zytoplasmas. Effektive Werte der viskoelastischen Module ganzer Zellen lassen sich mit stehenden Laserwellen [Guck-Käs] und Mikroplatten [Ott][Spatz] messen. Schließlich sahen wir im §13, dass

Biegemodule der Zellhüllen auch durch Analyse der Kontur adhärerender Zellen bestimmt werden können.

Die zentralen Probleme aller Methoden sind die Trennung der verschiedenen Deformationsmoden (Biegung Scherung und Kompression) und die Messung von Absolutwerten der Module. Um diese durch Messungen der Deformation als Funktion der Kraft zu bestimmen, müssen die Randbedingungen genau definiert sein. Dieses Problem löst man in der Technik durch geschickte Wahl der Form des Materials und analytische oder numerische Berechnung der Kraft-Dehnungs-Diagramme. Dies ist im Fall der Zellen in der Regel nicht möglich. Nur falls die Zellen eine analytisch berechenbare Form haben (wie die Erythrozyten) lassen sich die Kraft-Dehnungskurven theoretisch berechnen oder durch Methoden der finiten Elemente simulieren. Im Folgenden werden wir Möglichkeiten zur Messung absoluter Werte der viskoelastischen Parameter der Zellen darstellen und zeigen wie man damit ersten Einblick in mikromechanischen Eigenschaften der Zellen erhalten kann.

Die Ergebnisse sind beim derzeitigen Stand der Technik noch keineswegs befriedigend, aber sie zeigen, dass durch Kombination verschiedener Methoden und theoretischer Modelle zuverlässige quantitative Messungen viskoelastischer Parameter der Zelle oder der durch Zellen erzeugten Kräfte möglich sind. Wir hatten schon in §13 und 28 gesehen, wie man durch gezielte biochemische Störungen oder Mutationen aus solchen Messungen wichtige Information über Kontrolle der Struktur und der Funktion der Zelle durch mechanische Kräfte gewinnen kann. Dies rechtfertigt die Aufnahme eines solchen Kapitels in ein Lehrbuch der Biophysik.

29.1.1 Methode der Kraftfeld-Kartierung

Die im Folgenden vorgestellte Methode eröffnet neue Möglichkeiten zur Messung absoluter elastischer Module der Zellhülle. Sie beruht auf der Analyse der durch lokale Punktkräfte induzierten Deformationsfelder auf der Zelloberfläche. Für diese Situation gibt es oft analytische theoretische Lösungen oder man macht von einem berühmten Theorem der Elastizitätstheorie von J. Sain-Venant Gebrauch. Dieser theoretische Mechaniker hatte theoretisch und empirisch gezeigt, dass die räumliche Variation der Deformation in großem Abstand von lokalen Kräften (z.B. an Krafteinleitungspunkten) unabhängig von der Verteilung der lokalen Spannungen ist.

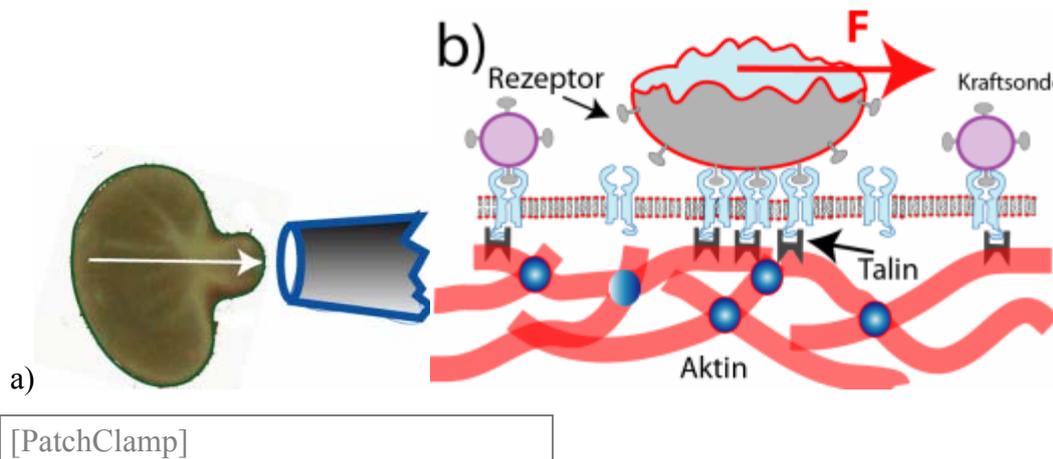


Figure 29.1 Mikromechanische Methoden zur Messung lokaler viskoelastischer Module.

a) Mikropipettentechnik Kraftbereich 1pN-10nN. Gezeigt wird die plastische Deformation der Hülle eines Zellkerns. (nach Ipsen et al).

b) Messung der viskoelastischen Impedanz mit magnetischen oder optische Pinzetten und Kartierung der Deformationsfelder mittels Kraftsonden. Die Pinzetten (Durchmesser $\approx 2\text{-}4\ \mu\text{m}$) werden an spezifische ZAM (wie spezifische Integrine) angedockt und koppelt über diese an den Aktinkortex. Die kleinen Sonden dienen der Messung der Deformationsfelder und können an dieselben oder an andere Rezeptortypen gekoppelt werden.

Evtl.Kleindruck:

Betrachten wir eine ebene Deformation (beispielsweise der Zelloberfläche) außerhalb des kleinen Bereichs in dem die Kraft F angreift, so kann man (dem Saint Venant Prinzip folgende) F durch eine Punktkraft ersetzen, d.h. in Form einer Deltafunktion darstellen ($F(x,y) = F_0\delta(x,y)$). Die Deformation u_i in Richtung der Achse x_i hat die Form

$$u_i = \sum_{ij} G_{ij}(x,y) F_{i0} \quad (29.1)$$

Dabei ist G_{ij} die Green'sche Funktion der Differentialgleichung des elastischen Gleichgewichts. Da sie zwei Vektoren verknüpft ist G_{ij} ein Tensor aus 9 Komponenten. Man kann die Green'sche Funktion in günstigen Fällen analytisch berechnen. Ein Beispiel ist die Deformation einer Halbebene auf deren Oberfläche eine lokale Kraft angreift [Landau Lifshitz § 8]. In anderen Fällen kann man G_{ij} experimentell bestimmen wie im Fall der Abb.29.1, oder in dem in Abb 29.32 gezeigten Beispiel. Hat man es mit einer beliebigen Verteilungen äußerer Kräfte zu tun, so kann man die Deformation an jeder Stelle durch

Faltung der Green'schen Funktion mit der Kraftverteilung bestimmen, wie wir weiter unten sehen werden.

Abb 29.1 zeigt eine Möglichkeit zur Messung der Green'schen Funktion G_{ij} . Dazu werden super-paramagnetische Kolloide mit Liganden bedeckt, die an spezifische Rezeptoren (z.B. Integrine) binden und auf der Zelle deponiert. Parallel dazu koppelt man auf dieselbe Weise auch möglichst kleine nichtmagnetische Kraftsonden an. Man legt dann Kraftimpulse an und misst die dadurch induzierte Auslenkung als Funktion des Abstandes [Feneberg]. Messungen an Endothelzellen zeigen, dass das Deformationsfeld $u(r)$ in radialer Richtung logarithmisch abfällt:

$$U(r) \approx \frac{F/d}{4\pi\mu} \ln r/r_c \quad (29.2)$$

wobei r_c die Reichweite des Feldes ist und μ ist ein zweidimensionaler elastischer Schermodul der Dimension [Pa m]. Dieses logarithmische Gesetz wird auch theoretisch vorhergesagt.

Abb 29.2 zeigt das Ergebnis eines mikromechanischen Experiments, in dem der Relaxationsmodul $G(t)$ der Hülle der Endothelzellen (die in konfluente Zell-Monoschichten eingebettet waren) bestimmt wurde. Der Relaxationsmodul besitzt eine ähnliche, Form (mit einem Plateau) wie verschlaufte oder leicht vernetzte *in vitro* Aktin Netzwerke (s. §28.), was den Schluss nahe legt, dass man mit dem mikromechanischen Experiment die Elastizität des Aktinkortexes erfasst. Kennt man dessen Dicke d_A , so lässt sich der Young-Modul E nach der Beziehung $E=\mu/d_A$ bestimmen. Die Dicke des Aktinkortexes ist $d_A \sim 0,5 \mu\text{m}$ und daher wird der Schermodul der ruhenden Zelle $E \approx 400\text{Pa}$ [Feneberg]. Der Wert von G_0' ist etwa 200 größer als der 2D **Schermodul der Erythrozyten** und E ist rund tausend mal kleiner als der Schermodul von Kautschuk.

Man kann durch Vergleich der Plateaumodule der Zellen und der *in vitro* Netzwerken auch mehr quantitative Information über die Struktur des Aktinkortexes der Zellen gewinnen, wie folgendes Beispiel zeigt. Benutzt man den in § 24.3 gezeigten Zusammenhang zwischen dem Plateau-Modul G' und der Maschenweite ξ

$$(G'_0 \propto \xi^{14/5}),$$

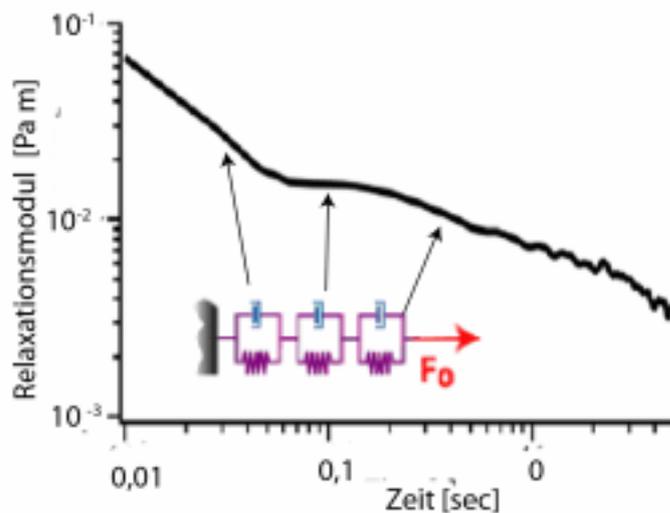
so kann man deren Wert von ξ des natürlichen Aktinnetzwerks abschätzen.

Der Vergleich liefert einen Wert von $\xi \approx 75 \text{ nm}$ (s. [Feneberg] und Aufgabe 29.1??), der gut mit dem durch EM-Untersuchung gewonnenen Wert von $\xi \sim 0,1 \mu\text{m}$ übereinstimmt.

Solche Vergleiche liefern natürlich beim heutigen Stand der Forschung nur grobe Abschätzungen der viskoelastischen Parameter der Zellen. Hinzu kommt das Problem, dass

Zellen extrem heterogen aufgebaut sind. Aber die Beispiele zeigen, dass Zellmechanik ein lohnendes Gebiet der Physik Biologische Materialien ist. Die Situation ist im Übrigen ganz ähnlich wie in der Technik. Auch hier hat man es häufig mit heterogenen aufgebauten Verbundmaterialien zu tun und der Ingenieur ist mit dem Problem konfrontiert, ihre mechanischen Eigenschaften quantitativ zu charakterisieren, um Katastrophen durch Materialermüdung zu vermeiden. Eine sehr scharmante Darstellungen der mechanischen Probleme der Technik findet man indem Buch von J. E. Gordon „Structure :or why things don't fall down“ ,[Gordon]

Der Einsatz in Abb29. 2 zeigt die viskoelastische Antwort der Zelle auf einen kurzen Impuls von 10 s. Die Auslenkung ist reversibel, d.h. die Zellhülle verhält sich auf dieser Zeitskala elastisch. (Die etwas langsamere Relaxation ist ein Artefakt der Messung). Wirkt der Impuls länger so verschiebt sich die Kraftsonde irreversibel, was zeigt, dass die Zelle eine Art mechanisches Kurzzeitgedächtnis von wenigen Sekunden besitzt.



[RelaxModulZeitAFM]

Figure 29.2

Plateau einschreiben

Relaxationsspektren der Hülle der Endothelzellen in ruhenden (nicht aktivierten) Zustand (Zur Ankopplung der magnetischen Pinzetten und der Kraftsonden wurden diese mit **Invasin** beschichtet. Dieses Hüllen-Protein gram negativer Darmbakterien bindet spezifisch an Intergrine des Typs $\alpha\text{I}\beta\text{J}$. Das untere Bild zeigt das einfachste mechanische Äquivalenzmodell aus drei Voigt-Körpern zur Charakterisierung der drei Bereiche. (s. § 26). Der Einsatz zeigt eine durch einen kurzen Impuls von 10 sec induzierte Kriechkurve, und die Relaxation nach

Abschalten des Impulses. Die etwas langsamere Relaxation ist ein Artefakt der Messung.
Nach W. Feneberg et al Biophysical J87,1338-1350 (2004.)

29.2 Messung der Zell Substrat Wechselwirkung durch Kraftfeld-Mikroskopie

Im §28 lernten wir, dass das Zytoskelett nicht nur eine wichtige Rolle bei der mechanischen Stabilisierung der Zellen und als Triebkraft der Zellbewegung spielt, sondern (zusammen mit der Plasmamembran) auch als Mechanosensor fungieren kann. Die Zellen benötigen aber auch Sensoren welche die mechanischen Eigenschaften der Umgebung erfassen. Dabei kann es sich um Oberflächen von Knochen, der Basalmembran der Blutgefäße oder um die dreidimensionale extrazelluläre Matrix wie das Bindegewebe handeln (s. § 23). Zelle und Umgebung bilden ein gekoppeltes mechanisches System (Safran Schwarz]. Damit sich in einem derartigen **Verbund-System** aus so verschiedenen Materialien mechanisches Gleichgewicht einstellen kann, müssen deren mechanische Impedanzen grob übereinstimmen. Dann können die Zelle das mechanische Gleichgewicht durch konzertierte Reorganisation des Zytoskeletts und Modifikation der Struktur des Gewebes fein regulieren. Die Situation ist ähnlich wie die, dem Physiker geläufige Anpassung der elektrischen Impedanzen der Bauelemente in einem elektrischen Schaltkreis.

Diese Anpassung kann (unter gegebenen äußeren Bedingungen) einerseits durch die Reorganisation des Aktin-Zytoskelett erfolgen. Dessen viskoleastische Impedanz kann über viele Größenordnungen variiert werden, z. B. durch Ausbildung von Spannungsfasern oder Mikromuskeln (s. §28). Die Adaption der Struktur des Bindegewebes kann notwendig werden, da dieses (wie das Zytoskelett) ein sehr heterogen aufgebautes Material aus sehr weichen und harten Bereichen ist. Daher können lokal sehr hohe Kräfte auftreten, die zu starken lokalen Spannungen und dadurch bedingtes Materialversagen führen, falls der Organismus nicht gegensteuert. Auch dieses Problem ist in der Technik wohl bekannt. Beispiel findet man wieder in dem Buch von J. E. Gordon [Gordon]. .

Eine besonders interessante Rolle spielt die mechanische Impedanzanpassung möglicherweise bei der Differenzierung der Zellen während der embryonalen Entwicklung. Deponiert man beispielsweise teilungsfähige Stammzellen aus dem Knochenmark auf eine deformierbare Oberfläche und dehnt diese periodisch, so entwickeln die Zellen nach einigen

Tagen typische Eigenschaften von Knochen bildenden Zellen (sog. Osteoblasten) oder Muskelzellen. Genauere Untersuchungen zeigen, dass die Differenzierung mechanische Anregung mit einer Änderung der Genexpression einhergeht. Auch die Bildung von Zell-Monoschichten auf Oberflächen hängt möglicherweise von der Impedanzanpassung ab, da viele Zellen (wie Fibroblasten) bevorzugt (aber nicht ausschließlich) auf Glass oder auf, mit harten Polymerfilmen bedeckten, Festkörpern wachsen [Bishop.Schwarz]. Allerdings gibt es bisher noch keine schlüssigen Experimente, in denen gezeigt wurde, dass die Zellen durch genetische Expression die für die natürlichen Zellen typischen Proteinmuster synthetisiert.

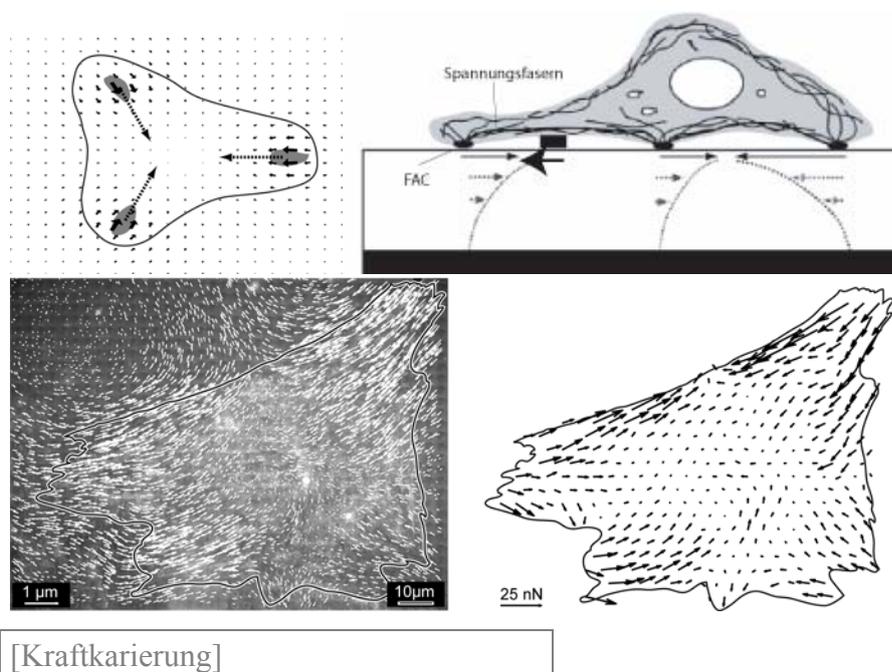
Zur Untersuchung der Fragen, wie Zellen auf mechanische Spannungen im Gewebe reagieren, welche Rolle das Zytoskelett dabei spielt oder ob Zellen Sensoren zur Feststellung der Steifigkeit der Bindegewebes besitzen, bestimmt man die Kräfte zwischen Zellen und Oberflächen mittels **Kraftfeldmikroskopie**. Um das Verhalten der Zellen auf Gewebeoberflächen, wie Knochen oder **Basalmembranen**, nachzuahmen, lässt man die Zellen auf weichen, mit Kollagen bedeckten Oberflächen unterschiedlicher mechanische Steifigkeit wachsen. Die ersten derartigen Messungen. wurden auf weichen Folien aus Silikon durchgeführt [Harris Wild], wobei sich zeigte, dass diese in der Größenordnung von nN liegen.

Moderne Messungen der Kraftübertragung basieren auf der Analyse der durch adhärierende Zellen induzierten Scherdeformation von Polymerkissen mit bekannten elastischen Modulen, die auf transparenten Substraten aufgebaut werden. Es gibt nun zwei Möglichkeiten, die Verteilung der durch die Zelle erzeugten Kräfte auf die Unterlage zu messen. Die einfachste Methode besteht in der Dotierung der Polymerkissen mit statistisch verteilten kolloidalen Sonden, analog zu Abb 28.2 [Dembo] [Merkel]. Wesentlich höherer Auflösungen erzielt man, indem man die Sonden regelmäßig angeordnet. Dazu deponiert man sie in gitterartig angeordneten mikroskopischen Eindellungen, die man durch Strukturierung von etwa 50µm dicken Polymerkissen auf Glass herstellt. Als Material eignet sich z.B. mit Kollagen bedecktes Polyacrylamid, Silikon-Elastomere oder vernetzte Biopolymere wie Hyaluronsäure, deren Youngmodul durch den Grad der Vernetzung eingestellt werden kann.

Die Messung der Absolutwerte der Kräfte erfolgt durch Lösung der Hook'schen Deformationsgleichungen in Analogie zur der oben diskutierten Analyse der Deformation durch Punktkräfte. In diesem Fall entsteht jedoch jede Deformation an einem Ort $\mathbf{r}(x,y)$ durch Überlagerung vieler Punktkräfte an den Positionen Ort $\mathbf{r}'(x',y')$. Sie ist daher durch das Intergal über die Green'sche Funktion bestimmt, das folgende Form hat:

$$u_i = \iint dx' dy' G_{ik}(x-x', y-y', z-z') F_k(x', y') \quad (29.3)$$

Die Green'sche Funktion ist ein Tensor, der für eine Halbebene oder eine Polymerfilm neun Komponenten hat. Diese ist im Wesentlichen durch das in Gl (28.2) definierte Deformationsfeld einer Punktkraft, bestimmt. Man kennt G_{ik} für eine unendlich dicke Schicht (s. [Landau] Vol.VII, § 8) und für Filme endlicher Dicke [Merkel]. Mit diesen Funktionen lässt sich das Kraftfeld aus dem Deformationsfeld zurückrechnen. Dies ist ein klassisches inverses Problem, das jedoch nur numerisch lösbar ist. Dazu wurden spezielle Algorithmen entwickelt, die der interessierte Leser in der Spezialliteratur findet [Dembo], [Butler] [Schwarz].



[Kraftkartierung]

Figure 29.3

(ehem. Abb. 29.4)

Methode der Kraftkartierung. a) Illustration der Methode. Eine Zelle (schwarzer Umriss) wird auf einem weichen Polymerkissen kultiviert und übt in bestimmten Bereichen (graue Fläche) Kräfte (gestrichelte Pfeile) auf diese Unterlage aus. Gemäß Gleichung 29.1 führen diese Kräfte zu einer Deformation der Unterlage (schwarze Pfeile), die von den Bereichen der Kraftanwendung ausgeht und über diese hinausreicht.

b) Links: Mittels RICM (siehe §3) aufgenommene Bindegewebszelle (Fibroblast) aus dem Rattenherzen, die auf einem mikrostrukturierten Polymerkissen mit einem Elastizitätsmodul von 16 kPa kultiviert wurde. Die weißen Pfeile zeigen die Verschiebungen der

Mikrostrukturen an der Oberfläche des Polymerkissens an, die durch tangentialen Kräfte der Zelle auf die Oberfläche induziert werden. Das rechte Bild zeigt die aus den Verschiebungsvektoren gewonnenen lokalen Kräfte. Das Kraftmuster zeigt eine zentripetalen Kontraktion der Zelle in Querrichtung an. Daten aus Merkel et al. *Biophysical Journal* **93**, 3314-3323 (2007).

c) Seitenansicht der adhärierenden Zellen mit drei Fokalen Adhäsionskomplexen (FACS). mit Illustration der Ausbildung von Spannungsfasern, die zu dipolaren elastischen Spannungsfeldern führen.

Abb. 28.4a zeigt die Verteilung der Kräfte die ein auf einem Polymerkissen adhärrender Fibroblasten auf diese ausübt. Die tangentialen Kräfte auf die Unterlage gehen von den Adhäsionsdomänen aus und sind im Mittel zum Zentrum der Zelle hin gerichtet. Möglicherweise zieht die Zelle an dem Polymerkissen, an den Stellen an denen sie fixiert ist, da sie sich nicht im natürlichen Zustand befindet, in dem sie eine mehr sphärische Form annimmt. Die Kräfte sorgen für eine Abflachung der Zellen. Auf elastisch anisotropen Polymerkissen nehmen die Zellen eine gestreckte Form an. Sie orientieren sich mit der Längsachse in Richtung größerer Steifigkeit (s. [Bishop, Schwarz]).

Man kann das Verhalten auf der Basis einer linearen Elastizitätstheorie verstehen wenn man annimmt, dass die Spannungsfasern wie Federn wirken, deren Stärke von der lokalen Elastizität des Unterlage abhängt (s. [Bishop Schwarz] und Abb 29.5). Wie Abb.29.4 zeigt erzeugt die Zelle lokale Kräfte von einigen nN. Über die Struktur der Motoren welche Kräfte dieser Größe erzeugen wird noch spekuliert. Eine Annahme ist, dass es sich um [Actin-Myosin Bündel handelt](#) .

Hinweise für diese Hypothese brachten Experimente mit der oben beschriebenen Methode der Kraftfeld-Kartierung [Balaban Geiger]. In diesen wurde die Kraft auf fingerartige Auswüchse. durch Anwendung des Federmodells bestimmt. Nach Zugabe von Pharmaka, welche die Aktivität der Myosin II Motoren gezielt inhibieren relaxierte die Kraft Spannungen nach etwa 100 sec. Man kann neben den Kräften auch die Fläche der Adhäsionsdomänen durch Mikrofluoreszenz abschätzen indem man diese mit GFP-markiertem **Vinculin** dotiert. Vinculin ist ein notwendiger Bestandteil der Adhäsionskomplexe und seine Verteilung an der Innenseite der adhärierenden Membran reflektiert die laterale Ausdehnung der Domänen. Es zeigte sich nun, dass die Zugkräfte (F) grob proportional zur Fläche der Domänen sind, d.h. der Beitrag der einzelnen Elemente des

Aktin-Myosin Bündel ist additiv. Außerdem wachsen die Domänen mit zunehmender Kraft und es liegt daher nahe dass die Domänen als **Spannungssensoren der Zelle** wirken. Der Wert der Spannung für Fibroblasten ist $\delta F/\delta A_{FAD} \approx 5 \cdot 10^3 \text{ N/ m}^2$ [Balan][Franzosen] und liegt im Bereich der in Abb. 29.4 gezeigten Messung. Es sind sicher noch viele Experimente notwendig, um diese Ergebnisse zu überprüfen

Am Ende der Diskussion der Kraftfeldmikroskopie ist noch folgende Bemerkung angebracht Experimente mit Zellen auf Oberflächen sind mit großer Vorsicht zu interpretieren. Viele sensitive Zellen, wie Endothelzellen, besitzen unter diesen Bedingungen nur eine Lebensdauer von wenigen Stunden und sterben dann ab, auch wenn die Oberflächen biokompatibel sind. In weicher dreidimensionaler Umgebung wie einem Kollagenetzwerk leben die Zellen wesentlich länger. Ein nächster notwendiger Schritt muss daher die Entwicklung von Methoden sein mit denen Kräfte in dreidimensionalen Netzwerken kartiert werden können.

Man sollte auch vermeiden das Bild der Rolle der Mechanik als Regulator des Verhaltens der Zelle in Organen überzustrapazieren, denn mechanische Kräfte und biochemische Störungen rufen oft ähnliche Effekte hervor. Wie in §28 gezeigt wurde, induzieren sowohl Histidin als auch mechanische Scherkräfte die Bildung von Spannungsfasern, wahrscheinlich weil die Wirkung beider Störungen über die GTPasen der Rho-Familie vermittelt wird. Die entscheidende Frage ist daher, wie mechanische Kräfte registriert werden und wie sie die intrazellulären Signalsysteme steuern. Dies lässt sich beispielsweise am Beispiel der Rolle der **Osteoplasten** bei der **Knochenbildung**. (s. Glossar)illustrieren . Diese Zellen halten sich in den porösen Bereich der Knochen auf und unterliegen variablen äußeren Kräften während der Belastung der Knochen. Nach einem, bei den Physiologen als Wolff'sches Gesetz bekannten, Prinzip, wird die Knochenbildung durch die Belastung gesteuert. Neuere Experimente zeigen, dass die Osteoblasten auf die Kräfte reagieren in dem sie proportional zur Belastung, die genetische Expression des Proteins Osteopontin aktivieren. Diese bildet eine der weichen Grundsubstanz der Knochen, an der sich das Knochen bildende Biomineral Hydroxylapatit, abgelagert. Dieses Experiment zeigt, dass die mechanischen Kräfte spezifische Wirkungen ausüben und dass eine zentrale Fragen die nach den Zusammenhänge zwischen den Kräfte und en durch diese ausgelösten intrazellulären Prozesse ist [K. Terai et al]

29.3 Globale mechanische Stabilisierung der Zellen –Ein Epilog

Der folgende Absatz ist mehr als Ausblick gedacht und sollte den Leser zum Nachdenken über ein faszinierendes Problem der Biologischen Physik anregen.

Wir haben zahlreiche Beispiele kennen gelernt die zeigen, dass Zellen mechanische Kräfte fühlen und auf diese durch Stimulation intrazellulärer Signalkaskaden reagieren. Das Verhalten dieser so extrem komplex aufgebauten Körper unter mechanischer Beanspruchung ist unglaublich subtil und es gibt keine anderen bekannten Körper die ähnliches leisten. Sie können extrem stark deformiert werden (wie die Blutzellen oder Fibroblasten) ohne sichtbare Zeichen der Zerstörung. Zellen verhalten sich global wie ideale viskoelastische Körper, die auch nach sehr starken Deformationen stets wieder in ihre charakteristische Gleichgewichtsform relaxieren. Ein besonders schönes Beispiel für dieses Verhalten sind die Erythrozyten, wie wir in §11 sahen. Dies besagt aber nicht, dass Zellen elastische Körper im strengen Sinne sind, sondern, dass sie eine Art Gedächtnis an diese Grundform besitzen, in die sie wieder aktiv, d.h. unter Aufwand von Energie, zurückkehren können.

Wie wir in §11 sahen, ist bei den Erythrozyten die Grundform durch die Bedingung bestimmt, dass sie Minimalfläche der Biegeenergie sind. Für Zellen mit intrazellulärem Zytoskelett ist die Situation wesentlich komplizierter. Es gibt aber auch bei diesen Hinweise, auf universelles viskoelastisches Verhalten. So zeigt sich, dass ihre Relaxationsspektren über rund drei Größenordnungen der Frequenz einem universellen Potenzgesetz der Form

$$G(\omega) \propto \nu^\alpha$$

gehörten. Daraus wird oft geschlossen, dass sich Zellen viskoelastisch wie Gläsern verhalten (s. [Kroy] [Butler]). Dieses Bild ist physikalisch interessant. Es ist aber nicht unbedingt hilfreich, da es uns keine Handhabe gibt mechanische Parameter mit der Mikroarchitektur der Zellen zu korrelieren. Andererseits sahen wir in Abb. 28.2, daß die viskoelastische Impedanz der Zellhülle durchaus charakteristische Züge leicht verknoteter Aktinnetzwerke aufweisen

Die quantitativen mikromechanischen Experimente zeigen, dass die Zellen erstaunliche robust gegenüber Mutationsbedingten Veränderungen der Zusammensetzung des Zytoskeletts sind. Entfernt man beispielsweise Myosin II aus Dictyostelium Zellen, so ändert sich ihr Verhalten kaum. Sie besitzen sogar noch die Fähigkeit zur Teilung. Man beobachtet allerdings eine erhebliche Zunahme der interzellulären Viskosität [Heinrich]. Ein möglicher Grund für dieses robuste Verhalten ist die Redundanz der viskoelastischen Eigenschaften. Man kann dieselben Impedanzspektren über weite Bereiche der Frequenz durch Einstellung

der Maschenweite, der Filamentlänge oder des Grads der Vernetzung einstellen wie wir in §28 sahen.

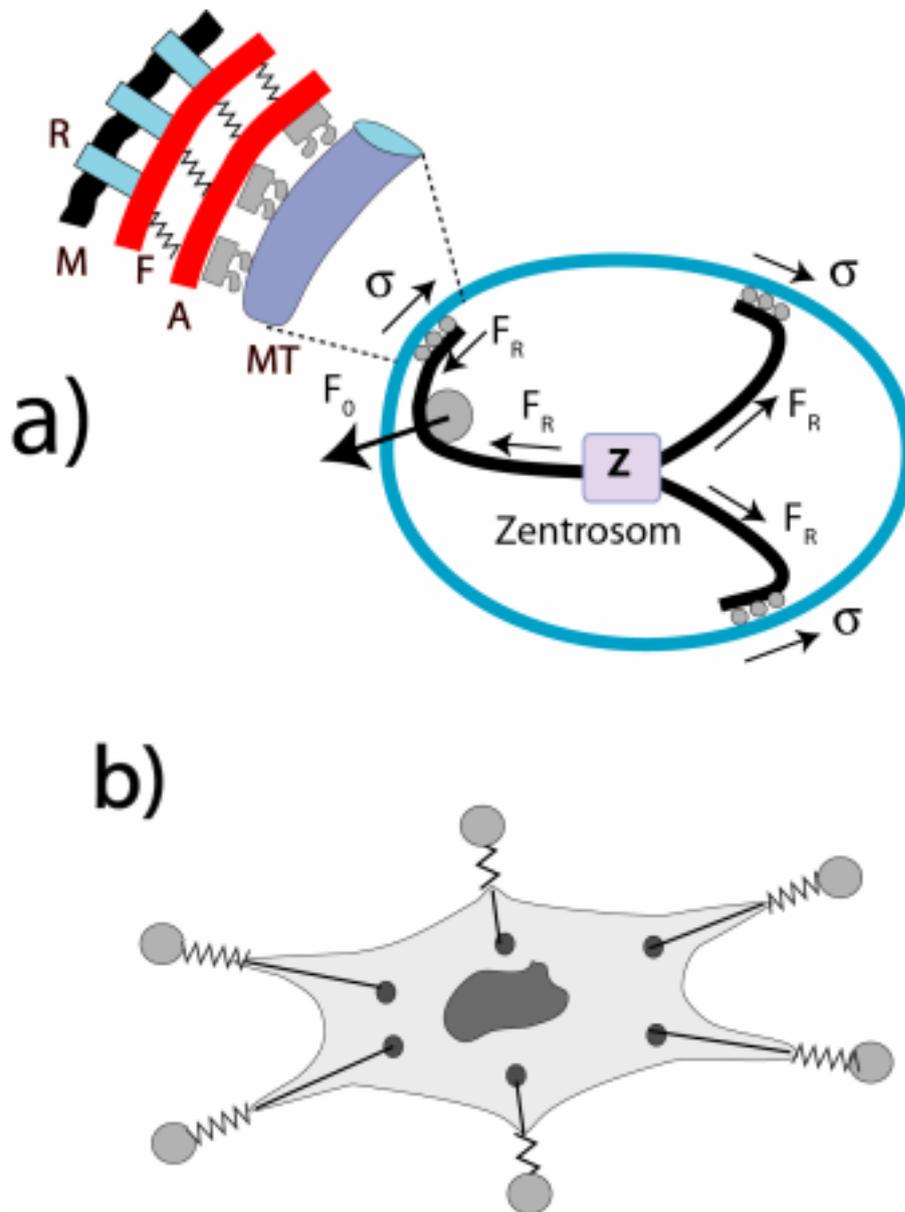
Mikromechanische Untersuchungen des zytoplasmatischen Raumes zeigen, dass dieser sich (im Gegensatz zur Zellhülle) häufig wie ein viskoplastischer Körper verhält [Heinrich]. Er kann den Zellen also keine elastische Stabilität verleihen. Dies gilt besonders für Dictyostelium-Zellen, welche keine Intermediärfilamente besitzen. Tatsächlich kann man sich die Zelle als einen Körper vorzustellen, der aus dem plastischen zytoplasmatischen Raum und einer viskoelastischen Schale zusammengesetzt ist. Die Verbindung zwischen den Körpern wird durch die Mikrotubuli hergestellt. Die Mikrotubuli können nur tangentialen Spannungen, aber wegen ihrer geringen Biegeelastizität und der kleinen Knickkraft (engl buckling force) von 10 pN keine Drehmomente übertragen. Sie sind (wie Seile) auch gegen Stauchungen instabil. Die mechanische Stabilität der Zellen kann durch aktive Kopplung der sternartigen Anordnung der Mikrotubuli an den Aktinkortex vermittelt zu werden (s. Abb. 29.6 und [Heinrich]).

Die Frage der Kopplung der beiden Netzwerke ist noch weitgehend offen, obwohl es eine Reihe von Hinweisen darauf gibt. Diese Kopplung äußert sich beispielsweise in einer lokalen Zitterbewegung der Zentrosomen, die gelegentlich in oszillatorische Bewegungen übergehen können [Jülicher Grill]. Aktin-Myosin Motoren spielen eine wichtige Rolle bei Positionierung der beiden Spindeln am Ende der Zellteilung, indem sie helfen (zusammen mit MT und den assoziierten Motoren) die beiden neu entstandenen Zentrosomen auseinander zu ziehen ([Japan].[Jülicher Grill]) und in die Endposition bringen. Man beobachtet auch schnelle fluktuierende Bewegungen der MT entlang des Kortexes, die möglicherweise über diese Kopplung angetrieben werden [Heinrich]. Die Aktin-MT-Kopplung kann durch Dynactin vermittelt werden. Eine Zusammenstellung anderer potentieller Aktin-MT Vernetzer findet man in [Rodriges]).

Die mechanische Stabilisierung der weichen Zellen (wie Amöben und Blutzellen) durch Zusammenwirken der elastischen Aktinschale und den nur Spannungen übertragenden Mikrotubuli erinnert ein wenig an die berühmten Konstruktionen des Architekten Buckminster Fuller, eine erstmals von D. Ingber propagierte Idee [Ingber et al]. Diese sogenannten **Tensegrity** Strukturen bestehen aus elastischen Stäben, die durch Seile verbunden sind, welche nur Spannung übertragen können. Das Wort ist ein Konstrukt aus den englischen Wörtern **tensional integrity**. Durch geeignete Vorspannung der Seile stabilisieren sich diese

Konstruktionen von selbst. Ein Vorteil solcher Konstruktionen ist, dass sie Drehmomenten durch Deformation ausweichen können. Man könnte daher nach diesem Prinzip sehr große domförmige Hallen bauen, die auch sehr starken Stürmen standhalten könnten ohne umzufallen. Das Dach des Münchner Olympiastadions wurde nach diesen Ideen konstruiert. Auf den stimulierenden Einfluss der Ideen von Buckminster Fuller auf die Biophysik werden wir auch nochmals in §35 kommen.

In der Zelle übernehmen die Mikrotubuli die Rolle der Seile und der Kortex die der Stäbe. Die Stabilität wird durch Verankerung der MT am Zentrosom und am Aktinkortex vermittelt, so dass eine sehr starke Spannung in einem der Mikrotubuli durch die in den anderen Filamenten induzierte Gegenspannungen kompensiert werden kann. Die Zelle kann so auf Kraftsprünge erstaunlich schnell (innerhalb ~0,2 sec) reagieren. Der Vorteil einer solchen Konstruktion liegt darin, dass der Innenaum weich gestaltet werden kann, um den intrazellulären Transport zu erleichtern, während die Schale für die mechanische Stabilität sorgt.



[ZentroMechStabil]

Figure 29.4

(ehem. Abb 29.6)

Mechanische Stabilisierung der Zellen mit viskoplastischem zytoplasmatischen Raum durch aktive Kopplung der Mikrotubuli an den Aktinkortex. Das System der Mikrotubuli ist mechanisch über das Zentrosom miteinander gekoppelt, kann aber nur Zugkräfte übertragen. Die mechanische Stabilität erhält die Zelle durch aktive Kopplung der MT an den viskoelastischen Aktinkortex. Diese könnte durch den Motorkomplex Dynactin (DA) oder andere Vernetzer vermittelt werden. Der Einsatz links oben zeigt ein Modell der Kopplung der MT an die Aktinfilamente (A). Diese werden über Talin und möglicherweise auch Myosin-I Motoren an die Zellrezeptoren (R) der Membran (M) gekoppelt. Bei den Federn (F)

könnte es sich auch um MyosinII-Bündel handeln die sehr große tangentialen Kräfte erzeugen können. (Bild nach [Heinrich])

b) Orientierung der Zellen in Richtung maximaler Steifigkeit des Substrats. Diese wird durch Federn unterschiedlicher Federkonstanten repräsentiert. Die externen Kräfte werden durch Spannungsfasern kompensiert (nach I. Bischofs und U. Schwarz Proc. Natl. Acad. Sci. USA **100**,9274-9279).