

Abb. 32.1 Grobstruktur des Ohres. Aufbau aus Außen-, Mittel- und Innenohr. Das Außenohr verdoppelt die akustischen Signale und hilft uns beim Richtungshören. Im Mittelohr erfolgt eine Impedanzenanpassung bei der Übertragung der Schallwellen von Luft auf die Lympflüssigkeit des Innenohrs. Die mechanische Erregung wird vom Trommelfell durch die Gehörknöchelchen über das ovale Fenster (OF) auf die Flüssigkeit des Innenohrs übertragen und kehrt durch das runde Fenster in die Eustachische Röhre zurück. Der

Einsatz oben im Bild zeigt die mechanische Übertragung durch das Hebelsystem aus Hammer, Amboss und Steigbügel. Die gegebenen Doppelpfeile zeigen die Bewegung des Trommelfells und des Steigbügels an. Die drei Bogengänge bilden das Gleichgewichtssystem. Bemerkenswert ist die Verbindung der Cochlea mit dem Gleichgewichtsorgan aus den drei aufeinander senkrecht stehenden Bogengängen zur Kontrolle des Gleichgewichts bezüglich der drei Raumrichtungen.

die folgende Betrachtung zeigt. Der Schallwellen-Widerstand ist gleich dem Produkt aus der Materialdichte ρ und der Schallgeschwindigkeit c (s. Anhang 33.A):

$$Z = \rho c \quad (32.1a)$$

Das Reflexionsvermögen R des Schalls an einer Grenzfläche (definiert als Verhältnis zwischen reflektierter und einfallender Schallenergie) ist:

$$R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad (32.1b)$$

Für Luft ($\rho \approx 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ g cm}^{-3}$, $c \approx 340 \text{ msec}^{-1}$) ist $Z_{\text{Luft}} \approx 50 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ und für die Lympflüssigkeit ($\rho \approx 1 \text{ g cm}^{-3}$, $c \approx 10^3 \text{ msec}^{-1}$) $Z_{\text{Ly}} \approx 2 \cdot 10^5 \text{ g cm}^{-2} \text{ sec}^{-1}$.

Damit würde fast die gesamte einfallende Schallintensität reflektiert. Die Impedanzanpassung erfolgt auf zwei Weisen. Erstens durch Erhöhung des Schalldruckes am ovalen Fenster, und zwar aufgrund der Reduktion der Fläche von $A_{TF} \approx 55 \text{ mm}^2$ am Trommelfell auf $A_{OF} = 3,2 \text{ mm}^2$ am ovalen Fenster. Zweitens durch die Hebelwirkung des Knöchelsystems aus Hammer-Amboss-Steigbügel (engl. *stapes*). Unter der Annahme der Inkompressibilität der Luft in der Eustachischen Röhre und der Endolymphe bringt der erste Mechanismus eine Druckerhöhung um den Faktor 17 und der zweite um einen Faktor von 1,3. Insgesamt resultiert so eine 22-fache Druckerhöhung. Dies entspricht einer wirksamen Impedanz der Cochlea von $Z = 200$, wodurch das Reflexionsvermögen auf 40% reduziert wird.

Die Gehörknöchelchen gehören zu den kleinsten Knochen des Menschen. Sie traten in der Evolution erstmals bei den Amphibientieren auf (die in der Regel allerdings nur einen Steigbügel haben) und man nimmt an, dass sie aus den Kiemen der Fische entstanden sind.

32.1.2

Die Ohrmuschel als erstes Element der Informationsverarbeitung

Die Ohrmuschel des Menschen ist nicht nur ein simpler Schalltrichter, sondern sie erfüllt auch eine wichtige Funktion bei der akustischen Informationsverarbeitung. Dies ist eine neue Erkenntnis [2]), denn rund 100 Jahre hielt sich das Fehlurteil Darwins, dass die (in Abb. 32.2a gezeigten) komplexen Vertiefungen der Ohrmuschel ohne physiologische Bedeutung seien. Die Topologie der Ohrmuschel wird bestimmt durch den äußeren Wulst und die bogenförmige Einbuchtung, die zum Mittelohr führt. Der Wulst bildet einen Schallteiler, der den einfal-

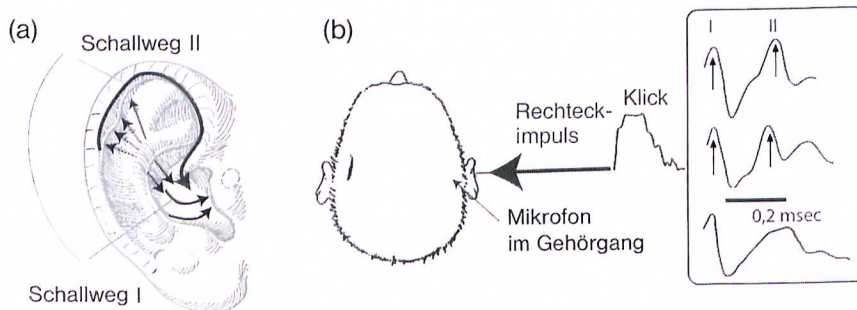


Abb. 32.2 (a) Zur Vorverarbeitung akustischer Signal durch die Topologie der Ohrmuschel. Abgesehen von individuellen Unterschieden ist die Verteilung der Höhen und Tiefen der Muschel bei allen Menschen sehr ähnlich. Die Pfeile zeigen zwei Schallwege I und II. Sie unterscheiden sich um 6,6 cm, was (bei $c \approx 330 \text{ m/sec}$) einer Zeitdifferenz von $2 \cdot 10^{-4} \text{ sec}$ entspricht. (b) Messung

des Schalls im Mittelohr mittels Miniaturmikrofon nach Erregung mit einem Impuls (Klick). Die oberen beiden Spuren zeigen, dass zwei Impulse im Abstand von 0,2 msec bei zwei Probanden ankommen. Die untere Spur zeigt die verzerrte Antwort, wenn die Unebenheiten mit Wachs ausgeschmiert werden. (Nach Burchard et al. [2].)

lenden Schall in zwei Komponenten aufspaltet. Wie die Pfeile in Abbildung 32.2a anzeigen, werden die beiden Komponenten auf verschiedenen langen Wegen (LI und LII) zum Innenohr geleitet.

Man kann diese Schallverdopplung direkt messen, indem man ein Miniaturmikrofon in den äußeren Gehörgang bringt. Wie Abbildung 32.2b zeigt, erzeugt jeder akustische Impuls zwei aufeinander folgende Antworten im Mittelohr. Glättet man die Unebenheiten der Ohrmuschel (mit Wachs), so werden die zwei Impulse weitgehend ausgeschmiert.

Die Schallverdopplung spielt eine wichtige Rolle für das Richtungshören sowohl in horizontaler als auch in vertikaler Richtung (s. [2]). Aufgrund der Schallverdopplung besitzt der Mensch effektiv vier Ohren: zwei etwas höher (LII) und zwei etwas tiefer (LI) sitzende. Bei Tieren ohne Ohrmuscheln, wie der Schleiereule, sitzen beide Ohröffnungen unterschiedlich hoch am Schädel, was für die These der Ohrmuschel als Schallverdoppler spricht.

32.1.3

Das Ohr ist ein aktiver Schallsender

Die ersten systematischen Experimente zur Physik der Hörsinns gehen auf H. von Helmholtz zurück [3]. Er zeigte, dass hohe Töne in der Nähe des ovalen Fensters und tiefe in an der Spitze der Cochlea registriert werden. Er schloss aus seinen Beobachtungen, dass die Basilarmembran aus einer lineare Anordnung von Stimmgabeln mit verschiedenen Eigenfrequenzen besteht und somit wie ein passives Filter wirkt. Auch die im nächsten Abschnitt beschriebenen Arbeiten von G. von Békésy änderten an dieser Ansicht nichts. Erst die überraschende Entdeckung der aktiven Emission von Echosignalen durch die Cochlea nach einer impulsartigen akustischen Anregung änderte die Situation (Abb. 32.3 und [4]). Die Entdeckung dieser akustischen Emission zeigte erstmals, dass das Gehör ein nichtlinearer akustischer Empfänger ist, der als selbsterregender Oszillator arbeiten kann. Sie lieferte Hinweise darauf, dass das Innenohr externe Signale in interaktiver Weise verstärken und verarbeiten kann. Mit einiger Verzögerung hat die

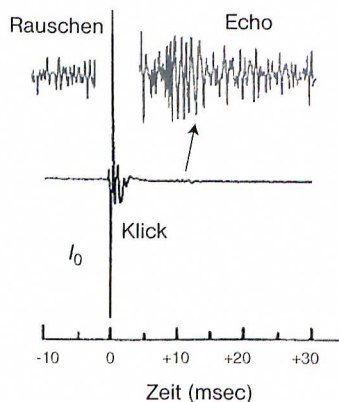


Abb. 32.3 Stimulierte akustische Emission des Innenohrs des Menschen nach einem akustischen Impuls I_0 (Originale Messkurve von D.T. Kemp [4]). Die Spur links oben im Bild zeigt das normale Rauschen und die Spur rechts die Überlagerung des Signals und des Rauschens.

Entdeckung zahlreiche Untersuchungen stimuliert, die zeigten, dass der Hörsinn zu den raffiniertesten und empfindlichsten Sensorsystemen gehört, welche die Natur erfunden hat. Wie oben erwähnt, ist das Gehör in einer späten Phase der Evolution entstanden, möglicherweise parallel mit der Entwicklung des ZNS.

Hinweise auf das nichtlineare Verhalten des Ohrs gab es allerdings schon lange durch die Beobachtungen an Musikern mit geschultem Ohr. Sie lehrten, dass man beim Hören zweier Töne der Frequenz $\nu_1 > \nu_2$ auch stets die Differenz-Töne ($\nu_1 - \nu_2$, $2\nu_1 - \nu_2$ etc.) hören kann. Das Phänomen wird nach seinem Entdecker, dem zwischen 1692 und 1770 lebenden Geiger G.A. Tartini, *Tartini-Effekt* genannt.

32.2

Struktur und Funktion des Innenohres

Das Innenohr ist in einen sehr harten Knochen, das Felsbein, eingelagert. Es besteht im Wesentlichen aus dem in Abbildung 32.4a gezeigten Schneckengehäuse (der Cochlea). Beim Menschen besitzt es $2 \frac{1}{2}$ Windungen und ist ca. 35 mm lang. Der Hohlraum der Schnecke wird durch zwei Wände, die Basilarmembran und die Reissnersche Membran, in drei Räume geteilt: die *Scala vestibuli* (SV), die *Scala tympani* (ST) und die *Scala media* (SM). Ersterer steht über das ovale Fenster und die Gehörknöchelchen mit dem Mittelohr in Verbindung, während die Verbindung mit der Scala tympani über das runde Fenster erfolgt. Die drei Räume sind mit spezifischen Körperflüssigkeiten (sog. Lymphe) gefüllt, deren unterschiedliche Ionen-Zusammensetzung für die Ausbildung der elektrischen Potenziale der Zellen sehr wichtig ist, wie wir noch sehen werden. Die Lymphflüssigkeit wird aus der Körperflüssigkeit gebildet und ihre Zusammensetzung wird daher laufend kontrolliert. Die Gesamtheit aus Basilar-, Tektorial- und Reissnerscher Membran bezeichnet man auch als Cochlea-Teilung (engl. *cochlea partition*), da sie die beiden Räume, in welche der Schall ein- und austritt, trennt.

Der eigentliche mechanische Rezeptor ist das *Cortische Organ* (nach dem Anatomen Alfonso Corti benannt). Es sitzt auf der Basilarmembran (BM) und erstreckt sich wie diese durch das ganze Labyrinth der Cochlea. Einen vergrößerten

Das mit der Cochlea verbundene *Gleichgewichtsorgan* (Vestibularapparat) dient zur Messung von Beschleunigungen oder der Schwerkraft. Es besteht aus den drei mit Lymphe gefüllten Bögen. Auch hier dienen Haarzellen als eigentliche Sensoren, die elektrische Signale an das ZNS senden. Die Anordnung der Haarzellen in drei zueinander senkrecht orientierten Bögen ermöglicht die Kraftmessung in die drei Raumrichtungen. Die Sinneszellen registrieren die

Trägheitskräfte über kleine Festkörper (Statolithen), die auf den Cilien liegen. Bei Drehbewegungen (z. B. beim Karussell fahren) wird über die Trägheitskraft eine Scherkraft auf die Cilien ausgeübt, welche zur Verbiegung der Haare führt. Die Umsetzung dieser Deformation in elektrische Signale an das Gehirn erfolgt wahrscheinlich nach demselben Mechanismus wie im Fall der Haarzellen des Innenohrs.

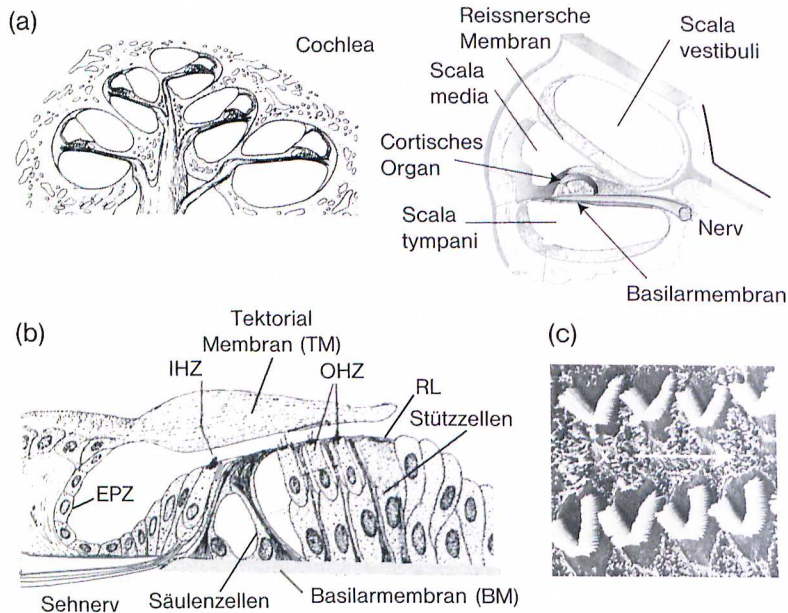


Abb. 32.4 Zur Anatomie des Innenohres. (a) Schnitt durch das Schneckengehäuse (Cochlea) des Innenohres (links oben) und Vergrößerung eines Querschnittes (rechts). Man erkennt deutlich die Trennung in die drei Räume Scala vestibuli, Scala media, Scala tympani. Das Cortische Organ, der eigentliche Rezeptor für das akustische Signal, sitzt auf der Basilarmembran, die sich zwischen den Wänden der Cochlae erstreckt. (b) Schematische Struktur des Cortischen Organs mit den zwei Gruppen von Sinneszellen: den äußerer Haarzellen (OHZ, mit O für engl. *outer*) und den inneren Haarzellen (IHZ). Die drei Reihen von OHZ sitzen auf Stützzellen (sog. *Deitersche Zellen*), die eine

viskoelastische Kopplung zwischen den OHZ und der BM vermitteln. Die Haare der Sinneszellen stehen mit der Tektorialmembran in Kontakt. Die OHZ und die inneren Haarzellen (IHZ) sind durch zwei Reihen steifer Zellen (die Säulenzellen) von einander getrennt. Eine plattartige Ausstülpung der rechten Säulenzellen (die sog. Retikuläre Lamina, RL) vermittelt eine steife mechanische Kopplung mit den OHZ. Diese ist für die Verstärkung der mechanischen Anregung der BM durch die OHZ sehr wichtig (s. Kapitel 33). (c) Elektronenmikroskopische Aufnahme eines kleinen Ausschnitts der Doppelreihe aus OHZ, welche sich über die ganze Länge der Basilarmembran (in x -Richtung) erstreckt.

Ausschnitt zeigt Abbildung 32.3b. Die Basilarmembran ist einige Millimeter lang (z. B. 5 mm bei Küken, 35 mm beim Menschen und 60 mm beim Elefanten). Sie besteht aus senkrecht zur Längsachse angeordneten Fasern und ist mit den Seitenrändern an der festen Wand der Cochlea verankert. Ihre Breite (im Fall des Menschen von 0,1 mm bis 0,05 mm) nimmt vom Steigbügel zur Spitze zu, während gleichzeitig die Dicke in dieser Richtung abnimmt. Aus diesem Grund nimmt die Steifheit der Membran vom Steigbügel bis zur Spitze um etwa den Faktor 500 zu. Dies bestimmt die Frequenzauflösung des Gehörs, wie wir weiter unten sehen werden. Die Spitzen der längsten Stereovili tauchen leicht in die Unterseite der Tektorialmembran (TM) ein und vermitteln so eine mechanische

Kopplung zwischen der BM und der TM. Die TM ist ebenfalls aus Fasern aufgebaut, wobei Kollagene und Glykoproteine die Hauptkomponenten sind.

Die Umsetzung der mechanischen in elektrische Signale erfolgt in den Haarzellen, die auf dem Rücken des Cortischen Organs sitzen. Die Cochlea des Menschen besitzt ca. 15 000 solcher Sinneszellen (Feinstruktur s. Abb. 32.5). Davon gehören zwei Drittel zu den äußeren Haarzellen (OHZ), die in drei Reihen angeordnet sind (von denen zwei in Abb. 32.4c gezeigt werden), während das restliche Drittel der inneren Haarzellen (IHZ) in einer Reihe angeordnet sind. Die unterschiedlichen Funktionen der zwei Gruppen von Zellen werden wir unten ausführlich darstellen. Das besondere Merkmal der Haarzellen sind die aus der Oberfläche ragenden und zur Tectorialmembran zeigenden Stereovilli. Diese (ca. 50–300 pro Zelle) sind v-förmig um ein Zentrum angeordnet.

Die Haarzellen (HZ) sind eng mit einer Anordnung aus so genannten Stützzellen (SZ) verbunden. Diese bilden zusammen mit den Säulenzellen und den Epithelzellen (EPZ) ein geschlossenes Epithelium, wodurch die unteren (basale) und oberen (apikale) Enden der Haarzellen mit verschiedenen Elektrolyten in Verbindung stehen. Wie wir noch sehen werden, spielt dies für den Aufbau des Membranpotenzials eine sehr wichtige Rolle. Auch die Scala media und die Scala tympani sind durch Schichten von Endothelzellen von der Umgebung elektrisch isoliert.

Die Kopplung zwischen den Sinneszellen und dem Gehirn erfolgt über *afferente Nerven* (welche Signale zum Zentralen Nervensystem ZNS leiten) und *efferenten Nervenfasern* (welche Signale vom ZNS zu den Haarzellen leiten). Beide Arten von Nervenleitern sind in dem Sehnerv vereint (s. dazu auch [1]).

32.3

Zur neuronalen Organisation und Verarbeitung des Hörens

Im Folgenden werden einige wesentliche Eigenschaften der neuronalen Verarbeitung der akustischen Information zusammengefasst. Die 15 000 Sinneszellen beim Menschen stehen mit rund 30 000 Neuronen in Kontakt (Abb. 32.5). Diese Nerven haben außerhalb der Cochlea eine Myelin-Hülle, die sie beim Eintritt in diese verlieren.

Jede IHZ tritt mit ca. 20 unabhängigen, afferenten Neuronen in Kontakt, welche die Information an das ZNS bis in den auditiven Kortex leiten. Es gibt aber nur relativ wenige vom ZNS kommende efferente Neuronen (300–500). Diese verzweigen sich im Cortischen Organ, wobei 90 % der Synapsen an die OHZ koppeln und der Rest mit den inneren Haarzellen in Kontakt tritt (s. [1, 5]). Die meiste vom ZNS kommende Information geht daher wahrscheinlich zu den OHZ.

Wie Abbildung 32.4b zeigt, erfolgen der Transfer und die Verarbeitung der Information in mehreren Stufen, wobei die afferenten Hörnerven mehrfach in spezifischen Zentren "umgeschaltet" werden. Die bewusste Verarbeitung der akustischen Information erfolgt wie beim Sehvorgang erst im auditiven Kortex. Die Vorstufen dienen vorwiegend der schnellen Analyse derjenigen Signale, die eine reflexartige Reaktion erfordern (siehe [1, 6]).

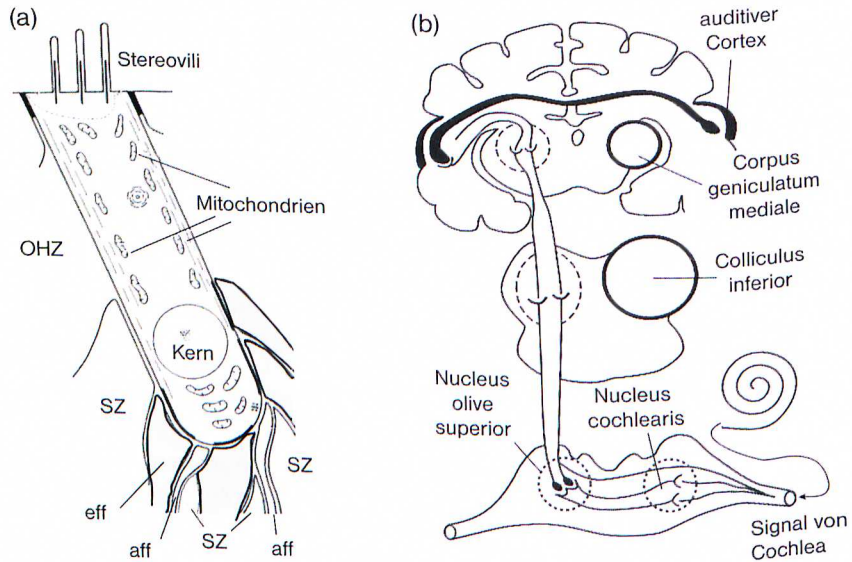


Abb. 32.5 Zur neuronalen Verarbeitung der akustischen Signale. (a) Aufbau einer äußeren Haarzelle (OHZ). Das basale Ende der Zellen koppelt über Synapsen (SZ) an afferente (aff) und efferente (eff) Nervenleiter. Erstere leiten die akustische Information von den Haarzellen zum ZNS, letztere vom ZNS zu den Haarzellen. Die Kopplung der Nervenfasern an die Haarzelle erfolgt über chemisch aktivierte Synapsen (bezüglich Details siehe Kapitel 14 und [9]). (b) Stark vereinfachte, schematische Darstellung der stufenartigen Verarbeitung der akustischen Information im ZNS. Zu jeder gezeigten Leiterbahn und jeder Zwischenstation gibt es ein Gegenstück auf

der gegenüberliegenden Seite des Schnittes. Der Hörsinn ist vorwiegend contralateral organisiert, d. h. die Informationsverarbeitung im ZNS erfolgt vor allem auf der Seite des Gehirns, die dem aufnehmenden Ohr gegenüberliegt. Ein Teil der Signale läuft vom Nucleus olivae superior aus auch auf die gleiche (isolaterale) Seite. Die wesentlichen Zentren der Verknüpfung sind: Nucleus cochlearis, Nucleus olivae superior, Nucleus lemnisci lateralis, Colliculus inferior, Corpus geniculatum mediale. Der Ort der bewussten Informationsverarbeitung ist der *auditive Cortex*.

32.4

Über den dynamischen Bereich und die Frequenzcharakteristik des Hörsinns

Das Hörempfinden gilt als ein wichtiges Beispiel für das rund 150 Jahre alte Gesetz von E. Weber und G. Fechner über den Zusammenhang zwischen einem physikalischen Stimulus und dem persönlichen Empfinden. Dieses basiert auf der von dem Physiologen Fechner 1834 experimentell gefundenen Gesetzmäßigkeit, dass die Änderung der Stärke einer Empfindung (dE) proportional zur relativen Änderung der Stimulation (dS/S) ist. Dies führt zu einem logarithmischen Zusammenhang zwischen der Empfindung E und der Stärke des physikalischen Stimulus:

$$E \propto \log S/S_0. \quad (32.2)$$

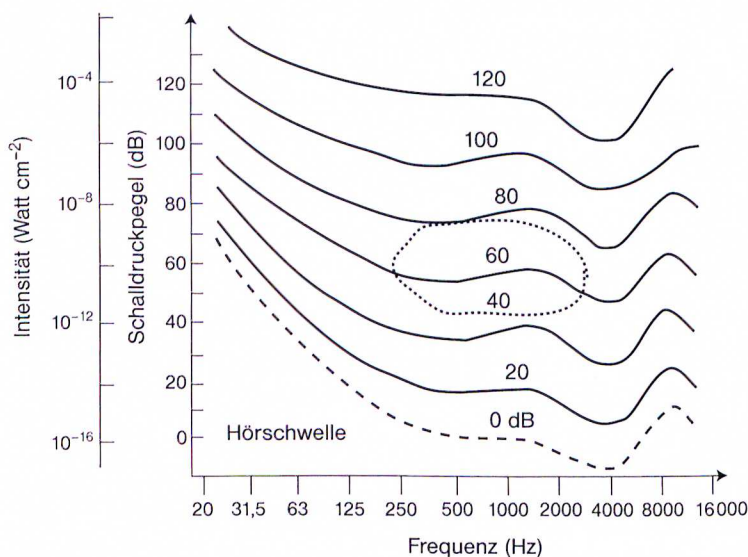


Abb. 32.6 Kurven gleicher Empfindung als Funktion der Frequenz für Hören mit beiden Ohren. Auf der Ordinate sind die Schallintensität und der Schalldruckpegel in Dezibel (dB) angegeben. Der gestrichelte Bereich gibt die Lautstärke der menschlichen Sprache an.

Beim Hören ist der Stimulus der effektive Druck $p_{\text{eff}} = p_0/\sqrt{2}$ der Schallwelle, wobei p_0 die Druckamplitude in Pa ist. Der effektive Druck kann durch die Intensität I und den Schallwellen-Widerstand $Z = \rho_0 c$ wie folgt ausgedrückt werden:

$$p_{\text{eff}} = \sqrt{\rho_0 c I} \quad (32.3)$$

Das Maß der physiologischen Hörempfindung ist die *Lautstärke*. Man schreibt das *Weber-Fechnersche Gesetz* daher in der Form:

$$L_p = 20 \log \frac{p_{\text{eff}}}{p_0^*} \quad (32.4a)$$

Dabei wird (aufgrund einer internationaler Konvention) p_0^* als der effektive Schalldruck bei der *Hörbarkeitsschwelle* ($L_p = 0$ für $p_{\text{eff}} = p_0^*$) und der Frequenz 1000 Hz festgelegt. Man nennt einen Ton dieser Frequenz in der Akustik einen *Normalton*.

Zur Messung der Lautstärke eines unbekanntes akustischen Signals wird dieses mit dem Schall eines 1 kHz-Senders verglichen. Die Intensität des Senders wird so lange variiert, bis beide Schallquellen als gleich laut empfunden werden. Häufig nimmt man statt des Druckes die Schallintensität als Einheit der physikalischen Einwirkung und die Lautstärke hat die Form:

$$L_I = 10 \log \left(\frac{p_{\text{eff}}}{p_0^*} \right)^2 = 10 \log \frac{I}{I_0} \quad (32.4b)$$

Die Einheit des *Schalldruckpegels* ist $[L_p] = 1 \text{ dB}$ (bzw. früher $[L_p] = 1 \text{ Phon}$). Für einen 1 kHz-Ton liegt die Hörgrenze bei einem effektiven Druck von $P_0^* = 2 \cdot 10^{-5} \text{ N/m}^2$. Dieser Wert wird als $L_p = 0 \text{ dB}$ festgelegt.

Zur quantitativen Charakterisierung des menschlichen Hörempfindens dient die Frequenzabhängigkeit der empfundenen Lautstärke $L_p(\nu)$ im (mittleren) wahrnehmbaren Frequenzbereich zwischen 20 Hz und 16 kHz. Man stellt diese traditionsgemäß in Form von Kurven gleicher Lautstärke dar (Abb. 32.6). Die obere Hörgrenze (d. h. unsere Schmerzgrenze) liegt bei einem Druck von 200 N/m^2 (= 130 dB). Der dynamische Bereich unseres Hörsinns ist phänomenal. Er umfasst sechs Zehnerpotenzen des Druckes oder zwölf Dekaden der Intensität. Um einen so großen Bereich zu erfassen, muss der Hörsinn offensichtlich sehr ausgefeilte Mechanismen zur Adaption der Empfindlichkeit an die Lautstärke besitzen. Diesen Aspekt werden wir im nächsten Abschnitt diskutieren.

32.5

Optimierung des Hörsinns: Resonanzüberhöhung und zweite Filterung

Schon von Békésy zeigte, dass eine 1:1-Abbildung des Frequenzspektrums des akustischen Signals auf der Basilarmembran besteht, d. h. jedes Frequenzintervall wird auf eine gewisse Strecke Δx auf der BM abgebildet. Dabei nimmt die Frequenz vom Steigbügel zum Apex ab. Oberhalb 500 Hz liegt die Frequenzauflösung des menschlichen Ohres bei $\Delta\nu/\nu \approx 0,3\%$. Drei reine Töne im Abstand einer Oktave sind auf der Basilarmembran durch zwei gleich lange Strecken getrennt. Man würde daher erwarten, dass die Resonanzkurven (d. h. die Amplitude Frequenz-Antwort) der Basilarmembran scharf sind, um eine so hohe Auflösung zu ermöglichen. Diese Überlegung brachte Helmholtz auf die Idee, dass das Cortische Organ wie ein mechanischer Resonator funktioniert [3]. Die direkte Beobachtung der Resonanzkurven durch Békésy brachte dieses Modell zu Fall. Er schnitt die Cochlea dazu auf und bestimmte die Amplitude der Auslenkung der Reissnerschen Membran als Funktion der Frequenz der mechanischen Anregung des Steigbügel. Eine entscheidende Beobachtung war, dass die Phasenverschiebung zwischen Erregung und Auslenkung bis zu 3π betragen kann. Daraus schloss er, dass das Resonator-Modell von Helmholtz falsch ist und propagierte seine Wanderwellen-Hypothese. Da Békésy die Resonanzkurven durch direkte Beobachtung der durch Schall induzierten Auslenkungen im Mikroskop beobachtete, musste er mit hohen Schallamplituden anregen. Dadurch entgingen ihm viele wesentliche Feinheiten des Hörsinns. Seine Wanderwellen-Hypothese erwies sich jedoch als richtig.

Zuverlässige Messungen bei kleinen Schallpegeln gelangen erstmals der Gruppe von W.S. Rhode 1971 mittels Mößbauer-Spektroskopie [7]. Sie brachten eine große Überraschung. Sie zeigten nämlich, dass sich die Basilarmembran (wie in Abb. 32.7 gezeigt) extrem nichtlinear verhält und vor allem Signale hoher Frequenzen ($> 8 \text{ kHz}$) selektiv verstärkt. Die Experimente wurden seither

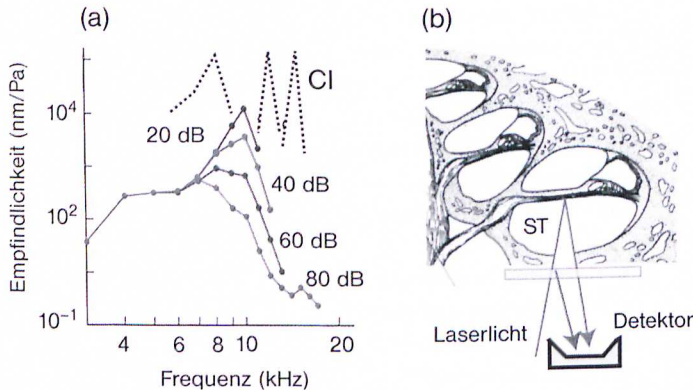


Abb. 32.7 (a) Resonanzkurven der Basilarmembran der Cochlea der Chinchilla. Darstellung der Empfindlichkeit der BM als Funktion der Anregungs-Frequenz. Die Empfindlichkeit wird durch den Quotienten aus der Auslenkung der BM und dem Druck des Schalls charakterisiert (und in nm pro Pa angegeben). Man nennt die Frequenz der maximalen Empfindlichkeit die *Charakteristische Frequenz der Basilarmembran*. Die gepunkteten Kurven zeigen Messungen der Frequenzabhängigkeit der neuronalen Erregung in der Zwischenstation der Oliva inferior (CI). Man erhält diese Signale durch Messung

mit Mikroelektroden (analog zum Elektrokardiogramm, EKG). Man kann die Signale auch sehr elegant mit hoch empfindlichen SQUID-Magnetometern bestimmen. Offenbar sind die im ZNS registrierten Resonanzkurven erheblich schärfer als die der BM. (b) Experimentelle Anordnung zur Messung der Resonanzkurven der Basilarmembran mittels dynamischer optischer Interferometrie. Der Lichtstrahl tritt durch eine (mit einer Glasplatte abgedeckte) Öffnung der Cochlea direkt auf die BM. Als Referenzstrahl dient der von der Abdeckung reflektierte Strahl.

durch Messungen mit dynamischer optischer Interferometrie wesentlich verfeinert, wobei die Ergebnisse von Rohde voll bestätigt wurden.

Bei der dynamischen optischen Interferometrie geht man wie bei der dynamischen Lichtstreuung vor. Wie Abbildung 32.7b zeigt, überlagert man das von der schwingenden Basilarmembran reflektierte Licht, das durch den Dopplereffekt in der Frequenz moduliert ist, mit dem ungestörten Referenzstrahl. Licht-Detektoren (z. B. Photomultiplier oder CCD-Kamera) wirken für die sehr hohen Frequenzen ($> 10^{12}$ Hz) des Lichts als Gleichrichter und man beobachtet daher nur die niederfrequenten Schwebungen, die durch Überlagerung der Lichtstrahlen entstehen. Die zeitlichen Fluktuationen der am Detektor registrierten Lichtintensität sind daher eindeutig durch die Frequenz und die Amplitude der BM-Schwingungen bestimmt. Man erhält die Amplitude als Funktion der Frequenz wie üblich durch Fourier-Analyse der Intensitätsfluktuationen (s. Übungsaufgabe 32.5 und die zahlreichen Referenzen in [8]).

Abbildung 32.7 zeigt einige mit optischen Messungen bestimmten Resonanzkurven. Daraus lernt man zwei wichtige Dinge:

1. Die Resonanzkurven sind bei kleinen Frequenzen sehr breit. Sie zeigen aber im Bereich von 10 kHz (der Charakteristischen Frequenz CF) ein relativ schar-

- fes, resonanzartiges Verhalten: Die Amplituden dieser Resonanzkurven nehmen mit zunehmendem Schalldruckpegel sehr stark ab, der Schall-Empfänger ist also nichtlinear.
2. Die bezüglich des Schalldruck-Pegels normierten Kurven liegen unterhalb der charakteristischen Frequenz CF alle übereinander. Für niedrige Frequenzen ist die Auslenkung der BM also proportional zur Amplitude der Erregung, wie man es für einen linearen Verstärker erwartet.

Durch die nichtlineare Verstärkung hochfrequenter Signale gelang es der Natur, die Hörgrenze enorm zu erweitern (bei manchen Tieren wie Fledermäusen bis zu 100 kHz [5]). Durch die Beobachtung der Resonanzüberhöhung bei der CF wurde ein altes Problem gelöst, das durch die Experimente von Rhode aufgeworfen worden war. Extrapoliert man nämlich die bei hohen Werten von L_p (> 80 dB) mittels Mikroskopie bestimmten Amplituden auf den Schallpegel der Hörschwelle, so würde man erwarten, dass Ohren Amplituden der BM von atomaren Dimensionen ($\sim 0,1$ nm) auflösen könnten. Da dies weit unterhalb der typischen Amplituden thermischer Anregungen liegt, blieb dieses Ergebnis lange rätselhaft. Das nichtlineare Verhalten und die Resonanzüberhöhung im Bereich der CF zeigt, dass das Innenohr sich wie ein extrem nichtlinearer Verstärker verhält. Es erklärt auch die Beobachtung der aktiven Schallemission des Innenohrs [4] und den oben erwähnten Tartini-Effekt. Wir haben in Kapitel 17 gesehen, dass nichtlineare Verstärker (wie der van der Pol-Oszillator) in der Regel als autonome Oszillatoren fungieren können. Wir werden in Kapitel 33 sehen, dass die Haarzellen des Innenohrs tatsächlich auch als autonome Oszillatoren fungieren können.

Eine weitere Konsequenz des nichtlinearen Verhaltens des Innenohrs ist die so genannte Zwei-Ton-Unterdrückung. Darunter versteht man die Reduktion der Antwort des Gehörs auf einen Ton durch die Anwesenheit eines zweiten Tons einer anderen Frequenz [8]. Diese ermöglicht uns, spezifische Töne auch bei starkem Rauschpegel zu verstehen.

Nun gibt es noch folgendes Problem. Die Resonanzkurven sind auch bei kleinen Lautpegeln sehr breit und können die oben erwähnte relative Frequenzauflösung von $\Delta \nu/\nu \approx 0,03\%$ sicher nicht erklären. Eine weitere erhebliche Verschärfung der Resonanzkurven beobachtet man tatsächlich im neuronalen Teil des Hörsinns, und man nennt diese Verbesserung der Frequenzauflösung *zweite Filterung*. Abb. 32.8 zeigt einige Resonanzkurven einzelner Neuronen, die mittels Elektroden im Bereich des Colliculus inferior (CI) beobachtet wurden. Aus der Beobachtung, dass diese erheblich schärfer sind als die an der BM gemessenen, schließt man, dass sich zwischen Cochlea und CI ein weiteres (neurales) Filter befindet.

Eine wesentliche Verschärfung der Resonanzkurven lässt sich durch Überlagerung von exzitatorischen und inhibitorischen Signalen an einem Neuron erzielen. Abb. 32.8a zeigt eine mögliche Schaltung, bei der die Verschärfung der Resonanzkurve im ZNS nach dem Prinzip der *lateralen Inhibition* erfolgt. Beschallt man das Ohr mit einem Dauerton unter Variation der Frequenz, so ist die Stärke der Erregung der Neuronen am CI durch die Resonanzkurve der BM an der Stelle

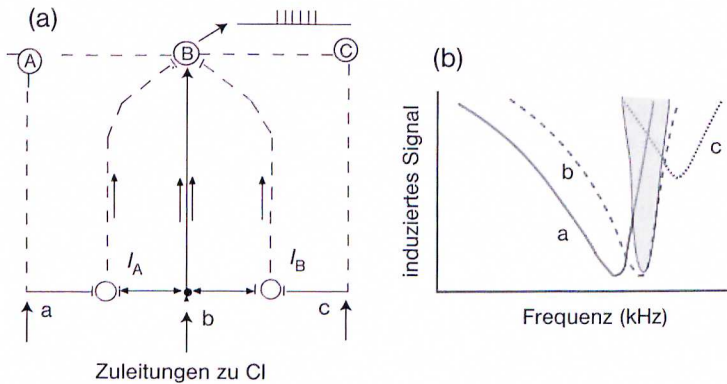


Abb. 32.8 (a) Modell der lateralen Inhibition zur Erzeugung eines neuronalen Filters zur Verschmälerung der Resonanzkurve. A, B und C seien Neuronen des Colliculus inferior, die über die Zuleitungen a, b und c erregt werden. Das Neuron B kann direkt durch die exzitatorische Zuleitung b oder indirekt über die inhibitorischen Neuronen I_A und I_B angesteuert werden, die von den Eingängen a und c

Signale erhalten. (b) Jede der Zuleitungen a, b, c ist durch eine Resonanzkurve mit etwas verschiedenen Bestfrequenzen ν_i charakterisiert, welche die Reizschwelle der Nervenleiter als Funktion der Frequenz angibt. Die Kontrolle der Aktivität des Neurons B durch die inhibitorischen Neuronen liefert die grau markierte Resonanz.

bestimmt, von der das Signal kommt. Wir nehmen nun an, ein Neuron B erhalte gleichzeitig exzitatorische Signale von einer Position B auf der BM und inhibitorische Signale von benachbarten Positionen A und C, die eine etwas höheren bzw. niedrigeren Bestfrequenz besitzen. Eine alleinige Reizung des exzitatorischen Leiters B würde also eine breite tonische Antwort im CI (Colliculus inferior) erzeugen. Kommen jedoch gleichzeitig an B inhibitorische Reize über die Neuronen I_A und I_B an, so wird die Erregung von B in den Frequenzbereichen unterdrückt, in denen A und C maximal angeregt werden. Damit wird die Resonanzkurve eingengt (siehe den grauen Bereich der Abb. 32.8b). Laterale Inhibition spielt bei vielen Sinnesorganen eine wichtige Rolle, beispielsweise beim Tastsinn (s. [9], Ch 18).

Neben der Resonanzverschärfung hat der neuronale Schaltkreis der Abbildung 32.8 eine andere schöne Eigenschaft. Wird die Frequenz von kleinen zu großen Werten durchgeföhren, so antwortet das Neuron B nicht, da es erst einer starken Hemmung durch A unterliegt. Bei abnehmender Frequenz könnte nur dann eine Erregung von B erfolgen, falls der Schalldruck so niedrig ist, dass das hemmende Neuron I_B nicht erregt wird. Dies zeigt, dass die einfache Schaltung der Abbildung 32.8 offenbar schon eine ganze Vielfalt von Kontrollmöglichkeiten eröffnet.

32.6

Zusammenfassung

In diesem Kapitel haben wir gelernt, dass das Innenohr bei niedrigen Frequenzen, d. h. bis fast 1000 Hz, ein recht empfindlicher frequenzselektiver Empfänger akustischer Signale ist. Wir werden im nächsten Kapitel sehen, dass durch Variation des Biegemoduls der Cochlea-Teilung, vom Steigbügel zum Helikotrema, eine 1:1 Abbildung der Frequenz der akustischer Wellen auf die Basilarmembran stattfindet. Die Kopplung der mechanischen Deformation der Basilarmembran an die laminare Strömung der Lymphflüssigkeit führt zur Ausbildung relativ breiter Resonanzkurven mit steilem Abfall bei hohen Frequenzen. Obwohl die Resonanzkurven dieses mechanischen Systems sehr breit sind ist die Frequenzauflösung erstaunlich gut. Dies kann an dem steilen Abfall der Resonanzkurven am hochfrequenten Ende liegen. Durch die zweite Filterung, die möglicherweise in der Olive stattfindet, wird eine weitere wesentliche Verschärfung der Resonanzkurven erreicht.

Offenbar war das System der akustischen Informationsverarbeitung im Innenohr und Zentralnervensystem so effektiv, dass es vielen Tierarten, wie den Lurchen, ermöglichte, während der letzten 350 Millionen Jahre zu überleben. Allerdings war dazu eine empfindlicher Überträger der mechanischen Deformation in elektrische Signale an das ZNS notwendig. Diese Funktion erfüllten die Haarzellen. Diese entstanden in einem sehr frühen Stadium der Evolution und haben sich zu äußerst sensitiven mechanischen Sensoren der Insekten entwickelt. Die Funktion der Haarzellen als mechano-elektrische Signalüberträger werden wir in Kapitel 34 behandeln.

32.7

Literatur

- 1 Zwicker, E., Manley, G. (1982) Schallrezeption am Beispiel der Säugetiere und Menschen, in Biophysik, Springer, Berlin.
- 2 Burchard, J., Irrgang, J., Anderson, B. (1987) Die Funktion der menschlichen Ohrmuschel *Spektrum der Wissenschaft* 6, 66-74.
- 3 Helmholtz, H. (1954) On the sensations of tone. Dover Pubns.
- 4 Kemp, D.T. (1978) Stimulated acoustic emissions from within the human auditory system. *J. Acoust. Soc. Am.*, 64, 1386–1391.
- 5 Neuweiler, G. (1982) Die Echoortung, in Biophysik, 2. Ed., Springer, Berlin Heidelberg New York.
- 6 Schmidt, R.F., Thews, G., Lang, F. (2000) Physiologie des Menschen. 28. Ed., Springer, Berlin.
- 7 Rhode, W.S. (1971) Observations of the vibration of the basilar membrane in squirrel monkeys using the Mössbauer technique. *J. Acoust. Soc. Am.*, 49, Suppl 2,1218.
- 8 Robles, L., Ruggero, M.A. (2001) Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol. Rev.*, 81, 1305–1352.
- 9 Nicholls, J., Martin, A. Wallace, B. Fuchs, P., (2001) From Neuron to Brain, Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts, USA

33

Mechanik und Hydrodynamik der Cochlea-Erregung: das Békésy-Wanderwellen-Modell

33.1

Die Experimente von George von Békésy und der Weg zur Wanderwellen-Hypothese

Wie früher schon erwähnt, führte G. von Békésy seine grundlegenden Untersuchungen der mechanischen Erregung der Cochlea vor rund 70 Jahren durch direkte mikroskopische Beobachtung durch [1]. Experimente an der Cochlea sind sehr schwierig, da diese in den harten Knochen des Schädels (den man Felsbein nennt) eingebettet sind. In den ersten Experimenten wurde die Spitze der Cochlea abgeschliffen, bis das Cortische Organ sichtbar wurde. Die Erregung der Basilarmembran erfolgte durch Mikrofone über das runde oder ovale Fenster. Um Resonanzkurven als Funktion des Ortes auf der BM auszumessen, musste der Gang der Schnecke stückweise freigelegt werden. Außerdem konnte mit dieser Methode nur die induzierte Auslenkung der Reissnerschen Membran beobachtet werden (s. Abb. 32.3). Angesichts dieser Randbedingungen sind die von von Békésy bestimmten Resonanzkurven für niedrige Frequenzen erstaunlich genau.

Die Experimente von Békésys wurden tatsächlich an der Reissnerschen Membran durchgeführt. Er konnte jedoch zeigen, dass zumindest bei niedrigen Frequenzen die Bewegungen der Reissner- und der Basilarmembran kollektiv erfolgen, wie Abbildung 33.2 zeigt.

G. von Békésy erklärte seine eleganten Experimente auf der Basis der Wanderwellen-Hypothese, die aus zwei Vorhersagen besteht:

1. Eine impulsartige mechanische Stimulation des ovalen Fensters pflanzt sich in Form einer lokalen mechanischen Deformation der Trennwand zwischen der Scala vestibuli und Scala tympani von der Basis zur Spitze der Cochlea (dem *Helicotrema* oder *Apex*) fort. Die Deformation der inkompressiblen Lympheflüssigkeit kann dabei über ein Loch in der BM, welches die beiden Räume verbindet, und durch Auslenkung des runden Fensters entspannen.
2. Die induzierte Deformation der Basilarmembran führt zu einer Scherdeformation zwischen dem Cortischen Organ und der Tektorialmembran (parallel zu deren Oberflächen). Die dadurch bedingte Auslenkung der Stereovilli depolarisiert oder hyperpolarisiert die Zellmembran (je nach der Richtung der Auslenkung) und löst eine Folge von Aktionspotenzialen in den afferenten Synapsen aus.

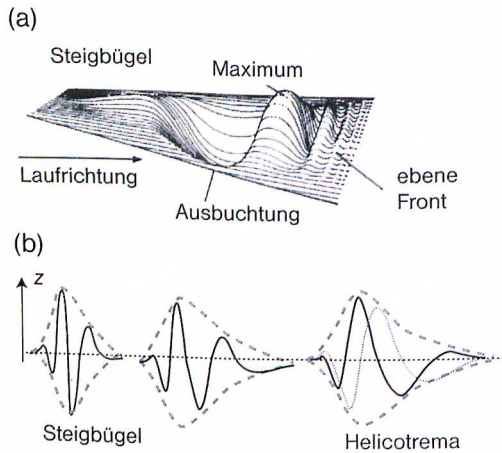


Abb. 33.1 Zur Wanderwellen-Hypothese der mechanischen Signalübertragung in der Cochlea. (a) Dreidimensionales Momentanbild der Auslenkung einer Modell-Basilararmembran, deren Seitenwände eingespannt sind (modifiziert nach [2]). Die Wanderwelle beginnt mit kleiner Amplitude am ovalen Fenster. Während sie zur Spitze läuft, steigt die Amplitude zunächst an, erreicht an einer von der Frequenz abhängigen Stelle ein Maximum und fällt dann auf Null ab. Man beachte, dass die kurzen Wellen voraus laufen. (b) Einhüllende der Auslenkung für drei Frequenzen: 300 Hz, 1,5 kHz und 8 kHz und ihre Position auf der BM.

Das wesentliche Argument für diese Hypothese lieferte die Beobachtung, dass die Phasenverschiebung $\Delta\phi$ zwischen der Deformation des Steigbügels und der BM mehrere Perioden ($3\pi \sim 700^\circ$) betragen kann und dass die Phase der Wellen mit dem Abstand vom Steigbügel zunimmt und sehr stark von der Frequenz abhängt. Beim linearen Resonator des Helmholtz-Modells beträgt die maximale Verschiebung bekanntlich $\pi/2$.

Von Békésy beobachtete auch schon, dass die Amplitude der Wanderwelle (für eine gegebene Frequenz) zunächst mit dem Abstand vom Steigbügel zunimmt, ein Maximum bei einer frequenzabhängigen Position auf der Basilararmembran erreicht und schließlich schnell abklingt. Abbildung 33.1a zeigt eine Momentaufnahme einer solchen Erregung.

Er zeigte außerdem, dass sich der Ort maximaler Amplitude (x_0) mit abnehmender Frequenz vom Steigbügel zum Helicotrema verschiebt und dass oberhalb $\nu \approx 500$ Hz eine 1:1-Abbildung des Logarithmus der Frequenz auf der x-Achse der BM besteht.

$$x_0 = \text{konst} \log \nu \quad (33.1)$$

Daraus folgt, dass Oktaven auf gleichen Abständen der BM abgebildet werden, was unser Hörempfinden bestimmt. Dieses logarithmische Gesetz ist allerdings nur oberhalb 500 Hz gut erfüllt, während bei niedrigen Frequenzen $\nu \leq 100$ Hz der Zusammenhang linear ist.

Das Gesetz der Gleichung (33.1) gilt für den Menschen. Ganz anders ist die Situation beispielsweise beim Hörsinn der Fledermäuse. Deren Ohren sind auf den Empfang der von ihnen ausgesandten Echolaute abgestimmt. Bei der Hufeisennase, die frequenzmodulierte Echolaute zwischen 82 und 86 kHz aussendet, nimmt dieser Bereich auf der BM eine ebenso große Strecke ein wie die tiefer liegenden Oktaven von 80 bis 40 kHz [8].

Wie oben erwähnt, wurden die von Békésy erzielten Ergebnisse durch interferometrische Messungen der Deformation von beiden Seiten des Cortischen

Organs bestätigt (s. [3]). Eine weitere Bestätigung erfuhr seine Hypothese durch Experimente an mechanischen Modellen der Cochlea und zahlreichen theoretischen Modellen auf die wir jetzt kommen [4–6].

33.2

Zur Theorie der Wanderwellen-Ausbreitung in der Cochlea

Erste theoretische Modelle der Wanderwellen stammen von Ranke und Zwislocki [5] und wurden seither wesentlich erweitert (s. [3, 6]). In diesem Abschnitt werden wir nur das einfache Modell von Ranke und Zwislocki beschreiben, um die wesentlichen Ideen herauszustellen. Die modernen Theorien erfordern sehr viel mathematischen Aufwand und interessieren eher den Spezialisten, während die wesentlichen Eigenschaften auch mit der einfachen Theorie erklärt werden können. Die Theorie der Mechanik der Cochlea ist aus mehreren Gründen sehr kompliziert.

Die tangentielle Fortpflanzung der Deformation der BM wird über die Hydrodynamik der Lymphflüssigkeit vermittelt. Man hat es daher mit zwei Wellen zu tun: der Druckwelle in der Flüssigkeit und einer Biegewelle, die entlang der BM läuft.

A priori muss man zwei Grenzfälle betrachten, je nachdem, ob die Wellenlänge der Wanderwelle klein ($\lambda \ll 2\pi h$) oder groß ($\lambda \gg 2\pi h$) gegenüber der Höhe der Scala tympani ist. Der erste Fall entspricht der Situation von Tiefwasserwellen mit einem komplexen Muster an hydrodynamischer Flüssen. Da hier an den Wänden Wirbel entstehen, bereitet dieser Fall besondere Schwierigkeiten. Im zweiten Fall bewegt sich die Flüssigkeit weitgehend parallel zur BM-Oberfläche und es zeigte sich, dass dieses Modell die Experimente recht gut wiedergibt [2]. Eine weitere Vereinfachung brachte die Beobachtung, dass die innere Reibung der Perilymphe vernachlässigbar ist.

Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden in verschiedenen Laboratorien einfache mechanische Modelle der Cochlea (die wir Phantom-Cochlea nennen) aufgebaut und gezeigt, dass man mit diesen die Amplituden-Frequenz-Charakteristik der BM sehr gut reproduzieren kann. Die Phantom-Cochlea besteht aus einem länglichen Kasten mit rechteckigem Querschnitt, der in Längsrichtung durch die Trennwand (auch *Cochlea-Teilung* oder engl. *cochlea partition* genannt) in zwei Räume geteilt wird und die in Abb. 33.2 gezeigte Form hat. Man hat es daher in erster Näherung mit einem zweidimensionalen Problem zu tun. Man kann insbesondere die Verteilung der Frequenzen maximaler Amplitude in x -Richtung allein auf eine variable, elastische Konstante $E(x)$ der Teilung zurückführen. Wie oben erwähnt, umfasst diese die Basilarmembran mit dem Cortischen Organ und die Reissnersche Membran.

Die idealisierte Cochlea wird durch folgende Parameter bestimmt: die Breite der BM (b); die homogene Dicke der beiden Skalen der Cochlea (h); die variable elastische Konstante ($E(x)$) sowie die Massendichte der Perilymphe ρ . Um die Dämpfung der Wanderwelle zu berücksichtigen, wird angenommen, dass diese durch die innere Reibung der relativ weichen BM (mit dem Reibungskoeffizien-

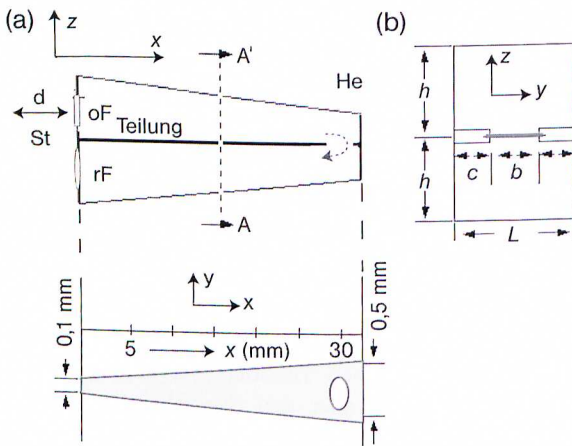


Abb. 33.2 Modell der Cochlea zur Simulation der Wanderwellen und Berechnung der Amplituden-Frequenz-Charakteristik. (a) Oben: Schnitt durch die Phantom-Cochlea (parallel zu z-x-Ebene) mit dem Steigbügel (St), dem ovalen (oF) und runden Fenster (rF) sowie dem Helicotrema (He). d steht für die Amplitude der Auslenkung des Steigbügels. Unten: Aufsicht auf die Basilarmembran (x-y-Ebene). Sie zeigt die Variation der Breite $b(x)$ der Basilarmembran und die Position der inneren Haarzellen parallel zur Längsachse x .

(b) Der Querschnitt längs A-A' zeigt die Cochlea-Teilung. Sie besteht aus einem steifen Rahmen der Breite c und der flexiblen Membran der Breite $b(x)$, die vom Steigbügel zur Spitze zunimmt. Letztere repräsentiert die Basilarmembran und die Reissnersche Membran zusammen, die als eine Einheit betrachtet werden. Die Dicke nimmt vom Steigbügel zum Helicotrema (d. h., in x-Richtung) ab. Insgesamt nimmt die Biegesteifigkeit vom Steigbügel zum Helicotrema exponentiell ab ($E(x) = E_0 \exp\{-x/k\}$).

ten ζ) bestimmt werde. Diese Näherung ist für kleine Amplituden sicher gut erfüllt. In dem einfachen Modell wird die Verteilung der Frequenzen maximaler Amplitude in x -Richtung allein auf eine variable, elastische Konstante der Cochlea $E(x)$ zurückgeführt, wobei $E(x)$ eine Volumenelastizität pro Längenelement der Cochlea ist, $[E]=1 \text{ N/m}^4$.

Man hat nun zwei Probleme zu behandeln: die Schwingung der BM und die Strömung der Lymphflüssigkeit. Diese sind jedoch über Randbedingungen miteinander gekoppelt. Die Schwingungsgleichung der BM hat die Form (pro Längenelement dx):

$$2bh \rho \cdot \frac{\partial^2 z}{\partial t^2} + 2b \zeta \cdot \frac{\partial z}{\partial t} + 2bE(x)z = b p(x,t) \tag{33.2}$$

Dabei ist z die Auslenkung der Membran am Ort x und $p(x,t)$ der lokale Druck auf diese. Aufgrund der Inkompressibilität der Lymphe gilt das Hookesche Gesetz:

$$\delta p(x) = E(x) \delta z(x) \tag{33.3}$$

Man beachte, dass $E(x)$ nicht der Young-Modul sondern ein effektiver Biegemodul der Cochlea-Teilung ist.

Jede periodische Druckschwankung $p(x,t) = p_\omega \cdot \exp(i\omega t)$ ruft eine periodische Auslenkung $z = z_\omega \cdot \exp(i\omega t)$ hervor. Setzt man diese in die obere Gleichung ein, so erhält man folgenden Zusammenhang zwischen den Amplituden des Druckes und der Auslenkung bei gegebener Frequenz:

$$\frac{p_\omega}{z_\omega} = 2E^*(\omega, x) = 2h \rho (-\omega^2 + iD \omega_0 \omega + \omega_0^2) \quad (33.4)$$

ω_0 bzw. D sind die Eigenfrequenz bzw. der skalierte Reibungskoeffizient der Membran und haben die Form:

$$\omega_0(x) = \sqrt{\frac{2E(x)}{\rho h}} \quad \text{und} \quad D = \frac{1}{2} \frac{\zeta}{\sqrt{E(x) \rho}} \quad (33.5)$$

$E^*(\omega, x)$ ist ein komplexer, von der Position auf der BM und der Frequenz abhängiger Elastizitätsmodul. Die BM verhält sich also (wie jedes Körpergewebe) als viskoelastischer Körper mit einer komplexen mechanischen Impedanz. Wie oben erwähnt, nimmt für $\omega/2\pi \geq 500$ Hz die Lage der Frequenz maximaler Amplitude (x_0) mit dem Abstand x vom Steigbügel exponentiell ab. Man könnte daher in einem einfachen Modell die Eigenfrequenz $\omega_0(x)$ ersetzen durch:

$$\omega_0 = \omega_{00} \cdot \exp(-kx)$$

In modernen Theorien behandelt man den Elastizitätsmodul $E(x)$ jedoch als anpassbaren Parameter. Mit diesem Modell verstehen wir nun auch das An- und Abschwellen der Wanderwellen, wenigstens qualitativ. Wie man in Abbildung 33.1a erkennt, laufen die schnellen Oszillationen den langsamen voraus und werden bevorzugt gedämpft. Da die BM vom Steigbügel zum Helicotrema weicher wird, kann die Amplitude zunächst noch wachsen, bis die dissipierte Energie pro Periode der Oszillation größer wird als die in der elastischen Deformation gespeicherte. Danach zerfällt die Welle schnell.

Das größere Problem ist die Behandlung der Hydrodynamik. Durch die Vernachlässigung der inneren Reibung der Lymphe und der Annahme der Inkompressibilität kann man die Bewegung der Flüssigkeit jedoch durch die Euler-Gleichung für reibungsfreie Flüssigkeiten beschreiben, die wir in Kapitel 37 einführen werden. Dazu führt man das Geschwindigkeitspotenzial Φ ein, aus dem sich die Geschwindigkeit \mathbf{v} durch Bildung des Gradienten mit der Gleichung $\mathbf{v} = \text{grad } \phi$ berechnen lässt. Setzt man diese Beziehung in die Euler-Gleichung

$$\rho \cdot \partial \mathbf{v} / \partial t + \text{grad } p = 0$$

ein, so erhält man für die Frequenzabhängigkeit des Drucks

$$p(x, y, z, \omega) = -\rho \cdot \frac{\partial \Phi}{\partial t} = -i\omega \rho \Phi \quad (33.6)$$

Bei der Berechnung dieser Druckverteilung in der Lymphe muss man zwei wichtige Randbedingungen für das mechanische Gleichgewicht beachten:

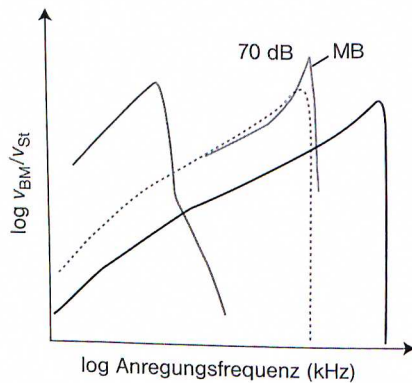


Abb. 33.3 Vergleich theoretischer und experimenteller Resonanzkurven der Modell-Cochlea der Eichhörnchen-Affen. Die experimentelle Resonanzkurve ist gestrichelt gezeichnet. Aufgetragen ist der Logarithmus des Verhältnisses der Geschwindigkeiten der BM zu der des Steigbügels als Funktion des Logarithmus der Anregungsfrequenz. Die drei theoretischen Kurven entsprechen drei Positionen auf der BM, wobei der Abstand vom Steigbügel von rechts nach links zunimmt. Man beachte, dass die Spitze der mit Mössbauer-Spektroskopie bestimmten Kurve (MB) überhöht ist (s. auch Abb. 32.6).

$$v_n = \partial\Phi/\partial n = 0 \quad \text{und} \quad \frac{\partial v}{\partial t} = \frac{\partial^2 d}{\partial t^2} \quad (33.7)$$

Dabei ist d die Auslenkung des Steigbügels. Die erste Bedingung besagt, dass die Normalkomponente v_n von v (in z -Richtung) auf der BM verschwinden muss und die zweite, dass die Beschleunigungen des Steigbügels und der Flüssigkeit am ovalen Fenster gleich sein müssen.

Es wurden eine Reihe von Methoden zur Lösung des Gleichungssystems vorgeschlagen, von denen einige in dem Buch von R Skalak und S. Chien ([6]) angegeben sind. Da die Beschreibung dieser Lösungen zu weit gehen würde, seien hier nur zwei wichtige Ergebnisse der Theorie wiedergegeben:

1. Abbildung 33.3 zeigt eine experimentelle (gestrichelte Linie) und berechnete Kurven der Amplituden-Frequenz-Charakteristik der Cochlea von Eichhörnchen-Affen (engl. *squirrel monkey*). Die experimentellen Daten stammen aus den Mößbauer-Experimenten von Rhode. Die Übereinstimmung zwischen Theorie und Experiment ist in Anbetracht der Einfachheit des Modells recht befriedigend.
2. Durch Computersimulation und Methoden der finiten Elemente kann man auch Momentbilder der Wanderwelle auf der Cochlea berechnen [7] und das Verhalten von Wellen leicht unterschiedlicher Frequenz studieren. Trotz des noch rudimentären Stands der Forschung zeigen die theoretischen und experimentellen Untersuchungen an Modellsystemen, dass ein erheblicher Teil der akustischen Informationsverarbeitung schon in der Cochlea stattfindet.

33.3

Zusammenfassung: Fledermäuse können mit den Ohren sehen

In den letzten beiden Abschnitten haben wir gesehen, dass der Schall beim Transfer von der Umgebung zum Innenohr auf drei Stufen verarbeitet wird. Wir sahen, dass schon durch die mechanische Konstruktion der drei Teile des Ohres ein einfaches, aber schon recht leistungsfähiges Informationssystem entstanden ist. Dieses ist in der Lage, die Richtung des einfallenden Schalls festzustellen und arbeitet schon als ein gutes Filter, das Frequenzen in räumliche Information umsetzt. Es ist bemerkenswert, dass dies allein über die hydrodynamischen Eigenschaften des Schneckengangs und die Form der Basilarmembran erreicht wurde. Die Abbildung der Oktaven auf gleiche Längen der Basilarmembran bestimmt möglicherweise unser Musikempfinden und unsere Vorliebe für harmonisch klingende Musik.

Das Hörsystem des Menschen dient vorwiegend der Kommunikation und nicht dazu die Umgebung zu erkennen. Wir sind daher erstaunt, dass Tiere, wie die Fledermäuse, mit ihren auf der Akustik beruhenden Informationssystemen ihre Umgebung sehr gut „sehen“ können. Durch Frequenzmodulation der von Ihnen ausgesandten Echolaute bestimmen sie die Entfernung der Hindernisse über die Laufzeit der Echolaute mit einer Zeitauflösung von ca. 50 μ s. Zur Bestimmung der Größe und Form der Objekte nutzen sie die Richtungscharakteristik der Schallstreuung und können noch Objekte von rund 100 μ m erfassen. Der reflektierte Schall hängt auch von der Art des Materials. Dadurch können die Tiere unterscheiden, ob ein Objekt massiv oder hohl ist oder ob es aus Metall besteht oder ob es sich um ein Insekt handelt.

Auch das Signal-zu-Rausch-Verhältnis des Ortungssystems ist erstaunlich, was den Tieren ermöglicht, ihre Beute auch bei starkem Lärmpegel zu fangen. Diese Fähigkeit beruht auf der besonderen Signalverarbeitung im Gehirn. Dort wird der Ortungslaut mit dem Echo überlagert und die Kreuzkorrelation der beiden Signale gebildet. Das Gehirn arbeitet wie ein Korrelationsempfänger, der für das gute Signal-zu-Rausch-Verhältnis bekannt ist. Die Radartechniker haben bei der Fledermaus gelernt, wie man Ortungssysteme baut, die auch im Nebel funktionieren. Das Echo-Ortungssystem der Fledermaus und der Delfine zeigt, dass die akustischen Informationssysteme den optischen durchaus gewachsen sind.

Wir verzichten hier auf eine detaillierte Darstellung der Echoortung und verweisen den interessierten Leser auf den Übersichtsartikel von G. Neuweiler [8].

33.4

Literatur

- 1 Bekesy, G.V. (1989) Experiments in hearing. American Institute of Physics. New York 1966.
- 2 Tonndorf, J. (1960) Shearing motion in Scala media of Cochlear models. *J. Acoust. Soc. Am.*, **32**, 238–244.
- 3 Robles, L., Ruggero, M.A. (2001) Mechanics of the mammalian cochlea. *Physiol. Rev.*, **81**, 1305–1352.
- 4 Ranke, O.F. (1950) Theory of operation of the Cochlea: A Contribution to the hydrodynamics of the Cochlea. *J. Acoust. Soc. Am.*, **22**, 772–777.
- 5 Zwislocki, J. (1953) Review of recent mathematical theories of Cochlear dynamics. *J. Acoust. Soc. Am.*, **25**, 743–751.
- 6 Skalak, R., Chien, S. (1986) Handbook of bioengineering. McGraw-Hill, Maidenhead, New York
- 7 Allen, J.B., Sondhi, M.M. (1979) Cochlear macromechanics: time domain solutions. *J. Acoust. Soc. Am.*, **66**, 123–132.
- 8 Neuweiler, G. (1982) Echoortung in Biophysik 15 (Herausgeber W. Hoppe et al) Springer Verlag Berlin

34

Haarzellen als akusto-elektrische Signaltransformatoren

34.1

Haarzellen als nichtlineare Verstärker der mechanischen Basilarmembran-Schwingungen

Wir haben gelernt, dass die akustische Signalübertragung durch Wanderwellen zwar bei großen Lautstärken und niedrigen Frequenzen gut funktioniert, dass aber hochfrequente schwache Signale nichtlinear verstärkt werden. Erst damit kann das Gehör den enormen dynamischen Bereich von über zwölf Größenordnungen der Schallintensität erfassen. Heute wissen wir, dass beiden Typen von Haarzellen (die OHZ und IHZ) an der nichtlinearen Verstärkung akustischer Signale beteiligt sind. In diesem Kapitel befassen wir uns mit der Funktion der Haarzellen als nichtlineare Verstärker der mechanischen Deformation der Basilarmembran und Transformatoren akustischer in elektrische Signale. Wir werden sehen, dass der dynamische Bereich des Hörsinns im Verlauf der Evolution durch Entstehung eines neuen schnellen Motors erweitert wurde.

Beide Gruppen von Haarzellen sind auf verschiedene Weise an diesen Prozessen beteiligt. Die inneren Haarzellen stellen die eigentlichen Mechanosensoren dar, welche mechanische Deformationen in elektrische Signale an das ZNS umwandeln. Solche Elemente nennt man in der Regeltechnik oft auch *Aktuatoren*. Die OHZ dagegen dienen vorwiegend der Verstärkung der Deformation der BM durch die Wanderwellen bei hohen Frequenzen. Ihre Funktion wird wahrscheinlich über das ZNS interaktiv gesteuert, worauf die hohe Zahl an afferenten Neuronen (die Signale vom ZNS zu den Zellen senden) hinweist. Bei dieser Rückkopplung fungieren die Stereovilli der OHZ als Sensoren der Deformation (nicht der Kräfte), während der Zellkörper als *Aktivator* die mechanischen Deformation der BM vermittelt. Interessanterweise kamen die OHZ in einer späteren Phase der Evolution ins Spiel und daher haben z. B. die Amphibien nur Haarzellen vom IHZ-Typ.

Nachdem man lange über die Rolle der OHZ gerätselt hatte, kam in den 1990iger-Jahren der Durchbruch durch die Entdeckung der elektrisch induzierten Deformation (*Elektromotilität* genannt) der OHZ; 20 Jahre nach der Entdeckung der nichtlinearen Verstärkung und der aktiven Schallemission des Cortischen Organs. Nach heutiger Vorstellung dienen die OHZ dazu, die Abschwächung der

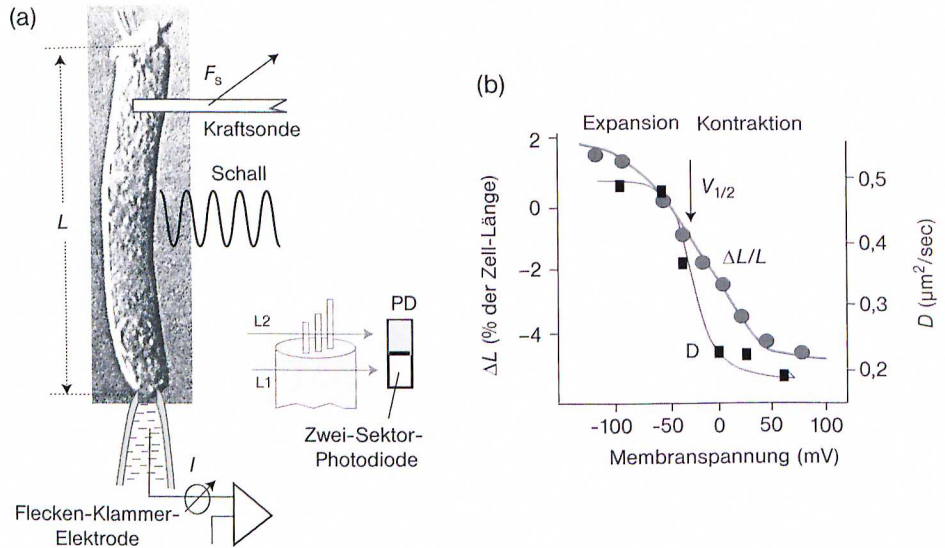


Abb. 34.1 Zur Untersuchung der Elektromotilität und der Strom-Spannungskennlinien der äußeren Haarzellen (OHZ). (a) In dem klassischen Experiment von J. Ashmore erfolgt die elektrische Erregung durch Injektion eines Stromes in die am unteren (basalen) Ende angebrachte Flecken-Klammer-Elektrode (mit $\sim 1 \mu\text{m}$ innerem Durchmesser). Die Beobachtung der Längenänderung der OHZ von Meerschweinchen erfolgte mit Normarski-Mikroskopie. Dazu werden die zwei durch das erste Wollaston-Prisma des Mikroskops erzeugte Lichtstrahlen um ca. $0,2 \mu\text{m}$ gegeneinander versetzt (s. Kapitel 37) und auf die obere Endplatte der OHZ fokussiert. Die zeitliche Änderung ihrer unterschiedlichen Abschwächung aufgrund der Oszillation der

Zelle in Längsrichtung wird durch ein Paar von Photodioden (sog. Sektor-Photodioden) registriert und liefert die Bewegung der Endplatte. Elektroden können auch seitlich angedockt werden. Die Abbildung zeigt gleichzeitig andere Methoden der mechanischen Anregung mit Ultraschall und Glasfasern. (b) Änderung der relativen Länge der Zelle als Funktion der Membranpotential. Die Zelle wird bei Hyperpolarisation verlängert und bei Depolarisation verkürzt. In dem Bild ist auch die Variation des lateralen Diffusionskoeffizienten von Lipiden in der Membran wiedergegeben (nach [5]). Deren starke Änderung zeigt, dass die Elektromotilität mit einer Konformationsumwandlung der Membran verbunden ist.

hochfrequenten Wanderwellen durch die hydrodynamische Reibung (die natürlich bei hohen Frequenzen besonders groß ist) in interaktiver Weise auszugleichen, indem sie das Cortische Organ aktiv deformieren. Dazu dient eine neue Art von elektrisch getriebenem Motor (dem sogenannten Prestin-Motor), der in der Plasmamembran der OHZ lokalisiert ist und dessen dynamischer Bereich sich bis 100 kHz erstreckt.

Im Folgenden beschreiben wir die Funktion der OHZ und der IHZ bei der Signalverstärkung, wobei wir uns vor allem auf die eleganten Experimente an Einzelzellen konzentrieren. Die sehr viel komplexere Frage der Übertragung der Deformation der OHZ auf die BM und die dadurch vermittelte Verstärkung der BM-

Schwingungen werden wir am Ende kurz ansprechen. Auf die zahlreichen theoretischen Modelle der nichtlinearen Verstärkung können wir nur sporadisch eingehen.

Abbildung 34.1 illustrierte das Experiment, das zur Entdeckung der Elektromotilität der OHZ durch Ashmore führte [1]. Es wurde mit Mikropipetten an isolierten OHZ durchgeführt, wobei elektrische Impulse über eine am unteren Ende der OHZ angebrachte Mikroelektrode injiziert wurden, unter Anwendung der in Kapitel 14 eingeführten Flecken-Klammer-Technik. Sie zeigten, dass elektrische Impulse von wenigen Millivolt erstaunlich große Änderung der Länge der Zellen (um ca. 1 μm) vermitteln können. Die Zellen verlängern sich bei Hyperpolarisation, während sie sich bei Depolarisation akkordeonartig verkürzen. Sie verhalten sich wie piezoelektrische Körper. Die maximale Empfindlichkeit der relativen Längenänderung ist etwa 20 nm/mV.

Zur systematischen Untersuchung der elektrischen Eigenschaften der Zelle werden zwei etwas verschiedene Messmethoden angewandt. Die erste beruht auf der in Abbildung 34.1 gezeigten Anwendung der Flecken-Klammer-Technik (s. [1]), während bei der zweiten Technik Mikropipetten eingesetzt werden, die gleichzeitig als Mikrokammern zur Einstellung der Elektrolytflüssigkeit dienen und die in Abbildung 34.2 gezeigt wird. Mit der ersten Methode lassen sich die elektrischen Eigenschaften der Zellhülle an jeder Stelle lokal messen oder man kann diese an jeder Stelle elektrisch stimulieren. Mit der zweiten werden auch die globalen elektro-mechanischen Eigenschaften erfasst. Sie eignet sich besonders zur Messung der elektrischen Verschiebungsströme durch die Membranen. Dabei müssen jedoch die elektrischen Äquivalent-Schaltkreise sehr sorgfältig analysiert werden [7, 8].

Für die mechanische Stimulation der Zellen und zur Messung der viskoelastischen Impedanz der Zellen gibt es auch verschiedene Möglichkeiten. Dazu gehört die Erregung des Zellkörpers oder der Mikrovilli mit Glasfasern (wie im Fall der Abb. 34.8), mit AFM-Candilever [2, 3] oder über fokussierte hydrodynamische Flüsse [4].

Wir beschreiben nun einige der wichtigsten Ergebnisse der oben genannten Experimente. Sie ermöglichen uns einen ersten Einblick in die Funktion des neuartigen Motors und erlauben uns, einige Schlüsse zu ziehen.

1. Die durch elektrische Impulse induzierten mechanischen Deformationen folgen der Stimulation zeitlich verzögert. Dies erwarten wir, da wir in den Kapiteln 26 und 29 lernten, dass Zellen viskoelastische Körper sind. Die Deformation der Zelle, (z. B. die Verlängerung $\Delta L(t)$) hat die Form:

$$\Delta L(t) = A(1 - \exp\{-t/\tau_1\}) + B(1 - \exp\{-t/\tau_2\})$$

und besteht aus einer schnellen und einer langsamen Komponente mit Ansprechzeiten von $\tau_1 \approx 0,2$ msec und $\tau_2 \approx 3$ msec [1]. Die schnelle Komponente bestimmt die maximale Frequenz, mit der die OHZ oszillieren können. Nach dem Experiment liegt die maximale Frequenz bei rund 10 kHz. Tatsächlich liegt sie bei Meerschweinchen viermal höher (bei ca. 40 kHz) und manche Fledermäuse können sogar Töne bis 100 kHz erfassen. Der Motor der OHZ-

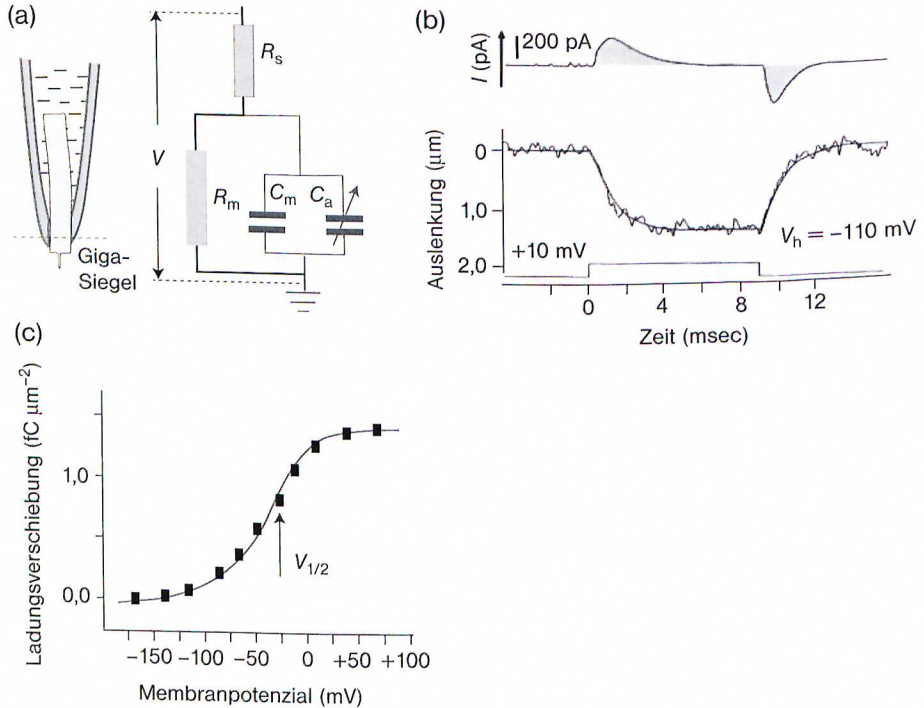


Abb. 34.2 Beobachtung der Beziehung zwischen elektrischer Ladungsverschiebung in der Membran und der Elektromotilität der OHZ. (a) Das Diagramm rechts zeigt das einfachste elektrische Ersatzschaltbild für die Messung der Membrankapazität (C_m) mit der Flecken-Klammer-Technik. Es gilt nur für die angezeigte Konfiguration. R_m und R_s sind die Widerstände der Membran und der Zuleitungen. Liegt der elektrisch isolierende Kontakt (das Giga-Siegel) in der Mitte der Zelle, muss man die Spannungsteilung zwischen Innen- und Außenraum betrachten (s. Text). (b) Obere Spur: Beispiel eines durch lokale Depolarisation induzierten Verschiebungsstrom $I(t)$ in der Plasmamembran der äußeren Haarzellen am Anfang und Ende des Impulses. Die Ladungsverschiebung $\delta Q = \int I(t)$

dt ist von der Größenordnung $0,1 e/nm^2$. Untere Spur: Demonstration der Übereinstimmung der zeitlichen Verläufe der mechanischen Deformation (Messkurve) der Zelle und des Verschiebungsstroms (ausgezogene Kurve). (Nach [6].) (c) Die Variation der Ladungsverschiebung (in Femto-Coulomb per μm^2) mit der Membranspannung zeigt einen s-förmigen Verlauf. Diese nichtlineare Strom-Spannungskennlinie entspricht einer spannungsabhängigen spezifischen Kapazität $C_m(V)$ mit einem Maximum bei der Membranspannung $V_m = V_{1/2}$. Die Kurve erinnert an die Strom-Spannung-Kennlinie eines Verstärkers mit einem etwas kleinen Verstärkungsfaktor, der durch die maximale Steigung der Kennlinie im Wendepunkt bestimmt ist.

Elektromotilität muss also sehr schnell arbeiten und gehört mit zu den schnellsten biologischen Maschinen.

- Die elektrisch induzierte Deformation ist unabhängig von der Position auf dem Zellkörper. Insbesondere kann die Deformation der Zellen auch durch Auslenkung der Stereovilli stimuliert werden. Bei Stimulation an einer Längsseite

- biegt sich die Zelle. Diese Beobachtungen legen den Schluss nahe, dass viele Motoren in der Zellhülle unabhängig voneinander arbeiten.
3. Der Motor arbeitet reversibel, d. h. mechanische Deformationen induzieren Änderungen des Membranpotenzials. Die Zellhülle verhält sich also ähnlich wie ein piezoelektrisches Material.
 4. Eine besondere Überraschung brachte die Entdeckung, dass die mechanische Deformation nicht durch ATP getrieben wird, sondern durch eine neue Art von Motor, der in der Zellhülle lokalisiert ist. Isoliert man nämlich eine Stück Membran mit einer Flecken-Klammer-Elektrode, so beobachtet man eine Dehnung des Membranstücks bei einer Hyperpolarisation (von -40 auf -80 mV) und laterale Kompression bei Depolarisation auf $V_m = +80$ mV.

Das piezoelastische Verhalten der Zellen wird durch die Beobachtung sehr schneller *Verschiebungsströme* $\delta I(t)$ am Anfang und am Ende der elektrischer Impulse $\delta V(t)$ bestätigt (Abb. 34.2). Die Stromimpulse (von ca. 0,1 msec Dauer) sind mit einer Ladungsverschiebung $\delta Q(t) = \int I(t) dt$ verbunden, die durch die Kapazität der Zellhülle der OHZ bestimmt ist:

$$C_m(V) = \frac{\delta Q}{\delta V_m} = \frac{\int I(t) dt}{\delta V_m} \quad (34.1)$$

Messungen des Verschiebungsstromes als Funktion der Membranspannung V_m zeigen, dass die Kapazität C_m extrem nichtlinear ist. Sie hat die Form einer Glockenkurve mit einem Maximum $V_m (= V_{1/2})$ in der Nähe der Ruhespannung. Der ansteigende Teil des Verschiebungsstroms fällt mit dem Zeitverlauf der schnellen mechanischen Deformation zusammen, d. h. die Nichtlinearität der Kapazität und die Elektromotilität hängen eng zusammen. Die Ladungsverschiebung hat einen s-förmigen Verlauf, den man in erster Näherung in der Form

$$Q(V) = \frac{Q_0}{1 + \exp\{-(V - V_{1/2})/k_B T\}} \quad (34.2)$$

darstellen kann. Die Kurve $Q(V)$ hat bei $V = V_{1/2}$ einen Wendepunkt und die Kapazität $C_Q = dQ/dV$ ein Maximum. Die Ladungsverschiebung erinnert an den Verschiebungsstrom beim Einschalten der spannungsabhängigen Ionenkanäle in Nervenzellen. Gleichung (34.2) hat auch dieselbe Form wie der Bruchteil aktiver Protomere bei kooperativen Prozessen (s. Anhang 15.A). Die Ladungsverschiebung hat daher typische Eigenschaften eines kooperativen Prozesses. Eine wichtige Konsequenz dieses kooperativen Verhaltens ist, dass die Ladungsverschiebung pro Spannungskrement und damit die erzeugte Kraft im Bereich der Halbwertsspannung $V_{1/2}$ maximal ist, da die Steigung dort am größten ist. Solche Kurven werden wir weiter unten bei der Diskussion der Adaption der Haarzellen an den Schallpegel benutzen. Die Spannungsinduzierte Ladungsverschiebung erzeugt eine Ladungsdichte von $\delta q = 0,1 e/nm^2$.

Die Messung von Verschiebungsströmen, die mit dem Öffnen von Ionenkanälen (wie in Kapitel 15) oder der Aktivierung des piezoelektrischen Motors verknüpft sind, erfordert die Messung sehr kleiner nichtlinearer Kapazitäten, wie

wir bei der Messung des Triggerstroms der Ionenkanäle der Riesen-Axons sahen. Mit der Entwicklung der PCT sind solche Messungen auch an Einzelzellen möglich, wobei es zwei Möglichkeiten gibt, sehr kleine Ströme zu messen. Ein Weg ist die Messung der komplexen elektrischen Impedanz $Z^*(\omega)$ mit der Flecken-Klammer-Technik (s. [7]). Eine zweite Möglichkeit besteht in der direkten Messung des Integrals über den Strom, der durch kleine Impulse ausgelöst wird [8]. In diesem Experiment kann man den nichtlinearen Beitrag zur Membrankapazität durch Messung der Relaxationszeit des Stromes, der durch kleine Spannungsimpulse ausgelöst wird, bestimmen. Der an Elektrophysiologie interessierte Leser sollte sich diese elegante Methode anhand von Aufgabe 15.1 ansehen.

Wir können die bisher diskutierten Ergebnisse der Experimente an Einzelzellen wie folgt zusammenfassen: Die spät in der Evolution entstandenen OHZ sind elektrisch aktivierbare, kontraktile Zellen. Die Kontraktion kann durch Änderung der Membranspannung am Zellkörper oder an den Stereovilli induziert werden. Depolarisation der Membran führt zur Verkürzung und Hyperpolarisation zur Verlängerung der länglichen Zellen. Der die Deformation bewirkende Motor arbeitet reversibel und ohne ATP und hat typische Eigenschaften wie *piezo-elektrische Aktuatoren*. Er ist in der Plasmamembran lokalisiert und die Deformation ist eng mit einer schnellen Ladungsverschiebung (aber keinem Strom) in der Membran verbunden. Der assoziierte Verschiebungsstrom ist im Bereich des stationären Potentials maximal und die pro Periode der Erregung verschobene Ladungsdichte ist von der Größenordnung $\delta q \sim 0,1 \text{ e/nm}^2$. Messungen von Frank *et al.* zeigen, dass die OHZ eine Kraft von rund 50 pN/mV erzeugen können [2]. Der elektromechanische Motor der Säugetiere arbeitet mindestens bis zu Frequenzen von 50 kHz . Im Gegensatz zum Sehvorgang scheint also die akustische Signalübertragung an der Zelle ein rein physikalischer Vorgang zu sein.

34.1.1

Modell des molekularen Motors der OHZ als piezoelektrischer Aktuator

Da die Elektromotilität auch nach Zerstörung des Aktin-Zytoskeletts mit Cytochalasin fortbesteht, lag die Annahme nahe, dass der Motor in der Lipid-Protein-Doppelschicht der Zellhülle lokalisiert ist. Man suchte daher nach einem Membranprotein, das nur in den äußeren Haarzellen in großen Mengen vorkommt, und die Suche endete vorläufig mit der Entdeckung des Motorproteins *Prestin* [9].

Prestin ist ein 82 kDa Protein, das aus 744 Aminosäuren besteht. Da es im Bereich des Gens exprimiert wird, in dem auch die Gene für andere Anionen-Transporter (wie Bande III der Erythrozyten) liegen, lag nahe, dass es sich um ein Protein dieser Klasse handelt. Die Anordnung der hydrophoben Aminosäuren in der Peptidkette zeigt in der Tat, dass das Protein die Membran (ähnlich wie Bande III) mit 12 Helices durchdringt. Es bildet Dimere von ca. 12 nm Durchmesser, die mit bis 6000 *Prestin* pro μm^2 sehr dicht gepackt sind. Möglicherweise ist die Membran der Haarzellen stückweise aus zweidimensionalen Kristallen aufgebaut. Die Proteine sind sehr viel dichter gepackt als die Bande III in Erythrozyten mit 2000 Proteinen pro μm^2 .

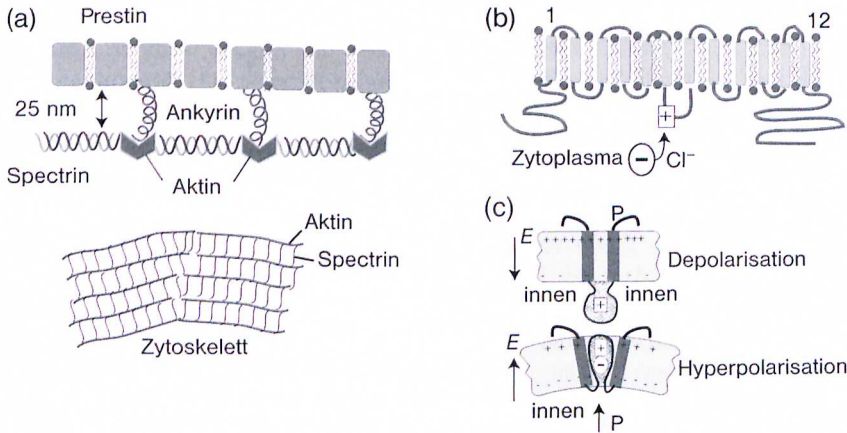


Abb. 34.3 Modell der Verbundmembran und des molekularen Motors der OHZ-Hülle. (a) Verbundartiger Aufbau der OHZ-Zellhülle aus der Plasmamembran und einem orthogonalen Netzwerk aus Aktin und einem Vernetzer (Spektrin oder α -Aktinin). Die Prestin-Moleküle bilden Dimere mit 12 nm Durchmesser und sind sehr dicht gepackt (etwa 6000 Dimere pro μm^2). Die Aktin-Filamente laufen bevorzugt um den Umfang herum, im Abstand von 42 nm. (Nach [10].) (b) Schematische molekulare Struktur des Prestins, das die Membran mit 12 hydrophoben Helices durchdringt und mit zwei hydrophilen Ketten in das Zytoplasma eintaucht. Die Schleife zwischen Helix 6 und 7 aus etwa 35 Peptiden enthält ein Cluster aus drei

Peptiden mit positiven Seitengruppen, während fast die Hälfte der Seitengruppen (etwa 15) der Aminosäuren hydrophob ist. (c) Modell der piezo-elektrischen Deformation der Membran. Der Übergang vom expandierten zum kondensierten Zustand erfolgt durch Bindung von Cl^- -Ionen an einen Cluster aus drei positiven Aminosäuren der Schleife. Die Peptidschleife wird nach Bindung des Cl^- durch die Hyperpolarisation und der damit verbundenen Neutralisierung der Aminosäuren in die Membran gezogen. Da die Steifigkeit parallel zur Längsachse kleiner als in Richtung des Umfangs ist, führt jede laterale Flächenänderung des Proteins zu einer Längenänderung.

Auch die Mikroarchitektur der OHZ-Hülle weist erstaunliche Ähnlichkeit mit der Verbundmembran der Erythrozyten auf. Die an Prestin reiche Plasmamembran ist an ein gitterartiges Zytoskelett gebunden. Dieses besteht aus parallelen Anordnungen von Aktin-Filamenten, die durch einem Vernetzer (sehr wahrscheinlich Spektrin) verknötet sind. Das Netzwerk besitzt eine orthogonale Grundstruktur und keine hexagonale wie das in Kapitel 9 gezeigte Zytoskelett der Erythrozyten. Die Aktin-Filamente sind ringförmig um den inneren Umfang der Zelle angeordnet, in einem mittleren Abstand von 42 nm. Die Vernetzer sind im Mittel parallel zur Längsachse. Dies ist wohl der Grund für die Beobachtung, dass die Steifigkeit der Zelle in Richtung der Längsachse etwa zehnmal kleiner ist als senkrecht dazu [10]. Die Plasmamembran ist vom Zytoskelett durch säulenartig angeordnete Kopplungsproteine (möglicherweise Ankyrin) ca. 25 nm getrennt.

Der entscheidende Hinweis auf Prestin als Motorprotein der OHZ kam durch die Entdeckung, dass die Entfernung der Chlorid-Ionen aus dem Zytoplasma

sowohl die schnelle Elektromotilität als auch die nichtlineare Ladungsverschiebung (nach Abb. 34.2b) unterbindet, und dass die Zugabe anderer Anionen (wie HCO_3^-) diese Eigenschaften wieder teilweise herstellt [11]. Messungen der maximalen Ladungsverschiebung (d. h. der Amplitude der C-V-Kurve) zeigten, dass diese mit der Chlorid-Konzentration s-förmig zunimmt, ähnlich wie die Ladungsverschiebung als Funktion der Membranspannung $Q(V)$ nach Gleichung (34.2). Aus der Position des Wendepunktes folgt eine Halbwertskonzentration von $[\text{Cl}^-] = 6,3 \text{ mM}$. Einen weiteren Hinweis auf die Rolle der Peptidschleife brachte der Befund, dass der Ersatz des Clusters positiver Aminosäuren durch neutrale die Motorfunktion und die Bindung der Anionen unterdrückt. Daraus kann man schließen, dass der Komplex aus der Peptidsequenz und Anionen einen Spannungssensor bildet.

Dieser könnte etwa wie folgt funktionieren. Im hyperpolarisierten Zustand wird die Bindung des Chlorids an die positiven Aminosäuren durch das negative Potenzial begünstigt. Die neutralisierte Schleife dringt in den hydrophoben Bereich der Membran ein und expandiert diese. Bei Depolarisation wird das Potenzial in der Zelle positiver und die Chlorid-Ionen mit der Schleife werden wieder in das Zytoplasma verschoben, die Zelle verkürzt sich. Wie wir in der Membranphysik (Kapitel 9 und 10) gelernt haben, könnte dabei der *hydrophobe Effekt* als treibende Kraft wirken und nicht die elektrische Energie. Da die Fläche der Membran durch das Eindringen der Peptidschleife in die Lipidmatrix der Zellhülle geändert wird, kann die Elektrostriktion der Zelle bei konstantem osmotischen Druck stattfinden. Einen Hinweis auf die akkordeonartige Deformation liefert die in Abbildung 34.1 gezeigte Reduktion der lateralen Diffusion im verkürzten Zustand (s. auch Übungsaufgabe 34.1).

34.1.2

Die hebelartige Verstärkung der BM-Deformation durch die OHZ

Als Nächstes erhebt sich die wichtige Frage, wie die OHZ zur Verstärkung der Deformation der BM mit dem aufsitzenden Cortischen Organ beitragen können. Das nun klassische Modell von George von Békésy ging von der Annahme aus, dass die Basilar membran allein durch die Wanderwellen deformiert würde und dass dies zur Verbiegung der in die Tektorialmembran eindringenden Stereovilli führt und Aktionspotenziale auslöst. Die Entdeckung der nichtlinearen Verstärkung der BM-Deformation bei hohen Frequenzen brachte das einfache Modell zu Fall und die Beobachtung der Elektromotilität zeigte schließlich, dass die OHZ dabei eine wichtige Rolle spielen.

Dieser Zusammenhang zwischen Elektromotilität und nichtlinearer Verstärkung wurde durch sehr elegante Experimente von Mammano und Ashmore mit optischer Interferometrie hergestellt [12]. In diesen wurde die Reissnersche Membran entfernt, um gleichzeitig die Bewegung der Retikularplatte (engl. *reticular lamina*, RL) und der Basilar membran am Ende des Cortischen Organs mittels Laser-Interferometrie zu analysieren. Abb. 34.4b zeigt eine vereinfachte Darstellung der Messanordnung. Die Relativbewegung der beiden Oberflächen

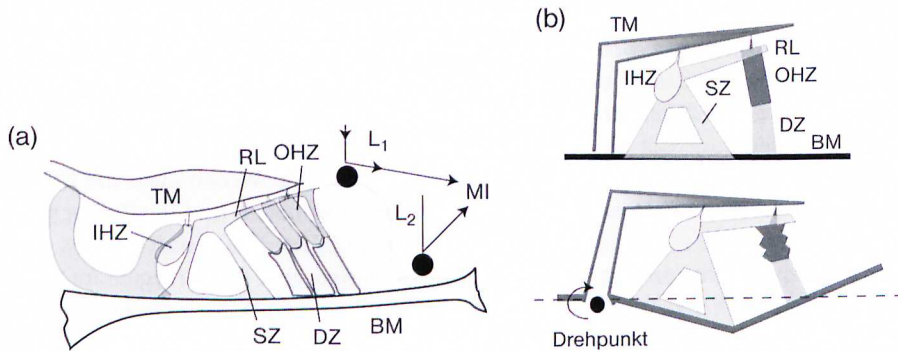


Abb. 34.4 (a) Detaillierteres Bild des Cortischen Organs zur Erinnerung und zur Demonstration der Kopplung der TM mit dem Cortischen Organ. Alle OHZ sind über die steife RL mit der Säulenzelle verbunden. Die Zellen adhären fest auf den Deiterschen Zellen (OZ) und vermitteln so eine enge mechanische Kopplung zwischen der Retikularplatte (RL), den steifen Stützzellen (SZ) und der BM. Die Cilien der OHZ tauchen in die Oberfläche der Tektorialmembran ein. Die Laserstrahlen L₁ und L₂ markieren die Orte der durch Kolloide markierten Positionen, an dem

die spannungsinduzierten Auslenkungen der BM und der RL gemessen wurden. Die Differenz der optischen Weglänge wird mittels eines Michelson-Interferometers dynamisch gemessen (nach [12]). (b) Verstärkung der BM-Deformation durch Kontraktion der OHZ. Die RL wird nach unten und die BM nach oben ausgelenkt. Die steifen Stützzellen vermitteln ein Drehmoment um den linken Kontakt mit der BM. Die TM wird durch die BM-Ausbiegung nach rechts verschoben und deformiert so auch die Haare der IHZ. Der Übersicht halber wurde nur eine OHZ eingezeichnet.

wurde als Funktion der elektrischen Spannung zwischen Scala media und der Scala tympani bestimmt. Die Erregung erfolgte durch kurze Impulse von rund ± 5 mV. Die Experimente zeigten, dass die BM und die Retikularplatte in entgegengesetzte Richtungen ausgelenkt werden. Dabei ist die Auslenkung der BM (mit 2 nm) etwa zehnmal kleiner ist als die der RL.

Diese eleganten Experimente der Gruppe Ashmore führten zu dem in Abbildung 34.4 gezeigten, derzeitigen Bild der Verstärkung der Deformation der BM durch die OHZ. Zum besseren Verständnis wird in der Abbildung auch das schematische Bild des Cortischen Organs nochmals gezeigt. Die OHZ sind mit ihren unteren Enden auf den *Deiterschen Zellen* verankert und mit den oberen Enden fest an die plattenartige Auswüchse der Stützzellen (die sog. Retikularplatten, RL) gekoppelt. Die Stützzellen und die Retikularplatte bilden ein nahezu starres System. Die Cilien ragen aus der RL heraus und tauchen in die Oberfläche der Tektorialmembran ein. Die Verbindung der OHZ und der SZ durch die RL vermitteln eine feste mechanische Kopplung mit der BM. Dadurch entsteht eine hebelartige mechanische Verbindung mit einem Drehpunkt am linken unteren Ende der SZ.

Depolarisiert man nun die Haarzellen mit einem Spannungssprung, so bewegt sich, aufgrund der Kontraktion der OHZ, die BM nach oben und die Retikularplatte nach unten (Abb. 34.4). Das linke Ende der BM bleibt dabei am Drehpunkt des Hebelsystems fixiert, um den sich die Grundplatte der Stützzellen dreht. Es

ergibt sich danach folgendes Bild der Verstärkung des akustischen Signals. Eine kleine Deformation der BM induziert eine Auslenkung der Cilien der OHZ. Diese kontrahieren sich und verstärken so die Deformation der BM um etwa einen Faktor 10. Wir werden im nächsten Abschnitt sehen, wie die Richtung ihrer Auslenkung das Vorzeichen der Änderung des Membranpotenzials bestimmt. Durch die Verstärkung der Auslenkung der BM werden auch die Cilien der IHZ durch Kontakt mit der Tektorialmembran verbogen und die Zellen werden depolarisiert.

Die Experimente an dem Cortischen Organ werfen viele neue Fragen auf. Insbesondere zeigt sich, dass die Signalverstärkung im Gehör auf einem komplexen Zusammenspiel zwischen zellulären Prozessen und viskoelastischen Eigenschaften des Gewebes beruht. Es gibt noch viele Probleme auf dem Gebiet der elektro-mechanischen Signalübertragung in dem Cortischen Organ. Offene Frage sind insbesondere, welche Rolle die mechanischen Eigenschaften der Tektorialmembran bei der Signalübertragung spielen oder ob die Empfindlichkeit der OHZ über die vielen afferenten Nerven durch das ZNS an die Lautstärke oder Frequenz adaptiert wird. Auch die Frage der Kopplung der Stereovilli und der TM ist weitgehend offen. Mit wenigen Ausnahmen wurden fast alle Experimente bei relativ niedrigen Frequenzen und an Einzelzellen durchgeführt. Bei hohen Frequenzen könnten neue Phänomene auftreten. Aber das Wenige, was wir wissen, zeigt eindrucksvoll, was für ein genialer Konstrukteur die Natur ist.

34.2

Innere Haarzellen als passive und aktive mechano-elektrische Transformatoren

Im vorherigen Abschnitt lernten wir, dass die OHZ zur überproportionalen Verstärkung schwacher Auslenkungen der Basilarmembran dienen und so die Dämpfung hochfrequenter Wanderwellen in der Cochlea kompensieren. Die Frage ist daher, ob dies ausreicht, dass wir Signale hören können, deren Energien in der Nähe von $k_B T$ liegen, oder ob die IHZ (die Überträger der mechanischen Deformation in elektrische Signale an das ZNS) ebenfalls zur Signalverstärkung beitragen können. Tatsächlich besitzen viele Tiere mit empfindlichem Hörsinn (wie Amphibien) nur IHZ [13] und man erwartet daher, dass auch diese Zellen die Fähigkeit zur nichtlinearen Verstärkung mechanischer Signale besitzen. Dies zeigt sich auch schon darin, dass diese IHZ die Quellen der *oktoakustischen Emission* sind.

Wir beginnen mit der Darstellung der Mikroanatomie und Funktion der IHZ. Im zweiten Teil beschreiben wir einige fundamentale und elegante mikromechanische Experimente, die beweisen, dass die IHZ frequenzselektive nichtlineare Verstärker und aktive Emittter akustischer Signale sind. Wir werden sehen, dass dabei mechanisch aktivierbare Kationen-Kanäle eine wesentliche Rolle spielen, deren Aktivität durch die laterale Membranspannung reguliert wird. Die Myosin-Motoren spielen nur eine indirekte Rolle für die mechanischen Stabilisierung der Stereocilien (Haare) sowie die Adaption der Hörempfindlichkeit an den Geräuschpegel.

Die im Folgenden beschriebenen Erkenntnisse wurden an den IHZ der Amphibien (insbesondere denen des Ochsenfroschs) gewonnen. Experimente an Amphibien sind einfacher, da deren optimaler Frequenzbereich unterhalb 1 kHz liegt [13]. Man nimmt aber allgemein an, dass auch die IHZ der Säugetiere ähnliches Verhalten zeigen.

34.2.1

Zur Mikroanatomie und Funktion der inneren Haarzellen

Die wie Orgelpfeifen angeordneten Stereovili (Abb. 34.5) sind die eigentlichen mechanischen Sensoren des Ohrs. Ihre Auslenkung in Richtung der Kinocilie (oder des längsten Haares) führt zur Depolarisation und in umgekehrter Richtung zur Hyperpolarisation der Zelle. Auslenkungen senkrecht zur Symmetrieebene der Haare zeigen keine Wirkung.

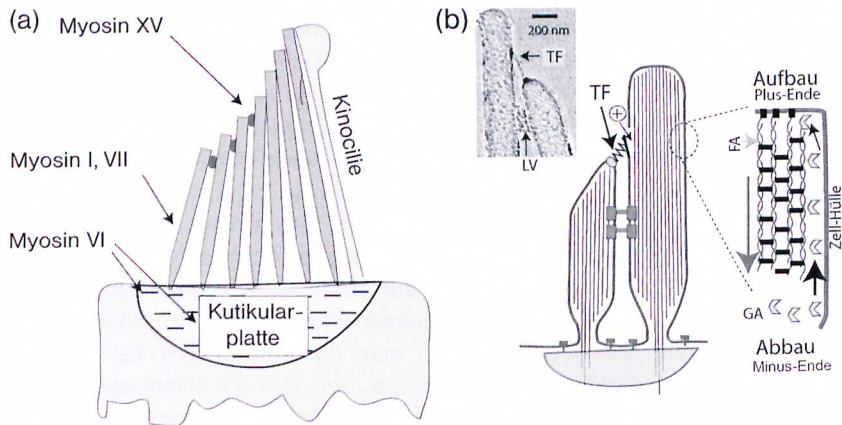


Abb. 34.5 Dynamische Struktur der Stereocilien. (a) Grobstruktur des apikalen Teils der Haarzellen. Aufbau aus 30–300 Haaren (oft auch Cilien oder Stereovili genannt) und einem großen Kinocilium. Dieses wird im Inneren durch Mikrotubuli und nicht Aktin stabilisiert und bestimmt die Polarität der Anordnung der Haare. Seine Entfernung während der embryonalen Entwicklung führt zur Ausbildung chaotischer Anordnungen der Stereovili (s. [14]). Man beachte die Verankerung der Aktin-Bündel in der Kutikularplatte. (b) Feinstruktur der Stereovili. Diese werden durch parallele Anordnungen lateral vernetzter Aktin-Filamente stabilisiert. Die Filamente tauchen mit dem (–)-Ende tief in die Kutikularplatte (KP) ein und docken an der Spitze mit den (+)-Enden an der Plasmamembran an, wobei die Kopplung über Myosin XV vermittelt werden könnte. Es gibt zwei Mechanismen der lateralen Kopplungen zwischen

benachbarten Haaren: eine von den Spitzen zum benachbarten (größeren) Haar reichende Verbindung und mehrere laterale Verbindungen (LV), die in dem elektronenmikroskopischen Bild gut zu sehen sind. Die erste mit horizontalem Pfeil markierte Verbindung, die wir Triggerfeder (TF) nennen, spielt eine zentrale Rolle für die mechanische Öffnung der Kationen-Kanäle. Eine durch mechanische Deformation der Bündel (oder einzelnen Haaren) verursachte mechanische Spannung der Verbindung führt zur Öffnung der Kanäle und dem Einfluss von Ca^{2+} in die Zelle, wodurch Aktionspotenziale ausgelöst (getriggert) werden. Man nennt sie daher auch die Triggerfeder (engl. *gating spring*). Die Aktinfilamente (FA, für F-Aktin) werden in einem Tretmühlenprozess ständig am unteren Ende abgebaut und die Monomere (G-Aktin, GA) werden an die Spitzen transportiert, um wieder an die Plus-Enden angebaut zu werden.

Die elektrische Membranspannung der Haarzellen (IHZ und OHZ) wird durch das sehr schnelle mechanische Öffnen und Schließen der für K^+ und Ca^{2+} durchlässigen Kanäle in den Membranen der Haare kontrolliert (s. Abb. 34.6). Diese spielen somit eine ähnliche Rolle wie die Triggerkanäle in den Nervenzellen. Sie sind in dem (im EM sichtbaren) elektronendichten Bereich der Haare lokalisiert (s. Einsatz in Abb. 34.10b) und ihre elektrische Leitfähigkeit wird durch die federartige Verbindung zwischen diesem Bereich und der Spitze des Haares kontrolliert, wie wir weiter unten sehen werden.

Die mechano-elektrische Antwort zeigt zwar Sättigung, jedoch kein Schwellverhalten. Der Hörsinn scheint also bis zur Grenze des thermischen Rauschens zu funktionieren. Tatsächlich können die Haarzellen als selbsterregende nichtlineare Oszillatoren betrieben werden, die schwache Signale frequenzselektiv und phasentreu verstärken können (wie wir in Kapitel 17 lernten).

Die Stereovilli sind sehr dynamische Strukturen. Aktin wird laufend am basalen Ende ab- und am apikalen aufgebaut. Die Geschwindigkeit des Tretmühlenprozesses ist erstaunlicherweise proportional zur Länge der Haare, sodass die Verteilung ihrer Längen stationär ist.

34.2.2

Stereocilien (Stereovilli) sind dynamische Strukturen erstaunlicher Komplexität

Allein der Aufbau der IHZ ist ein Wunderwerk der biologischen Morphogenese (Abb. 34.7). Die Stereovilli (etwa 30–100 pro Zelle) sind in mehreren Halbkreisen um das besonders lange Kinocilium angeordnet, das die Richtung der mechano-elektrischen Antwort festlegt. Diese während der embryonalen Entwicklung entstehende Anordnung geht verloren, wenn man die Bildung des Kinociliums durch Mutation verhindert [14]. Es scheint auch, dass sich die Haare nach Schädigung durch Hörtraumata nicht mehr richtig regenerieren können. Die ca. 250 nm breiten Stereocilien werden durch parallele Bündel von Aktin stabilisiert, die durch den Vernetzer *Espin* verbunden werden. Sie sind mit den (+)-Enden an der Spitze und mit den (–)-Enden in der Kutikularplatte verankert.

Die quasikristalline Anordnung des Aktins wird ständig in einem Tretmühlenprozess (engl. *treadmilling*) am basalen Ende abgebaut und am apikalen aufgebaut. Dies wurde in außerordentlich schönen Experimenten mittels Mikrofluoreszenz gezeigt [15]. In diesen wurden GFP-markiertes Aktin (und *Espin*) durch Gen-Transfer in den Zellen exprimiert und die Verteilung der Proteine in den Haaren zu verschiedenen Zeiten nach der Transfektion mittels konfokaler Mikroskopie beobachtet (s. Übungsaufgabe 34.2). Dabei zeigte sich, dass mit GFP markiertes Aktin ständig an der Spitze der Haare eingebaut wird, wobei sich ein frisch eingebautes Aktin-Monomeres in rund 48 Stunden zur Basis verschiebt. Am erstaunlichsten ist die noch unverstandene Beobachtung, dass der Tretmühlenprozess in den verschiedenen langen Haaren so synchronisiert erfolgt, dass die Zeiten, die Aktin braucht, um von der Spitze zur Basis zu laufen, unabhängig von der Länge der Haare sind. Die Einbau-Geschwindigkeit an der Spitze variiert vom $2 \cdot 10^{-3}$ – $4 \cdot 10^{-2}$ Monomere sec^{-1} .

Der Mechanismus des synchronen Tretmühlenprozesses ist eine noch offene Frage. Er ist eng mit der Verteilung von vier Gruppen von Myosinen (Myo I, Myo VI, Myo VII und Myo XV) in den Cilien und deren spezifischen Eigenschaften verbunden. Eine ausführliche Darstellung unserer heutigen Kenntnis findet man in [16]. Myosin XV ist ein Motor mit einem Kopf (analog zu Myo I). Es ist an der Spitze der Stereocilien lokalisiert. Myosin VII besitzt (wie Myo I) am Schwanzende eine große Domäne, die so genannte *ERM-Domäne* wie Talin oder Bande IV, die an interzelluläre Domänen der Rezeptoren binden kann (s. Kapitel 9 und 19). Es könnte daher dazu dienen, die Aktin-Filamente an Rezeptoren (z. B. Integrine) zu binden, welche die Haarspitzen an die Kollagen-Filamente der Tektorialmembran koppeln. Fehlt Myo XV (z. B. in sog. *Shaker-Mutanten*), so werden die Haare sehr kurz ($< 1 \mu\text{m}$ gegenüber den normalen $5 \mu\text{m}$ Länge). Myosin VII ist ein prozessiver Motor. Auch er besitzt wie Myo XV und Talin eine Domäne, mit der er an Zellrezeptoren oder Kanäle binden kann. Er ist in der unteren Hälfte der Haare konzentriert. Seine Funktion ist noch unklar. Entfernung des Motors durch Mutation führt jedoch zur Taubheit.

Myosin VI ist ein Sonderfall, da er (im Gegensatz zu den anderen Motoren) in Richtung des (-)-Endes läuft. Dieser prozessive Motor stabilisiert die Stereovili, indem er die Aktin-Filamente in der Kutikularplatte verankert. Dies erfolgt möglicherweise, ähnlich wie bei den Cilien normaler Zellen, dadurch, dass die Filamente sich verzweigen und eine Art Wurzelwerk im Aktin-Kortex des Zellkörpers bilden (s. Abschnitt 18.8). Entfernt man Myo VI, so fusionieren die Haare zu einer einzigen labilen Ausstülpung, mit fatalen Folgen für die Hörfähigkeit. Myosin I spielt eine zentrale Rolle für die Adaption der Empfindlichkeit an den Schallpegel, wie wir noch sehen werden.

34.3

Mikroviskoelastische Experimente entlarven Stereovili als frequenzselektive nichtlineare Verstärker und aktive mechanische Oszillatoren

Wie erwähnt, besitzen Amphibien keine OHZ und die hohe Empfindlichkeit ihres Hörsinns ist allein durch die IHZ bestimmt. Sie müssen also ebenfalls die Fähigkeit zur nichtlinearen Verstärkung schwacher Signale und zur aktiven Emission von Schall (der sog. oktoakustischen Emission) besitzen. Zahlreiche elegante mikromechanische Experimente (vor allem der Gruppe von A. Hudspeth) an Haarzellen des Innenohres (dem Sacculus) des Ochsenfrosches (engl. *bullfrog*) zeigten, dass die aktive Bewegung der Stereocilien für die nichtlineare Signalverstärkung und die aktive Schallemission verantwortlich ist. Wir behandeln die mechano-elektrischen Experimente etwas ausführlicher, weil sie sehr eindrucksvoll zeigen, wie man mit geschickten mikroviskoelastischen Experimenten und Nachdenken komplexe zelluläre Prozesse aufklären kann. Wir möchten auch zeigen, wie vorsichtig man bei der Interpretation mikrorheologischer Experimente an Zellen sein muss.

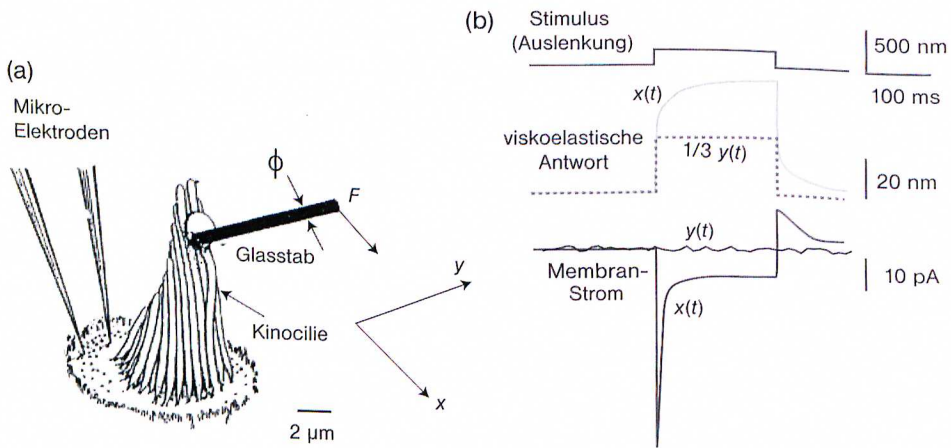


Abb. 34.6 Kriech-Experiment zur Aufklärung der nichtlinearen Verstärkerfunktion der IHZ. (a) Messanordnung nach [17, 18]. Die mechanische Erregung erfolgt mit einem feinen Glasstab ($L \sim 200 \mu\text{m}$, $\Phi \sim 0,5 \mu\text{m}$), der mit einem Ende am längsten Haar (in der Regel die Kinocilie) haftet, während das andere Ende piezoelektrisch bewegt wird. Gleichzeitig kann die elektrische Membranspannung über Mikroelektroden verändert oder gemessen werden. Die mechanische Steifigkeit k_f der Glasfaser wird in einem separaten Experiment bestimmt, und zwar durch Fourier-Analyse seiner Brownschen Bewegung (s. Kapitel 8). Die Messzelle mit den IHZ wird auf dem Tisch eines Durchlichtmikroskops etabliert. Die

Bewegung der Glasfaser wird durch Projektion des Bildes der Spitze der Kinocilie auf eine Zwei-Sektor-Photodiode (analog zu Abb. 34.1) mit $\pm 1 \text{ nm}$ Auflösung bestimmt (nach [17, 18]). (b) Messung der Richtungscharakteristik der viskoelastischen Antwort (mittlere Spur) auf eine impulsförmige mechanische Deformation (obere Spur) von 500 nm in radialer (x) und tangentialer Richtung (y) zur halbkreisförmigen Anordnung der Haare. Die untere Spur zeigt die durch einen Spannungssprung induzierte Änderung der elektrischen Spannung der Zellmembran. Das Kriech-Experiment zeigt, dass nur im ersten Fall die Deformation der Haare mit einer Depolarisation der IHZ verbunden ist.

Abbildung 34.6 zeigt das generelle Schema der mechano-elektrischen Experimente [17]. Zur mechanischen Stimulation dient eine dünne, an der Kinocilie ange dockte Glasfaser, die in horizontaler Richtung durch einen piezoelektrischen Aktuator ausgelenkt wird. Gemessen wird der Zusammenhang zwischen der Auslenkung $x(t)$ der Spitze der Haare (meist des Kinociliums) und der Kraft $F(t)$, wobei stufenförmig oder periodisch angeregt werden kann.

Wie in der Rheologie üblich, wurden zwei Gruppen von Experimenten durchgeführt:

1. parallele Messungen der durch starke Kraftimpulse $\Delta F(t)$ induzierten Auslenkung der Bündel und der Änderung der elektrischen Membranspannung und
2. Messungen der Relaxation der internen Spannung des Haarbündels nach einer stufenartigen Deformation mit konstanter Amplitude, ebenfalls verbunden mit einer parallelen Messung des Stromes.

Ersteres entspricht den Kriechexperimenten und letzteres den Spannungs-Relaxationsexperimenten der Rheologie. Im zweiten Fall wurde über eine Rückkopplung die Kraft bestimmt, die aufgewendet werden muss, um die Auslenkung der Haarbündel festzuklemmen.

Wir gehen bei der nun folgenden Beschreibung der Experimente und deren Ergebnisse davon aus, dass der Leser die Prinzipien der Rheologie kennt. Falls nicht, sollte er sich vor dem Lesen mit den (in Kapitel 26 beschriebenen) Konzept der *Viskoelastizität* vertraut machen. Referenzen über die mikroviskoelastischen Experimente an Haarzellen findet man in den Originalarbeiten der Gruppe Hudspeth [17–19].

Die mittlere Spur der Abbildung 34.6b zeigt die durch den Kraftimpuls induzierte Auslenkung der Kinocilie, wobei die Kraft einmal parallel (d. h. in x -Richtung) und einmal senkrecht zu der Symmetrieachse der Stereocilien orientiert war. Der Zeitverlauf der Auslenkung ist für die beiden Richtungen völlig verschieden:

1. Die Auslenkung in Richtung x -Achse besteht aus einem sehr schnellen Sprung, der von einem langsameren Kriechen gefolgt wird. Der anfängliche Sprung ist typisch für einen *Hookeschen Körper*, während die nachfolgende langsame Deformation darauf hinweist, dass die Cilien weicher werden. In anderen Worten, der Widerstand der Cilien relaxiert mit einer Relaxationszeit τ .
2. Legt man die Kraft senkrecht zu Hauptrichtung x an, so verhält sich das Bündel völlig elastisch (s. gestrichelte Kurve in Abb. 34.6b).

Vom Standpunkt der in Kapitel 26 dargestellten Theorie viskoelastischer Körper könnte man das zeitliche Verhalten der Deformation in x -Richtung durch einen *Kelvin-Körper* repräsentieren. Dieser besteht aus einer parallelen Anordnung zweier mechanischer Elemente: einer Feder und einer Reihenschaltung aus einer Feder und einem Dämpfer (Abb. 34.8). In diesem Bild könnte man eine der Federn der Verbiegung der Haare und die andere der im Elektronenmikroskop beobachteten federartigen Verbindung zwischen den Haarspitzen und den benachbarten Stereovili zuordnen [17].

Diese Überlegungen führte zu dem in Abbildung 34.8b gezeigten Modell der durch die mechanische Spannung der Triggerfeder induzierten Öffnung der Triggerkanäle. Dies führt zum schnellen Einstrom von Ca^{2+} - und K^+ -Ionen in die Zelle. Diese wird dadurch depolarisiert und sendet über die Synapsen ein Signal zum ZNS. Das Modell basiert auf der Idee des Triggerstromes, den wir schon aus dem Kapitel 15 kennen. (s. Abb. 15.8). Dort war es auch so, dass die Natriumkanäle erst geöffnet werden, nachdem ein Triggerstrom geflossen ist. Es liefert aber keine Erklärung für die nichtlineare Verstärkung und die aktive Oszillation der inneren Haarzellen, die wir oben beschrieben haben.

Ein ganz anderes und viel interessanteres Bild der viskoelastischen Antwort der IHZ liefert das zweite fundamentale Experiment mit der *Deformationsklammer*, in dem die ursprüngliche Methode in zweifacher Weise verbessert wurde [18, 19]:

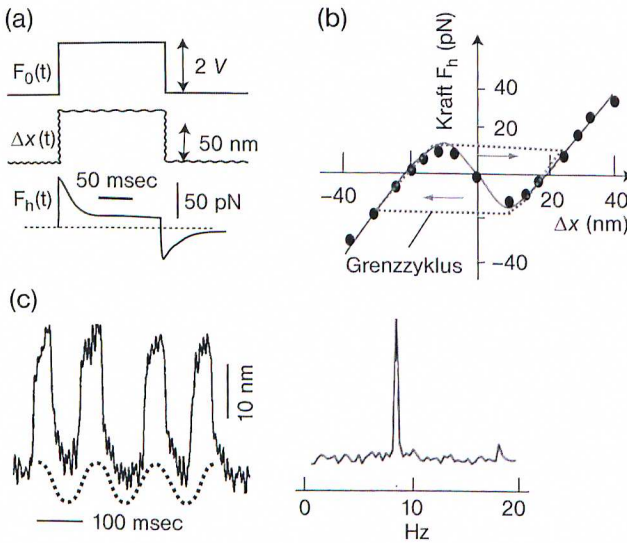


Abb. 34.7 Innere Haarzellen als Quellen der oktoakustischen Emission. (a) Viskoelastische Antwort (mittlere Spur) der IHZ unter der Bedingung der konstanten Auslenkung Δx der Kinocilie. Die obere Spur zeigt den Kraftimpuls (Konditionierungsimpuls genannt) zur Festlegung der Auslenkung Δx mit einem piezoelektrischen Aktuator. Die mittlere Spur beweist, dass die Auslenkung durch die Kontrolle der Kraft konstant gehalten werden kann. Die untere Spur zeigt die Haltekraft F_{h1} , die aufgewendet werden muss, um die Auslenkung während der Deformation konstant zu halten. Sie relaxiert in ca. 30 msec auf einen kleineren Wert. (b) Mit der Deformationsklammer bestimmte Kraft-Dehnungs-Kennlinie der IHZ des Ochsenfrosches. Dargestellt ist die zur Festlegung der Auslenkung notwendige Haltekraft F_{h1} als Funktion der Dehnung (Δx). Bei kleinen Dehnungen von ca. ± 12 nm

ist die Auslenkung der Bündel der Deformation entgegen gerichtet, was einer negativen Steifigkeit der Bündel entsprechen würde. Die IHZ werden daher im Bereich kleiner Deformationen zum selbsterregenden Oszillator wie wir aus Kapitel 17 wissen. Die gestrichelte Kurve zeigt den aus den Messungen abgeleiteten Grenzkreis der Oszillation. (c) Demonstration der phasenstabilen Verstärkung der Deformation der Bündel bei einer oszillatorischen Anregung (gestrichelte Kurve) in der Nähe ihrer Eigenfrequenz ($\nu_0 \approx 9$ Hz). Das rechts gezeigte Fourier-Spektrum der Oszillationen zeigt die Verschärfung der Bandbreite des Oszillators und die Abwesenheit von großen Seitenbändern. Man beachte, dass die Oszillationen eine gewisse Ähnlichkeit mit denen des van der Pol-Oszillators besitzen. (Nach [19].)

1. Um biologisch realistische Situationen zu schaffen, wurden die IHZ so in spezielle Messzellen eingebettet, dass die apikale Hälfte einem Elektrolyten mit ähnlicher Zusammensetzung wie die Endolymphe (d.h. der wenig Na^+ enthielt) und die basale dem Na^+ -reichen Standardpuffer ausgesetzt war; analog zu der in Abbildung 34.2 gezeigten Anordnung.
2. An Stelle des Kriechexperiments wurden Spannungs-Relaxations-Experimente durchgeführt. Dabei wurden die Bündel mit einem starken Kraftimpuls um einen festen Betrag Δx ausgelenkt und die Kraft gemessen, die notwendig ist, um die Auslenkung des Bündels festzuklemmen. Man spricht dann von

einer Deformationsklammer (in Analogie zur Methode der Spannungsklammer der Neurophysik in Kapitel 14).

Das Experiment brachte zwei große Überraschungen:

1. In der bioanalogen Umgebung zeigen die Haarzellen spontane Oszillationen der Bündel mit einer Frequenz von $\nu_s \approx 9$ Hz (Abb. 34.7c). Bei oszillatorischer mechanischer Stimulation des Bündels im Bereich der Eigenfrequenz der Haarzellen findet eine *phasenstabile* Verstärkung der Oszillationen statt, und zwar schon bei sehr kleinen Auslenkungen von $\delta x \approx 1$ nm. Die etwas verzerrten natürlichen Oszillationen der IHZ werden geglättet, wie die sehr scharfe Linie im Fourier-Spektrum auf der rechten Seite der Abbildung 34.7c zeigt. Wie wir in Kapitel 17 lernten, ist dies das typische Verhalten autonomer nichtlinearer Oszillatoren.
2. Misst man die zum Festklemmen der Dehnung notwendige Kraft F_h (wir nennen sie Haltekraft) als Funktion der Dehnung Δx (was der *Kraft-Dehnungs-Kennlinie der IHZ* entspricht), so beobachtet man bei kleinen Dehnungen plötzlich eine Abnahme der Kraft mit der Dehnung. Die F_h - Δx -Kennlinie besitzt also eine negative Steigung (Abb. 34.6c). Wie im Fall des Nagumo-Modells der Neuronen oder dem von der Pol-Generator bedeutet dies, dass die IHZ in der Tat zum selbsterregenden Oszillator wird. Dies ist offenbar auch die Ursache der oktoakustischen Emission der Hörorgane.

Eine für unseren Hörsinn wichtige Konsequenz des nichtlinearen Verhaltens der IHZ ist die Verstärkung schwacher akustischer Signale im Bereich der Eigenfrequenz des Grenzyklus und die phasenstabile Verstärkung externer Kräfte. Letzteres zeigt die sehr scharfe Linie des Fourier-Spektrums und die Unterdrückung von Seitenbänder der Oszillation bei periodischer Anregung mit der Eigenfrequenz von ~ 9 Hz (Abb. 34.7c). Erstaunlicherweise setzt die phasenstabile Verstärkung schon bei sehr kleinen Deformationsamplituden von 1 nm ein.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die hohe Empfindlichkeit und der große dynamische Bereich unseres Hörsinns auf zwei subtilen Verstärkern beruhen. Die OHZ sorgen für die Verstärkung der Schwingungen der Basilarmembran, um die Dämpfung der Wanderwelle bei hohen Frequenzen zu kompensieren. Die nichtlineare Signalverstärkung extrem kleiner Deformationen durch die IHZ und deren Fähigkeit zur phasenstabilen Verstärkung akustischer Signale bilden die Basis für die beeindruckende Empfindlichkeit unseres Hörsinns. Hinzu kommt noch die in Abschnitt 34.4 diskutierte Fähigkeit der Zellen zur Adaption der Kraft-Spannungs-Kennlinie an die Lärmpegel, dies uns ermöglicht, spezifische Signale aus einem starken Untergrund herauszuhören.

34.3.1

Modell der aktiven Bewegung der inneren Haarzellen

Man kann die aktive Bewegung der Stereocilien auf der Basis des in Abbildung 34.8a gezeigten mechanischen Äquivalenzmodells verstehen. Es besteht aus dem oben erwähnten Kelvin-Körper mit einem Generator, der für die aktive Kraft der Triggerfeder sorgt (welche die Spitze der Haare mit den Triggerkanälen verbindet). Die Spannung der Triggerfeder ist durch den Bruchteil offener Kanäle bestimmt. Die Feder ist im Ruhezustand vorgespannt. Öffnen der Kanäle führt zu einer aktiven Kraft auf die Triggerfeder, die in Richtung der äußeren Kraft der Triggerfeder wirkt und so die scheinbare Steifigkeit der Triggerfeder reduziert. Jeder offene Kanal erzeugt eine Kraft f^* . Ein äußere Kraft F_{ex} (durch Auslenkung der Kinocilie) wird durch drei Beiträge kompensiert:

$$F_{\text{ex}} = \mu_1 \dot{x} - g p_0(t) + F_0 \quad (34.3)$$

Der erste Term ist die Spannung der Triggerfeder, der dritte eine Vorspannung und der mittlere die aktive Kraft. Sie ist proportional zum Bruchteil $p_0(t)$ der zur Zeit t geöffneten Triggerkanäle. Der Faktor $g = N f^*$ ist gleich dem Produkt aus der Zahl N der Kanäle pro Bündel und der Kraft f^* pro Kanal.

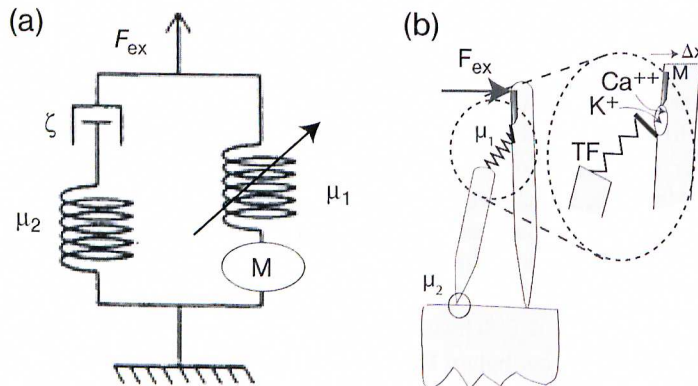


Abb. 34.8 (a) Aktiver Kelvin-Körper als mechanisches Ersatzschaltbild der adaptiven Haarbündel. F_{ex} ist die externe Kraft. μ_1 und ζ_1 repräsentieren die viskoelastischen Parameter (Steifigkeit und Reibung) der Auslenkung der Haare in x -Richtung (wobei es sich um eine Biegung oder Rotation um die Verankerung in der Kutikula handeln könnte). Der rechte Zweig besteht aus der Triggerfeder TF, dem Motor M zur Adaption der Empfindlichkeit und einem Stellglied, das die Steifigkeit μ_2 der Feder TF über die Leitfähigkeit der Kanäle einstellt. Im Ruhezustand ist die Torfeder μ_1

gespannt und erzeugt eine Kraft von rund 10 pN. (b) Zuordnung der Elemente des aktiven viskoelastischen Modells zu Komponenten der IHZ (s. auch Abb. 34.3). Die Triggerfeder TF ist im Ruhezustand gespannt. Ein molekulares Modell des Motors M zeigt Abbildung 34.10. Auslenkung der Haarbündel in Richtung der Kinocilie durch die externe Kraft (+ x -Richtung) öffnet Ca^{2+} - und K^+ -Ionen-Kanäle und führt zur Depolarisation der IHZ. Auslenkung nach links schließt die Kanäle und die Zelle wird hyperpolarisiert.

Wie wir bei der Diskussion kooperativer Prozesse mehrfach gelernt haben (z. B. in Kapitel 7.2 und Anhang 15.B), erhalten wir nichtlineare Kraft-Dehnungs-Kennlinien, wenn der Bruchteil offener Kanäle die Form einer modifizierte Boltzmann-Verteilung hat. Im Fall der kooperativen Zunahme der offenen Kanäle mit der Energie $f^*(x-x_0)$ hat sich folgender Ansatz als erfolgreich erwiesen [19]:

$$p_0(f^*) = \frac{1}{1 + \exp\{-f^*(x-x_0)/k_B T\}} \quad (34.4)$$

Der Vergleich des Modells mit dem Experiment lieferte folgende Kontrollparameter der Gleichung (34.3): $\mu_1 \approx 0,7 \mu\text{N m}^{-1}$; $N = 50$ und $f^* \approx 0,7 \text{ pN}$. Nichtstabiles Verhalten erhält man für kleine Auslenkungen.

Auf der Basis des Triggerfeder-Modells der Haarzellen wurden elegante generische theoretische Modelle entwickelt, die auf der Idee basieren, dass sich die IHZ in der Nähe eines kritischen Zustands befinden und durch schwache externe Signale oder thermisches Rauschen in Grenzyklen überführt werden können, ganz ähnlich wie wir es bei der Diskussion des van der Pol-Generators kennen lernten. Diese Situation kann durch das elegante theoretische Konzept der Hopf-Bifurkationen beschrieben werden. Da die Darstellung der Theorie den Rahmen des Buches sprengen würde, verweisen wir den theoretisch interessierten Leser auf die Originalliteratur [20].

34.4

Innere Haarzellen besitzen die Fähigkeit zur biphasischen Adaption der Empfindlichkeit

Eine andere äußerst erstaunliche und für unser Leben extrem wichtige Fähigkeit der IHZ ist ihre Adaption der Empfindlichkeit an Dauer und Stärke der mechanischen Deformation. Auch hier wissen wir aus dem, was wir bisher über die Adaption der Sehzellen in Kapitel 9 oder des chemotaktischen Sensors der Bakterien in Kapitel 21 gelernt haben, dass die Adaption durch Verschiebung der F - Δx -Kennlinie erreicht werden kann. Im Fall des Hörens geht es um die Adaption der Kennlinie an den Geräuschpegel, der einer konstanten Auslenkung in Abb. 34.8 entspricht.

Die Fähigkeit der IHZ zur Adaption wurde durch folgende eleganten Experimente unter der Bedingung der Deformationsklammer (Abb. 34.7) nachgewiesen. Um herauszufinden, wie eine feste Vordeformation der Haare die Empfindlichkeit der IHZ verändert, wurden die Bündel mit einem Kraftimpuls (Konditionierungsimpuls \equiv KI) für etwa 200 msec um einen festen Betrag ($\Delta x_0 \sim 0,5 \mu\text{m}$) ausgelenkt (Abb. 34.9). Nach Beginn des KI und nach festen Zeitintervallen (δt) wurden zusätzlichen Deformationsimpulse Δx angelegt und die dadurch ausgelösten Änderungen der Ströme $I(\Delta x, \delta t)$ durch die Zellmembran bestimmt. Die impulsartigen Auslenkungen (Impulsdauern $\Delta t = 10 \text{ msec}$) erfolgten z. B. durch lokale hydrodynamische Strömungen, die über Mikropipetten appliziert wurden [4]. Die Experimente simulieren eine praktisch wichtige Situation,

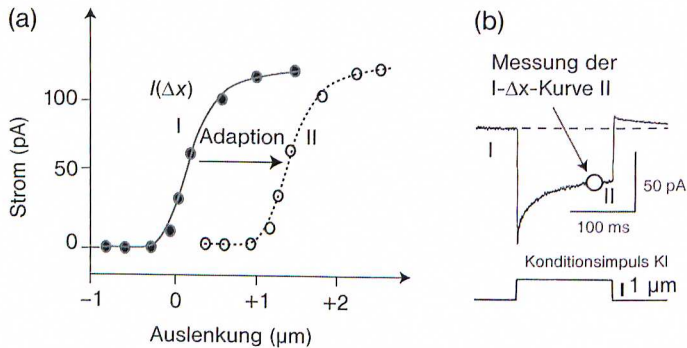


Abb. 34.9 Experimentelle Demonstration der Adaption der IHZ. (a) Die linke Kurve zeigt die $I(\Delta x)$ - Δx -Kennlinie der Auslenkung der Haare vor der Vordeformation durch die 200 msec dauernde Kraft und die rechte ca 50

msec danach. (b) Der Einsatz rechts zeigt die Relaxation des Stromes für eine Auslenkung $\Delta x_0 = 1 \mu\text{m}$, sowie den Punkt an dem die rechte I - Δx -Kurve (II) in a gemessen wurde. (Daten nach J. Holt und D. Corey [4].)

denn sie zeigen wie sich das Gehör verhält, wenn es Signale aus einem Geräuschpegel herausfiltern muss.

Durch Variation der Amplituden Δx erhält man die Strom-Deformations-Kennlinien als Funktion der mechanischen Vorspannung. Man misst den Strom mittels PCT und nimmt an, dass dieser ein Maß für die Zahl der geöffneten Kanäle ist. Abbildung 34.9 zeigt die so gewonnenen $I(\Delta x)$ - Δx -Kennlinien. Wie man sieht, haben diese dieselbe Form, aber die nach dem Konditionierungsimpuls bestimmte Kurve ist nach höheren Auslenkungen verschoben. Mit anderen Worten: Die IHZ hat ihre Empfindlichkeit so adaptiert, dass ihr Optimum bei höheren Auslenkungen liegt.

Das skizzierte Experiment zeigt, dass der Prozess eine Adaptionszeit von ca. 25 msec benötigt (die gleich der Relaxationszeit der Abb. 34.7 ist). Experimente mit höherer Zeitauflösung zeigen, dass noch ein schnellerer Adaptionsprozess mit ca. 1 msec Ansprechzeit existiert, der möglicherweise für die Adaption an Töne spezifischer Frequenzen sorgt. Eine gute Darstellung findet man in dem Übersichtsartikel von R. Holt und D. Corey [4].

34.4.1

Zwei molekulare Modelle der Adaption

Es gibt zwei molekulare Modelle der Adaption (s. [4]). Das eine basiert auf der Idee, dass durch die Deformation Ca^{2+} -Kanäle geöffnet werden, welche den Ca^{2+} -Spiegel in der Zelle erhöhen. Dadurch könnte die Zahl offener spannungsabhängiger Triggerkanäle, welche die Position x_0 der Kennlinie bestimmt, verändert werden. Dieser Prozess könnte für die schnelle Adaption mit 1 msec Ansprechzeit verantwortlich sein.

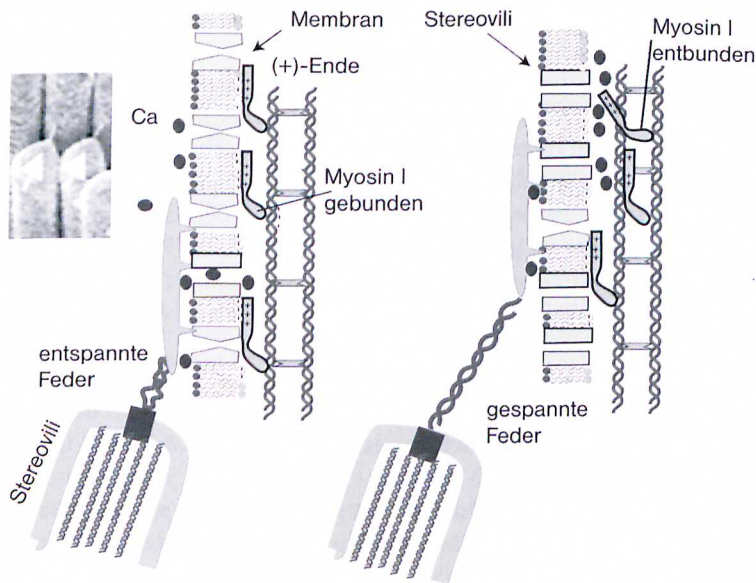


Abb. 34.10 Modell der Adaption durch Zusammenspiel der Triggerfeder und der Myosin I-Motoren. Im Ruhezustand ist die Triggerfeder leicht gespannt und nur wenige Kanäle (typischerweise $p_o \sim 5\%$) sind offen. Wird das Bündel nach rechts ausgelenkt, wird die Triggerfeder gespannt und die Kanäle öffnen sich (rechtes Bild). Mit zunehmender Auslen-

kung entkoppeln die Motorköpfe von Aktin aufgrund der Rückstellkraft der Triggerfeder, und die Kanäle rutschen nach unten. Dadurch entspannt die Triggerfeder, Kanäle werden wieder geschlossen und das System kehrt zum Punkt maximaler Empfindlichkeit zurück. (Nach [4].)

Das zweite Modell beruht auf der Idee, dass die Adaption durch die mechanische Vorspannung der Triggerfeder kontrolliert wird, welche die Zahl offener Kanäle festlegt. Es wird dabei angenommen, dass die Zahl offener Kanäle Np_o in Gleichung (34.3) immer auf einem optimalen Wert (ca. 10–20%) festgeklemmt wird [17].

Wir wollen uns nur dieses Modell genauer ansehen, da es die Myosin-Motoren in den Cilien ins Spiel bringt. Wie Abbildung 34.10 zeigt, erzeugen die Motoren eine Kraft in Richtung der Spitze, welche die Triggerfeder dehnt, bis Gleichgewicht herrscht. Eine wichtige Voraussetzung für den Mechanismus der Adaption in diesem Modell ist, dass die Motoren durch Ca^{2+} -Ionen von der Membran entkoppelt werden. Im Ruhezustand sind die Triggerkanäle mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit (von $p_o \sim 0,05$) offen, sodass ein moderater Ca^{2+} -Strom in die Zelle fließt. Eine Auslenkung durch einen Dauerton ($\Delta x_d > 0$) in Richtung der Kinocilie führt zur Öffnung zusätzlicher Triggerkanäle, wobei deren Zahl durch die Größe der Deformation bestimmt ist. Dadurch würde die Nachweissensibilität für kleine zusätzlicher Signale aus folgendem Grund sinken. Da die Zahl der durch eine Deformation Δx geöffneten Kanäle konstant ist,

wird der Bruchteil der dadurch geöffneten Kanäle umso kleiner, je größer die konstante Auslenkung (z. B. durch den Geräuschpegel) ist.

Durch die mit der Deformation Δx_d verbundene Kraft auf die Motoren entkoppeln diese von den Aktin-Filamenten und rutschen nach unten. Die Spannung in der Triggerfeder und die Zahl offener Kanäle gehen wieder auf den Wert vor dem Dauerton zurück, d. h. der Empfänger wird wieder auf den Zustand optimale Empfindlichkeit eingestellt. Werden die Haare durch die dauernde Erregung in die negative Richtung deformiert ($\Delta x_d < 0$), so wird die Kraft der Triggerfeder erniedrigt. Die Motoren ziehen dessen oberes Ende zur Spitze und die dadurch erzeugte Spannung stellt die Zahl offener Kanäle wieder auf den optimalen Zustand ein.

Ein experimenteller Beweis für die Rolle des Myosin 1c bei der Adaption der Haarzellen wurde durch Mutationsexperimente erbracht. Diese zeigen, dass bei Ausschalten der Funktion des Motors der Prozess der langsamen Adaption unterdrückt wird.

Myosin 1c ist für die Funktion als Adaptor gut geeignet. Es ist ein prozessiver Motor mit einer Motordomäne, der Lasten in Richtung der (+)-Enden des Aktins transportiert. Er besitzt eine große Schwanzdomäne mit basischen Gruppen, die das Motorprotein in Gegenwart saurer Lipide an Membranen binden kann, wie wir in der Membranphysik (Kapitel 9) lernten. Ein hoher Ca^{2+} - Spiegel wird so die Motoren von der Membran entkoppeln.

34.5

Wie die Natur den Hörsinn vor Rauschen durch den Blutstrom schützt

Im Kapitel über Nervenleitung haben wir gelernt, dass die Ionengradienten laufend durch ATP-getriebene Ionenpumpen aufrecht erhalten werden müssen, was eine starke Durchblutung des Gewebes erfordert. Für den Hörsinn wäre dies fatal, da das mit dem Blutstrom verbundene mechanische Rauschen dessen Empfindlichkeit drastisch einschränken würde.

Zur Vermeidung des Problems hat die Natur folgenden Trick gefunden. Die Scala media und die Scala tympani sind elektrisch gegeneinander isoliert, da die Trennwände der Scalen mit Epithelzellen bedeckt sind und auch die Haarzellen und Stützzellen durch dichte Verbindungen verbunden sind (s. Abb. 32.4). Dadurch können unterschiedliche Zusammensetzungen der *Endolymphe* (in der Scala media) und der *Perilymphe* (in der Scala tympani) aufrecht erhalten werden. Diese sind in der Tat sehr unterschiedlich. Die Endolymphe wird in speziellen Zellen des Gleichgewichtsorgans erzeugt und enthält sehr viel Kalium- aber erstaunlich wenige Natrium- und Calcium-Ionen. Die Perilymphe ist dagegen eher wie die normale Körperflüssigkeit zusammengesetzt und enthält viele Natrium- und Calcium-Ionen. Aufgrund dieser Zusammensetzung besteht eine hohe Potenzialdifferenz zwischen Scala media (SM) und dem Zytoplasma der Haarzellen (155 mV). und zwischen den beiden Skalen (von 85 mV).

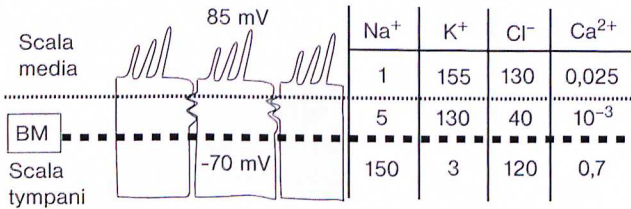


Abb. 34.11 Zur Vermeidung des Rauschens wird das elektrische Potenzial zwischen Zellen und Außenraum nicht durch ATP-getriebene Pumpen sondern durch unterschiedliche Zusammensetzungen der Lymph-Flüssigkeiten aufrecht erhalten. Die Konzentrationen der

Ionen sind in mM angegeben. Die gepunktete Linie markiert die dichten Zellverbindungen. Das Potenzial zwischen SM und ST ist rund 155 mV. Die extrem Na⁺-arme Lymphe im der Scala media wird durch Zellen im Gleichgewichtsorgan synthetisiert.

Aus heutiger Sicht wird die Änderung des Membranpotenzials durch K⁺-Einstrom über die K⁺-Kanäle der Membran des Zellkörpers und der Haare vermittelt. Um eine schnelle Repolarisation zu gewährleisten, strömt K⁺ in die Perilymphe der ST aus.

Die Kontrolle des Membranpotenzials über die Lymphflüssigkeiten löst auch ein anderes großes Problem. Bei der in Nervenmembranen üblichen hohen Leitfähigkeit der K⁺-Kanäle würde man erwarten, dass die Fluktuation der Membranspannung durch das statistische Öffnen und Schließen derselben bestimmt wäre und nicht durch die Brownsche Bewegung der Stereovili, wie die in Kapitel 34.3 diskutierten interferometrischen Experimente zeigen. Das Kanalrauschen wird reduziert, indem die K⁺-Kanäle im Ruhezustand weitgehend geschlossen sind und erst durch Ca²⁺-Triggerströme aktiviert werden.

34.6

Zusammenfassung

Die inneren und äußeren Haarzellen sind nichtlineare Signalverstärker, welche durch ihr Zusammenwirken für die erstaunliche Empfindlichkeit und den großen dynamischen Bereich unseres Hörsinns sorgen. Die IHZ können Schwingungsamplituden der Stereocilien von rund 1 nm detektieren. Es handelt sich also um einen akusto-elektrischen Empfänger ohne Schwellverhalten. Dies scheint auch für die OHZ zu gelten.

Der dynamische Bereich der IHZ wird durch die Öffnungszeiten der Ionen-Kanäle begrenzt und reicht daher nur bis rund 1000 Hz. Der Frequenzbereich der OHZ dagegen ist durch Verschiebungsströme durch die Membran und Konformationsumwandlungen der Motorproteins Prestin bestimmt und kann sich bis 100 kHz erstrecken. Die Natur hat dazu eine neue Art von Motor ins Spiel gebracht, der auf der Basis *piezoelektrischer Aktuatoren* arbeitet.

Da die Zellen mit diesem Motor Kräfte von einigen Nanonewton erzeugen können, fand die Natur einen Weg, die starke Dämpfung hochfrequenter Wellen (im

10 kHz-Bereich) durch aktive Deformation der Basilarmembran zu überwinden. Durch Ausnutzung der Hebelwirkung können Auslenkungen der Stereocilien um mehr als eine Größenordnung verstärkt werden.

Die IHZ besitzen die wunderbare Fähigkeit zur Adaption der Empfindlichkeit an den Geräuschpegel, wobei es offenbar einen schnellen und einen langsamen Mechanismus mit Ansprechzeiten von 25 msec und 1 msec gibt. Der erstere ist wohl der Grund dafür, dass wir spezifisch Geräusche aus einem großen Untergrund heraushören können. Grundlage der Adaption ist die Ausbildung einer nichtlinearen Kraft-Dehnungs-Kennlinie mit einem Bereich optimaler Empfindlichkeit. Dieser entsteht durch kooperative Wechselwirkung zwischen Triggerkanälen für Ca^{2+} , die in den Stereocilien lokalisiert sind und deren Öffnung durch die mechanische Spannung der Triggerfeder kontrolliert wird. Der optimale Arbeitspunkt wird durch Myosin I-Motoren eingestellt.

Die in diesem Kapitel beschriebenen mikromechanischen Experimente zeigen auch, wie wichtig sorgfältige und kritische Analysen viskoelastischer Antwortfunktionen sind. Die in Abbildung 34.6 gezeigten Kriechfunktionen können *a priori* auf der Basis passiver Kelvin-Körper verstanden werden. Aber erst die direkte Messung der Kraftrelaxation in Abbildung 34.7 ermöglichte die Beobachtung der negativen Kraft-Dehnungs-Kennlinie und lieferte den Beweis dafür, dass Haarzellen nichtlineare Verstärker sind.

34.7

Literatur

- 1 Ashmore, J.F. (1987) A fast motile response in guinea-pig outer hair cells: the cellular basis of the cochlear amplifier. *J. Physiol.*, **388**, 323–347.
- 2 Frank, G., Hemmert, W., Gummer, A.W. (1999) Limiting dynamics of high-frequency electromechanical transduction of outer hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 4420–4425.
- 3 Zelenskaya, A., de Monvel, J., Pesen, D., Radmacher, M., Hoh, J., Ulfendahl, M. (2005) Evidence for a highly elastic shell-core organization of cochlear outer hair cells by local membrane indentation. *Biophys. J.*, **88**, 2982–2993.
- 4 Holt, J.R., Corey, D.P. (2000) Two mechanisms for transducer adaptation in vertebrate hair cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 11730–11735.
- 5 Oghalai, J.S., Zhao, H.B., Kutz, J.W., Brownell, W.E. (2000) Voltage- and tension-dependent lipid mobility in the outer hair cell plasma membrane. *Science*, **287**, 658–661.
- 6 Dallos, P., Fakler, B. (2002) Prestin, a new type of motor protein. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**, 104–111.
- 7 Neher, E., Marty, A. (1982) Discrete changes of cell membrane capacitance observed under conditions of enhanced secretion in bovine adrenal chromaffin cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **79**, 6712–6716.
- 8 Huang, G., Santos-Sacchi, J. (1993) Mapping the distribution of the outer hair cell motility voltage sensor by electrical amputation. *Biophys. J.*, **65**, 2228–2236.
- 9 Zheng, J., Shen, W., He, D.Z., Long, K.B., Madison, L.D., Dallos, P. (2000) Prestin is the motor protein of cochlear outer hair cells. *Nature*, **405**, 149–155.
- 10 Holley, M.C., Kalinec, F., Kachar, B. (1992) Structure of the cortical cytoskeleton in mammalian outer hair cells. *J. Cell. Sci.*, **102**, 569–580.

- 11 Oliver, D., He, D.Z., Klöcker, N., Ludwig, J., Schulte, U., Waldegger, S., Ruppersberg, J.P., Dallos, P., Fakler, B. (2001) Intracellular anions as the voltage sensor of prestin, the outer hair cell motor protein. *Science*, **292**, 2340–2343.
- 12 Mammano, F., Ashmore, J.F. (1993) Reverse transduction measured in the isolated cochlea by laser Michelson interferometry. *Nature*, **365**, 838–841.
- 13 Manley, G.A. (2000) Cochlear mechanisms from a phylogenetic viewpoint. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **97**, 11736–11743.
- 14 Axelrod, J.D. (2008) Basal bodies, kinocilia and planar cell polarity. *Nat. Genet.*, **40**, 10–11.
- 15 Rzadzinska, A.K., Schneider, M.E., Davies, C., Riordan, G.P., Kachar, B. (2004) An actin molecular treadmill and myosins maintain stereocilia functional architecture and self-renewal. *J. Cell Biol.*, **164**, 887–897.
- 16 Hasson, T., Gillespie, P.G., Garcia, J.A., MacDonald, R.B., Zhao, Y., Yee, A.G., Mooseker, M.S., Corey, D.P. (1997) Unconventional myosins in inner-ear sensory epithelia. *J. Cell Biol.*, **137**, 1287–1307.
- 17 Howard, J., Hudspeth, A.J. (1987) Mechanical relaxation of the hair bundle mediates adaptation in mechano-electrical transduction by the bullfrog's saccular hair cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**, 3064–3068.
- 18 Martin, P., Hudspeth, A.J. (1999) Active hair-bundle movements can amplify a hair cell's response to oscillatory mechanical stimuli. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **96**, 14306–14311.
- 19 Martin, P., Hudspeth, A.J. (2001) Compressive nonlinearity in the hair bundle's active response to mechanical stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 14386–14391.
- 20 Jülicher, F., Andor, D., Duke, T. (2001) Physical basis of two-tone interference in hearing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **98**, 9080–9085.



Viren und DNA



35

Physik der Viren

Regelmäßige Polyeder wie Tetraeder, Oktaeder und Ikosaeder spielten als Denkmodelle in der Wissenschaftsgeschichte eine zentrale Rolle, seit Platon darauf sein Weltbild aufbaute. Sie halfen Johannes Kepler als heuristisches Prinzip bei der Entwicklung der Theorie der Planetenbahnen. Und W. Thomson (Lord Kelvin) nutzte sie zur Beschreibung der Struktur und Physik des Äthers. Es ist daher überraschend und faszinierend zu sehen, dass die Natur bei der Evolution biologischer Materie von Polyedern Gebrauch macht, um fehlende genetische Information durch Symmetrieprinzipien zu überbrücken. Dies wurde erstmals von Klug und Caspar durch Untersuchungen der Virenstruktur mittels Elektronenmikroskopie erkannt. [1]. Schon Watson und Crick wiesen darauf hin, dass die RNA bzw. DNA der Viren nur Information zur Kodierung von ein bis zwei Proteinen enthält, die zum Aufbau der Hüllen der Viren (im Folgenden auch *Capside* genannt) zur Verfügung stehen. Die Natur überbrückte die fehlende Information durch Ausnutzung von Symmetrieprinzipien, indem sie die Hüllen der Viren aus 2D-Kristallen aufbaute. Sie verschaffte sich so noch folgenden Vorteil: Da sich alle Untereinheiten der Hüllen in einer identischen lokalen Umgebung befinden, wird der Einbau mutierter oder fremder Proteine erschwert, wenn deren Form von der des nativen Proteins abweicht. Das Symmetrieprinzip kann also auch eine wichtige Kontrollfunktion bei der Reproduzierbarkeit der Arten spielen. Zunächst könnte man sich vorstellen, dass je nach Struktur der Protein-Bausteine eine sehr große Anzahl verschiedener Formen von Capsiden möglich ist. Deren Zahl wird jedoch durch die physikalische Bedingung eingeschränkt, dass die Schalen mechanisch stabil sein müssen. Die Situation ist analog wie beim Bau der Kristalle. Auch hier beobachtet man weniger Strukturen als aus Symmetriegründen möglich wären, da viele derselben thermodynamisch instabil sind.

Die Bildung gekrümmter kristalliner Schalen (wie Viren oder Vesikel unterhalb der Lipid-Phasenumwandlung, s. Kapitel 10) ist eng mit der Physik von topologischen Defekten (wie Versetzungen und Disklinationen) in zweidimensionalen Kristallen korreliert. Aus der Metallphysik ist uns bekannt, wie wichtig Versetzungen für die Verformung oder die mechanischen Eigenschaften kristalliner Materialien sind. In 2D-Kristallen ist deren Einfluss aus zwei Gründen noch größer. Die mechanische Arbeit zur Bildung von Versetzungen hängt nur logarithmisch von der Größe des Systems ab, z. B. dem Radius einer Scheibe, aus der ein Vesikel

kel gebildet werden soll ($\Delta w \sim \varepsilon \ln(R/a)$), wobei ε die elastische Energie pro Dicke des Kristalls und a die Gitterkonstante ist. Die freie Energie wird aber durch die Translationsentropie der Versetzungen wesentlich reduziert, die ebenfalls logarithmisch von der Größe abhängt. Da die Versetzungen an R/a Positionen im Kristall platziert werden können, wird nach dem Boltzmann-Gesetz $\Delta S \sim 2 k_B T \ln(R/a)$. Der Aufwand an elastischer Energie kann daher durch den Gewinn an entropischer freier Energie kompensiert werden. Daher erwartet man, dass die Dichte der Versetzungen in zweidimensionalen Kristallen viel höher ist als in dreidimensionalen. Wie wir in Kapitel 12.5 begründeten, wächst die zur Bildung von Disklinationen notwendige elastische Energie in einem ebenen zweidimensionalen Kristall mit dem Quadrat der Größe und kann nicht durch die Entropie wesentlich reduziert werden. Der zweite, für die Biologie wichtigere Grund, ist die Möglichkeit der 2D-Kristalle, in die dritte Dimension auszuweichen und lokal oder global gekrümmte Flächen zu bilden. Wir werden sehen, dass die Natur diese Eigenschaft für die Bildung stabiler Virenschalen aus 2D-Proteinkristallen ausnutzt.

35.1

Über die Biologie von Viren

Die Viren sind die einfachsten biologischen Systeme. Sie bestehen meist nur aus Nukleinsäure (RNA oder DNA), die von einer schützenden Hülle umgeben ist. Da die Viren keine metabolische Energie produzieren und keine Proteine synthetisieren können, benötigen sie für ihre Reproduktion lebende Zellen. Der eigentlich infektiöse Teil des Virus ist seine Nukleinsäure, wobei es sich entweder um DNA (wie beim Herpes-Virus und Polyoma-Virus) oder RNA (wie beim Polio-Virus und Tabak-Mosaik-Virus) handelt.

Die Infektion durch Reproduktion des Genoms kann auf verschiedene Weise erfolgen. Die DNA kann als Matrix für die Produktion von mRNA dienen. Das Genom der RNA-Viren dient in der Regel direkt als mRNA zur Reproduktion von Proteinen. Ausnahmen bilden die *Retroviren* (wie HIV), deren RNA durch das Enzym *Reverse Transkriptase* in DNA umgeschrieben wird und durch ein zweites Enzym, die *Integrase*, in das Genom der Wirtszelle integriert wird. Die Integrase wird vom Virus eingebracht.

Viren besitzen die Fähigkeit, den Biosynthese-Apparat der befallenen Zelle für die Reproduktion ihrer Proteine und die Reproduktion ihres Genoms auszunutzen. Aus diesem Grund haben sich verschiedene Stämme ausgebildet, die sich auf den Befehl spezifischer Arten von Zellen, der Tiere und Pflanzen spezialisiert haben. Man spricht daher von Pflanzenviren, menschlichen Viren oder Insektenviren. Die Bakterien befallenden Viren erhielten den speziellen Namen *Bakteriophagen*.

Die Zellen sind den Viren allerdings nicht ganz schutzlos ausgesetzt. Um an die Plasmamembran zu gelangen, müssen sie die Glykokalix der Zelloberfläche durchdringen. Da diese aus einer dicht gepackten Schicht aus Glykoproteinen

und Oligosacchariden besteht, kann ein Angriff der Viren (so wie der von Bakterien) auch oft erfolgreich abgewehrt werden.

Trotz des einfachen Aufbaus können Viren eine große Vielfalt von Strukturen ausbilden. Viele Viren besitzen nur eine einfache Proteinhülle. Beispiele sind der Tabak-Mosaik-Virus und die Bakteriophagen. Viren, die tierische Zellen befallen (wie die Influenza-, Herpes- oder HIV-Viren), sind zusätzlich noch von einer Lipid/Protein-Membran umgeben, die den Eintritt in die Wirtszelle erleichtert. Diese Membranen können von verschiedenen Organellen der Wirtszelle stammen, z. B. von der Plasmamembran (im Fall des HIV), der Kernmembran (im Fall des Herpes-Virus) oder dem Golgi-Apparat. In manchen Fällen enthält das Genom auch Gene für die Synthese eigener Membranproteine. Ein Beispiel ist der HIV-Virus. Dessen äußere Hülle wird bei der Reproduktion des Virus aus den Lipiden und Proteinen der Wirtszelle aufgebaut. Die für die Bindung an die Wirtszelle verantwortlichen Glykoproteine und die Proteine des inneren Capsids werden vom Genom des Virus kodiert.

Die Viren nutzen beim Eintritt in eukaryontischen Zellen alle Möglichkeiten aus, welche diese zur Bewerkstellung des Imports, des Exports und des intrazellulären Transports entwickelt haben. Es gibt wieder eine Fülle von Mechanismen, die von der Struktur der Hüllen abhängen. Die Mechanismen, mit denen membranumhüllte und nur aus Capsid bestehende Viren ihr Genom in die Zelle schleusen, unterscheiden sich grundsätzlich.

- Betrachten wir zunächst mit Membranen umhüllte Viren. Diese entern die Zellen durch Fusion der äußeren Hülle mit der Plasmamembran des Wirts. Dabei erfolgt die Fusion mit der Zellhülle so, dass der Inhalt des Virus (die Proteinhülle mit dem Genom) direkt in das Zytoplasma gelangt. In allen Fällen besitzen die Viren Glykoproteine auf der Oberfläche, welche von spezifischen Zellrezeptoren (ZAM) erkannt werden.

Abbildung 35.1 zeigt den Prozess des Transfers des Genoms am Beispiel des Influenza-Virus etwas genauer. Die Adhäsion wird durch *Hämagglutinin* vermittelt, das von Glykoproteinen mit Sialinsäuregruppen gebunden wird. Der erste Schritt besteht in der Adhäsion des Virus. Wie bei der Zell-Zell-Adhäsion (Kapitel 13) beschrieben, führt dies zur Bildung von Adhäsionsdomänen durch laterale Phasentrennung der Rezeptor-Liganden-Paare. Dieser Prozess vermittelt die Internalisierung durch spontane Krümmung der Zellhülle nach innen, die schließlich zur Knospung und Abspaltung der mit dem Virus gefüllten Vesikel führt. Es gibt aber auch Hinweise, dass aktive Prozesse eine Rolle spielen und Aktin involviert ist.

Erst nach der Internalisierung fusioniert das neu entstandene Endosom mit einem intrazellulären Kompartiment (wahrscheinlich einem Lysosom). Dabei wird der pH-Wert erniedrigt, wodurch Teile des *Hämagglutinins* zu einem typischen Fusionsprotein umgewandelt werden, wie wir es in Kapitel 12 kennen lernten. Der Prozess selbst läuft über den Zwischenzustand der *Hemifusion*, den wir ebenfalls im Kapitel 12 kennen lernten. Der letzte Schritt besteht schließlich in der Freisetzung des RNA-Genoms. Man nimmt an, dass auch

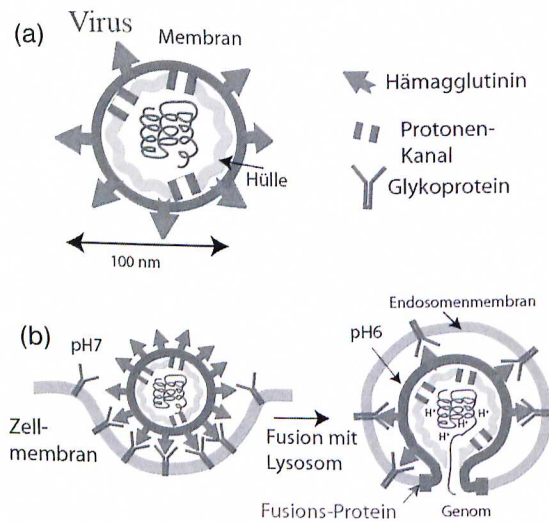


Abb. 35.1 Schematischer Aufbau von Influenzaviren (a) und Internalisierung durch die Zelle (b). Der erste Schritt besteht in der Adhäsion des Virus, die durch Bindung des Proteins Hämagglutinin an Glykoprotein-Rezeptoren des Wirts vermittelt wird (linkes Bild). Die Bildung von Clustern dicht gepackter Rezeptor-Liganden-Paare (in Kapitel 13 Adhäsionsdomänen genannt) veranlassen die Endozytose des Virus aufgrund der induzierten spontanen Krümmung (s. Kapitel 12).

Die Fusion der Membranen des Wirts und des Virus erfolgt erst im Zytoplasma durch pH-Erniedrigung. Dazu fusioniert das neu entstandene Endosom mit einem Lysosom (wie im Fall des Eisenimports in Abb. 9.15) und die dadurch bedingte pH-Erniedrigung führt zur Fusion der Membranen des Virus und des Endosoms. Danach öffnet sich das Capsid durch Einfluss von Protonen durch die Protonenkanäle und das Genom entweicht.

diese durch eine pH-Erniedrigung eingeleitet wird, die durch Einfluss von Protonen über die Protonenkanäle erfolgt (Abb. 35.1 rechts) wodurch Poren im Capsid geöffnet werden.

- Viren mit reinen Proteinhüllen benutzen zwei Strategien. Die eine besteht in der direkten Injektion des Genoms in die Zelle. Bekannter Vertreter ist der weiter unten diskutierte *Bakteriophage T4*. Der andere Weg erfolgt über den üblichen Mechanismus der Endozytose, der durch Clathrin vermittelt wird. Ein bekanntes Beispiel ist der *Adeno-Virus*. Nach Abspaltung des Clathrin-Mantels fusionieren die Endosome mit Lysosomen, wodurch die DNA zusammen mit einem Protein freigesetzt wird. Dieser Komplex gelangt über die Kernporen ins Kerninnere.

Noch komplexer als der Eintritt in die Zellen ist die Assemblierung der neu entstehenden Viren im Zytoplasma, über die man daher noch nicht viel weiß, bis auf die Tatsache, dass die Viren nach der Synthese der Proteine und des Genoms in der Zelle sukzessive aufgebaut werden, wobei einige generelle Prinzipien gelten:

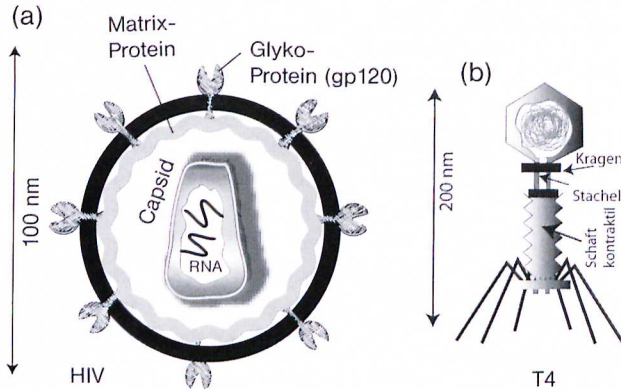


Abb. 35.2 Vereinfachte schematische Darstellung zweier Viren mit exotischen Strukturen. (a) Der HIV-Virus (~ 120 nm Durchmesser) besteht aus drei Hüllen: der äußeren Lipid-Protein-Doppelschicht, der Hülle aus den Matrixproteinen und dem Capsid, in welchem die RNA eingeschlossen ist. Die Membran enthält etwa 72 Glykoproteine (gp120), welche die Bindung an den Rezeptor der Wirtszelle vermitteln. Die zweite Hülle besteht aus einem Protein, das an die zytoplasmatischen Domäne der Glykoproteine bindet. Die RNA (zwei Exemplare) ist in dem Inneren des Capsids enthalten. Die beiden Hüllen entstehen während der Reifung

(außerhalb der Wirtszelle) durch Spaltung eines großen Matrixproteins (nach [4]). (b) Schematische Struktur des ca. 200 nm langen T4-Bakteriophagen. Der Kopf ist etwa 120 nm lang und 80 nm breit. Er ist über einen Kragen mit dem Stiel verbunden, an dessen Grundplatte sechs dünne Beine angedockt sind. Mit diesen koppelt das Virus an die Oberfläche des Bakteriums an. Im Inneren des Stiels befindet sich ein hohler Stachel, mit dem das Virus die Zellhülle des Bakteriums durchdringen kann. Der Prozess der Injektion der DNA in die Zelle wird durch Kontraktion des Stammes vermittelt (s. Text).

- In der Regel bildet sich zunächst die Hülle aus den neu synthetisierten Proteinen, wobei ein noch relativ locker aufgebautes *Pro-Capsid* entsteht. Danach erfolgt die Aufnahme des genetischen Materials, gefolgt von der Reifung des Virus, wobei die charakteristischen polygonalen Strukturen entstehen (Abb. 35.4). Als letzter Schritt wird das Capsid mit den Proteinen bestückt, welche der Virus zur Erkennung der Zellen benötigt.
- In sehr vielen Fällen erfolgt die Assemblierung der Capside der Viren mit DNA zunächst um ein Gerüst aus *Matrixproteinen* herum. Erst danach wird das Genom eingebaut. Dazu zählen insbesondere die *Escherichia coli* befallenden Phagen wie T4 und T7 [9], aber auch der HIV-Virus (Abb. 35.2).
- Die Viren ohne äußere Membran verlassen die Wirtszellen (z. B. die Bakterien) in der Regel, indem sie diese durch Enzyme lysieren. Mit Membranen umhüllte Viren (wie HIV) dagegen verlassen die Wirtszellen (Eukaryonten) auf dem Weg der Exozytose.

Ein gut untersuchtes Beispiel der intrazellulären Assemblierung ist der AIDS-Virus. Dieser wird direkt an der Plasmamembran assembliert (Abb. 35.2a). Die durch *reverse Transkription* entstandene DNA-Kopie (der ursprünglichen RNA) ko-

diert die Synthese der Proteine des Virus. Das *Glykoprotein gp120*, das für die Andockung der Viren an die Zellrezeptoren beim Eindringen in die Zelle verantwortlich ist, wird direkt in die Plasmamembran des Wirts eingebaut und bildet den Keim des entstehenden Virus. An dessen intrazelluläre Domänen binden das Matrixprotein (MP) und das Genom. Die äußere Membran des Virus entsteht so durch Domänenbildung in der Plasmamembran der Wirtszelle. In Kapitel 12 wurde gezeigt, wie solche Domänen durch laterale Phasentrennung entstehen. Dort haben wir auch begründet, wie die Bindung der Matrixproteine an die intrazellulären Domänen des Glykoproteins gp120 eine spontane Krümmung der Zellhülle induzieren kann, die zur Knospung und Abspaltung des Virus führt. Die DNA wird während dieses Prozesses durch Bindung an das Matrixprotein in das Virus eingebaut. Nach der Abspaltung setzt der Prozess der Reifung ein. Dabei wird das Matrixprotein MP in drei Teile zerlegt. Einer derselben bildet die Hülle des inneren Capsids mit dem Genom, die zunächst die in Abbildung 35.2b gezeigte Form besitzt. Ein anderer stabilisiert die äußere Lipid-Protein-Doppelschicht. Nach einiger Zeit kann das Capsid auch eine mehr runde polygonale Form annehmen.

Seit Max Delbrück vor rund 70 Jahren Bakteriophagen als Modellsysteme zur Untersuchung genetischer Fragestellungen entdeckte, wurde diese Gruppe von Viren besonders intensiv untersucht. Abbildung 35.2b zeigt das Beispiel des *Escherichia coli*-Bakterien befallenden Virus T4. Er besteht aus einem (die DNA enthaltenden) polyederförmigem Capsid und einem hohlen Stamm mit fadenförmigen Fortsätzen. Im Innern des Stamms befindet sich ein hohler und kontraktiler Schaft, der mit dem Capsid in Verbindung steht und so einen Auslass für die DNA bildet. Zur Injektion der DNA wird die Grundplatte des Stamms auf der Zellwand fixiert. Der Stamm kontrahiert um ca. 70 %, und der hohle Schaft dringt in die Zelle ein, da die Füße an der Zellwand haften [3].

35.2

Bildung kristalliner Schalen aus asymmetrischen Bausteinen: das Konzept der Quasiäquivalenz

Die Protein-Bausteine der Virus-Capside sind relativ klein (20–50 kDa) und in der Regel nicht symmetrisch. Sie müssen trotzdem so gepackt werden, dass sie sich alle in möglichst gleicher lokaler Umgebung befinden und dass die Bindungsabstände des entstehenden Gitters gleich groß sind. Dies lässt sich in der Ebene durch Dreiecksgitter leicht realisieren, wie die Betrachtung der Abbildung 35.3 zeigt. Man sieht, dass man die Bausteine so anordnen kann, dass sechs äquivalente Bindungen AE, drei äquivalente Bindungen BC und drei Bindungen DD entstehen. Die Symmetrie des so entstehenden Gitters ist durch eine sechszählige und je sechs zwei- und dreizählige Achsen bestimmt.

Man kann auch in einem Gedankenexperiment leicht nachvollziehen, dass man aus einem ebenen Dreiecksgitter (von der Form der Abbildung 35.3) eine dreidimensionale Schale mit facettenartigem Aufbau formen kann, ohne die

Es würde sehr viel mehr Energie kosten, wenn man den Rest zu einem ebenen Kristall mit einem pentagonalen Zentrum zusammenfügen wollte, da man den Kristall senkrecht zur radialen Richtung stark strecken müsste. Läuft man um das Zentrum herum, so überschreitet man fünf Kristallebenen (oder Kanten), während man beim Umlaufen aller anderen Gitterpunkt sechszähliger Symmetrie sechs Kanten überschreitet. Man nennt solche Defekte des Kristalls *Disklinationen*. Die mit der Bildung der Disklinationen verbundene elastische

Energie hängt von dem ausgeschnittenen Keilwinkel ab, der somit als Maß der Stärke einer Disklination dient. Man bezeichnet z. B. den pentagonalen Defekt als $s = -60^\circ$ -Disklination. Die Disklinationen spielen für die Deformation zweidimensionaler Objekte (wie beim Zerknüllen von Papier oder bei der Bildung von Vesikeln aus Lipidmembranen in der kristallinen L_{β} -Phase, s. Kapitel 12.5) dieselbe Rolle wie die Versetzungen für die mechanischen Eigenschaften oder die Formbarkeit von Metallen [5].¹⁾

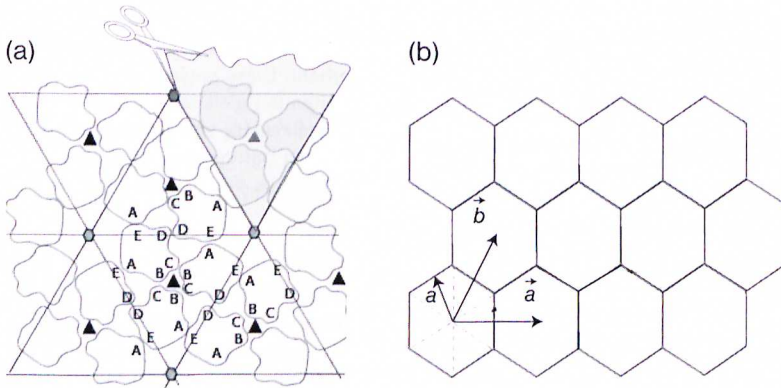


Abb. 35.3 (a) Illustration des Äquivalenzprinzips. Die Abbildung zeigt ein Dreiecksgitter aus asymmetrischen Untereinheiten, die drei Arten von Bindungen eingehen können: Sechsmal AE, dreimal BC und dreimal DD. Die Symmetrie des Kristalls ist durch 6-, 3-, und 2-zählige Achsen bestimmt, die durch Hexagone, Dreiecke und Ellipsen angezeigt

werden. Man beachte, dass sich jede Untereinheit in äquivalenter Umgebung befindet. (b) Stück eines Dreiecksgitters, das so ausgewählt wurde, dass durch Faltung entlang der Kanten ein einfaches Ikosaeder geformt werden kann (s. [6]). a ist die Gitterkonstante des Dreiecksgitters.

Schale zu biegen. Man muss dazu nur aus dem Kristall einen kuchenförmigen Keil (mit 60° Keilwinkel) herausschneiden, die freien Kanten wieder vereinen, und dabei den Kristall entlang der fünf restlichen Kanten zu einem Konus mit pentagonaler Grundlinie falten. Wenn wir dabei die pentagonale Spitze offen lassen, indem wir das zentrale Molekül entfernen, ist die mit dem Prozess verbundene elastische Energie klein. Die Bildung der Kanten kostet allerdings etwas elastische Energie, die wegen der geringen Dicke der Schale jedoch vernachlässigbar ist.

1) Die Disklinationen bestimmen auch die Dynamik der elastischen und optischen Eigenschaften von Flüssigkristallen und spielen für deren Anwendung als Anzeigeräte eine entscheidende Rolle.

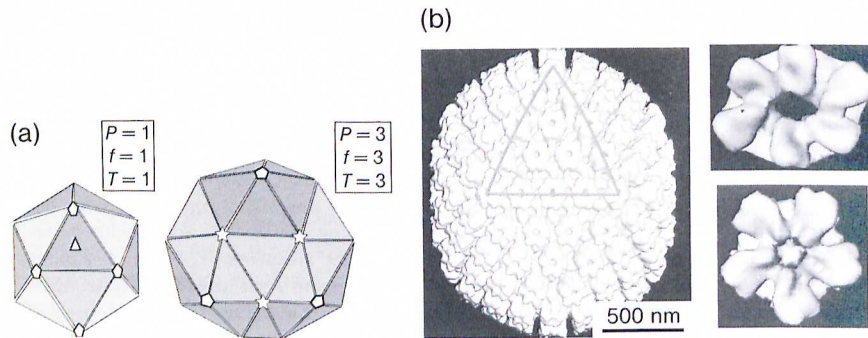


Abb. 35.4 (a) Zum Aufbau kristalliner Schalen aus Polyedern mit Ikosaeder-Grundstruktur. Links: einfaches Ikosaeder. Es besteht aus 20 nahezu äquivalenten Dreiecken und 12 Pentagonen. Rechts: Expandierter Polyeder eines Virus, das mit der in Abbildung 35.5 gezeigten Methode erweitert wurde. Das erweiterte Capsid besteht aus 60 Dreiecken. Beide Capside besitzen 2-fache-, 5-fache- und 6-fache Symmetrieachsen (wie der ebene Kristall).

(b) Links: Herpes Simplex-Virus mit einfacher Ikosaeder-Struktur. Die Zahl gleichseitiger Dreiecke wurde durch Aufteilung aller 20 Dreiecke des Ikosaeders in $f^2 = 16$ Subdreiecke erhöht. Diese entstehen durch Teilung der Seiten in f gleiche Teile. Die rechten Bilder zeigen Beispiele von Komplexen aus Hüllenproteinen mit hexagonaler und pentagonaler Symmetrie, die man auch Capsomere nennt. (Modifiziert nach [7].)

Die Bedingung der Äquivalenz der lokalen Umgebung jedes Bausteins und gleicher Bindungsabstände kann für drei Formen von Capsiden erfüllt werden: lange zylindrische Hüllen mit helikaler Anordnung der Bausteine (wie Tabak-Mosaikviren), Polyeder, deren Seiten alle gleichseitige Dreiecke sind (reguläre Polyeder oder Deltaeder) und große sphärische Hüllen. Prinzipiell besteht die Möglichkeit, aus dem ebenen Gitter (mit einer Gitterkonstanten) drei Deltaeder aufzubauen: Tetraeder, Oktaeder und Ikosaeder. Von diesen ist jedoch nur letzterer zum Aufbau großer Schalen aus gleichseitigen Dreiecken geeignet. Tetraeder sind zum Aufbau großer Schalen ungeeignet, da die Flächen zu groß würden. Auch Oktaeder sind ungünstig, da deren Spitzen Pyramiden aus vier Dreiecken sind. Wie Caspar und Klug erstmals bemerkten, erfordert das Ikosaeder die wenigsten Kompromisse beim Aufbau von Schalen aus identischen Bauelementen. Tatsächlich kennt man heute in der Physik und Chemie viele Beispiele schalenförmiger Gebilde mit Ikosaederstruktur, wie Metallcluster und das Riesenmolekül aus 60 C-Atomen (das sog. Buckminster-Fulleren).

Caspar und Klug ließen sich in ihrer Pionierarbeit über Viren noch von dem berühmten Dom inspirieren, den der Architekt Buckminster Fuller durch den Bau der so genannten Biosphäre für die Weltausstellung in Montreal 1967 konstruiert hatte. Das Konstruktionsprinzip beruhte auf der Idee, einen sphärischen Dom aus gleichseitigen Dreiecken aufzubauen. Fullers Konzept hat zu neuen Prinzipien der Konstruktion in der Architektur geführt, deren Vorteile wir schon bei der Diskussion über die mechanischen Eigenschaften der Zellen diskutierten (s. Kapitel 29). Auf derselben Idee basiert auch die Konstruktion des Daches der Münchner Olympiahalle.

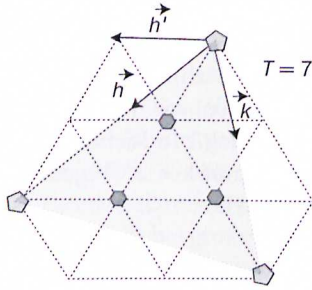


Abb. 35.5 Zur Bildung eines Capsids mit der Triangulationszahl $T = 7$, das mit der im Text beschriebenen Methode konstruiert wurde $f = 1$. \mathbf{h} und \mathbf{k} markieren die ursprüngliche Richtung der Schenkel eines Dreiecks der pentagonalen Pyramide eines Icosaeders. Man geht in diesem Fall einen Schritt in Richtung der neuen Achse \mathbf{h}' , und zwar in einem Winkel von 120° , und dann zwei Schritte weiter zum benachbarten Pentagon. Ein Beispiel eines Capsids mit $T = 7$, $h = 1$, $k = 2$ ist der bovine Papilloma-Virus.

Wie Abbildung 35.4a zeigt, besteht das Icosaeder aus gleichzeitigen Dreiecken, die pentagonale Pyramiden bilden. Euler hat uns gezeigt, dass zwischen der Zahl der Ebenen (oder Facetten, F) der Spitzen S und der Kanten K *regulärer Polyeder* folgende Beziehung besteht:

$$F - K + S = 2 \quad (35.1)$$

Das Icosaeder (von griech. *eikosaedron*, Zwanzigflächner) besteht aus $F = 20$ Dreiecken und besitzt daher $S = 12$ Spitzen und $K = 30$ Kanten.

Da die Größe der Proteinbausteine mit ≤ 5 nm begrenzt ist, kann man nur kleine Viren (mit Durchmessern bis zu $\Phi \sim 50$ nm) mit reiner Icosaederstruktur aufbauen. Ein Beispiel ist das Polio-Virus mit ca. 30 nm Durchmesser, das zu den kleinsten Viren gehören. Wie das Bild des Herpes simplex-Virus in Abbildung 35.4b zeigt, kann man jedoch jedes Dreieck in f^2 -Unterdreiecke zerlegen und so größere Viren (mit Durchmesser $\phi \sim 100$ nm) aufbauen. Dazu müssen wir die Seiten der Dreiecke in f Teile zerlegen, wodurch f^2 Dreiecke entstehen (Abb. 35.5). An diesem Beispiel sieht man auch, dass man den Aufbau aus Bauelementen mit hexagonaler und pentagonaler Symmetrie mittels Elektronenmikroskopie klar erkennen kann. Auf solchen Bildern beruht das Virenmodell von Caspar und Klug. Allerdings hat die Natur das Problem des Baus großer sphärischer Viren noch eleganter gelöst, wie wir nun zeigen möchten.

Wie Caspar und Klug [1] in einer sehr eleganten Betrachtung zeigten, lassen sich Viren aus Deltaedern mit derselben Symmetrie wie Icosaeder (d. h. mit 12 pentameren Spitzen) herstellen, ohne das Konzept des Aufbaus aus gleichseitigen Dreiecken völlig aufzugeben. Man muss dabei nur von den topologischen Eigenschaften der Polyeder Gebrauch machen und jede Fläche in die dritte Dimension erweitern. Man betrachte dazu Abbildung 35.5. Das Capsid ist durch die Orientierung der von den Zentren der Pentamere ausgehenden Vektoren \mathbf{h} und \mathbf{k} (die parallel zu den Schenkeln eines herausgegriffenen Dreiecks sind) und dem Abstand zwischen benachbarten Pentameren eindeutig bestimmt. Gehen wir nun von einem beliebigen der 12 Pentamere aus und drehen einen Vektor (z. B. \mathbf{h}) etwas aus der Ebene des Pentameren heraus, so können wir ein neues gleichseitiges Dreieck mit derselben Seitenlänge konstruieren, wenn die Vektoren den Cosinus-Satz erfüllen:

$$c^2 = h^2 + k^2 + 2hk \cos \gamma \quad (35.2)$$

Der Winkel zwischen \mathbf{h} und \mathbf{k} ist $\gamma = 60^\circ$ und daher $\cos \gamma = 1/2$. Wir können auf diese Weise eine oder mehrere Facetten hexagonaler Symmetrie konstruieren, wenn wir am Ende des Vektors \mathbf{h} in einem Winkel von 120° zum benachbarten Pentagon zurückkehren. Dies kann in einem Schritt geschehen, wie in Abbildung 35.5, oder man kann h Schritte in Richtung \mathbf{h} gehen und nach k in Richtung von \mathbf{k} zurückkehren. Abbildung 35.5 zeigt den Fall für $h = 1$ und $k = 2$. Wegen der Bedingung (35.2) ist die Zahl der Dreiecke P gegeben durch

$$P = h^2 + k^2 + hk. \quad (35.3)$$

Offenbar kann P nur die Werte $P = 1, 3, 7, 16, 25$ annehmen. Um die Struktur noch weiter zu verfeinern, kann man jedes entstandene Dreieck in f^2 kleinere aufteilen. Man kann sich leicht davon überzeugen, dass man dazu nur jede Seite in f Teile zerlegen muss. Die Gesamtzahl möglicher Strukturen ist daher

$$T = Pf^2 \quad (35.4)$$

Man nennt das Produkt $T = Pf^2$ die *Triangulationszahl*. Das Herpes-Virus der Abbildung 35.4b ist ein Beispiel für einen Virus mit $P = 1$ und $f = 4$. Da man obige Prozedur mit jedem Dreieck der pentameren Spitzen durchführen kann, wird die Gesamtzahl an strukturellen Einheiten (d. h. Dreiecken) $Z_\Delta = 60T$.

Da jedoch die Dreiecke um Zentren hexagonaler und pentagonaler Symmetrie gruppiert sind, sind sie nicht vollständig äquivalent. Man spricht dann von Quasi-Äquivalenz. Aus diesem Grund fassen die Virologen die Dreiecke in Gruppen von Hexameren und Pentameren zusammen und bezeichnen diese als *Capsomere* (s. Übungsaufgabe 35.1). Abbildung 35.4a zeigt die Struktur der Proteinkomplexe eines Pentamers und Hexamers. Man kann mit etwas Mühe nachvollziehen, dass man die $60T$ Monomere in $10(T-1)$ Hexamere und die 12 Pentamere des ursprünglichen Ikosaeders zusammenfassen kann. Nach dieser Aufteilung besteht der Herpes-Virus der Abbildung 35.4b aus 960 Monomeren, die man in 150 Hexamere und 12 Pentamere (d. h. 162 Capsomere) aufteilen kann. (Man beachte dazu, dass das jedes Dreieck aus 7,5 Hexameren besteht.)

Bei der Konstruktion von Polyedern mit $P \geq 7$ wird die Situation sehr komplex. Da man nach dem ersten Schritt ($h = 1$) nach rechts oder links laufen kann, entstehen chirale Gebilde. Manche Capside (wie die des HIV-Virus) können auch zylinderförmige und konische geschlossenen Schalen bilden. Offenbar ist das bisherige Modell zu einfach. Es sagt auch nichts über die Stabilität der Viren aus. Um diese zu verstehen, müssen wir uns nun die elastischen Eigenschaften der Capside ansehen.

35.3

Die Elastizität der 2D-Proteinkristalle bestimmt die Formenvielfalt und Stabilität der Viren-Capside

Das Konzept der Quasiäquivalenz durch Aufbau von polygonen Schalen basiert auf der Idee, dass die Proteine nicht deformierbar sind und die Bindungsab-

stände konstant sein müssen. Andererseits zeigen die zahlreichen neuen strukturellen Daten, dass kleine Viren (mit Radien von $R \approx 25$ nm) oft eine runde Form annehmen und dass der facettenartige Aufbau erst bei größeren Schalen klar sichtbar ist. Diese Formänderung wird auf die endliche Deformierbarkeit der Capsomere zurückgeführt. Die Capsomere müssen ja an den Kanten geknickt werden (Abb. 35.4b), was elastische Energie kostet. Diese kann durch Biegung der Facetten (Dreiecke) reduziert werden, was offenbar bei kleinen Viren möglich ist, aber nicht bei großen. Um Einblick in die Physik dieser Formumwandlung zu gewinnen, müssen wir uns mit der Elastizitätstheorie der kristallinen Schalen befassen. Diese wird auch benötigt, um Prozesse der Reifung der Viren nach der Assemblierung zu verstehen.

In Lösung oder in der Zelle bilden sich die leeren Capside spontan durch Selbstorganisation. In der Einleitung hatten wir darauf hingewiesen, dass infektiöse, das Genom enthaltende Viren in Zellen durch eine Folge von Reifungsprozessen entstehen. Wir sahen auch, dass der Prozess der Assemblierung eine Reihe von Helferproteinen (wie die Matrixproteine der HIV-Viren) erfordert. Auch die Bildung der leeren Köpfe der Phagen der T-Klasse (die auch *Prä-Capside* oder engl. *prohead* genannt werden) erfordert die Hilfe von Gerüstproteinen. Diese bilden eine Art Netzwerk im Inneren der Hülle, welches diese stabilisiert bis die Rolle des Stabilisators durch die DNA übernommen wird. Sie sind (wie das Zytoskelett der Zellen) an die nach Innen zeigenden Domänen der Capsid-Proteine gekoppelt.

Zum Einschleusen des Genoms dienen Portalproteine, die in einem der zwölf Pentamere lokalisiert sind. Während des Eindringens der DNA durch das Portal entweichen die Gerüstproteine durch Lücken in den anderen Pentagonen [2]. Erst danach kann die Schale stabilisiert werden. Eine gute Zusammenstellung der Literatur über Reifungsprozesse findet man in dem Übersichtsartikel [7].

Wir nehmen nun für die folgende Einführung in die elastischen Eigenschaften der Virenschalen an, dass man diese mithilfe der Kontinuumsmechanik fester Schalen beschreiben kann und dass die Deformierbarkeit der 2D-Kristalle isotrop ist. Der kristallinen Struktur tragen wir durch Betrachtung der Defekte Rechnung [5, 6]. Das Verhalten der festen Schalen unterscheidet sich in wesentlichen Punkten von denen der weichen Zellmembranen, die wir in Kapitel 11 betrachteten. Jede Biegung ist mit einer Dehnung der Schale verbunden und es gibt keine neutrale Fläche mehr. Schließlich hängt die Form im Allgemeinen auch vom Beitrag der Gaußschen Krümmung ab, die wir im Fall der Membranen meist vernachlässigen konnten. Wie in Kapitel 11 erwähnt, wird das Verhalten solcher Systeme durch die berühmte *Föppl-von Karman-Schalentheorie* (wir kürzen sie in diesem Abschnitt mit FvK-Theorie ab) beschrieben.

Die Differenzial-Gleichungen des elastischen Gleichgewichts sind nichtlinear und lassen sich nur numerisch lösen. Für unsere Diskussion ist nur wichtig zu wissen, dass das Verhalten durch zwei elastische Module bestimmt ist: Den uns bekannten Biegemodul κ und den 2D-Young-Modul Y [5, 7].

$$Y = \frac{4\mu(\mu + \lambda)}{2\mu + \kappa} \quad (35.5)$$

Letzterer ist annähernd gleich dem Schermodul μ . Man beachte für das Folgende, dass κ und μ proportional zur Dicke d der Schale sind (siehe Physik der Schalen in Kapitel 11).

Wir sahen bei der Anwendung der Theorie der Schalen zur Berechnung der Zellformen von Erythrozyten (insbesondere von Echinozyten), dass die Formen wesentlich von den Längenskalen bestimmt sind, die durch die Verhältnisse der elastischen Konstanten definiert werden. Sie bestimmen, welche Deformationsmoden (Scherung oder Biegung) die Formen festlegen. Im Fall der festen Schalen ist die entscheidende Längenskala durch das Verhältnis des Biegemoduls zum Kompressionsmodul festgelegt. Die Energie der Capside hängt daher im Wesentlichen nur von der dimensionslosen Zahl

$$\gamma_{\text{FK}} = \frac{YR^2}{\kappa} \propto \left(\frac{R}{d}\right)^2 \quad (35.6)$$

ab, die als Föppl-von Karman-(FvK)-Zahl bekannt ist.

Wir sehen also, dass die Form sehr empfindlich vom Verhältnis des Radius R zur Dicke d der Schale abhängt. Basierend auf diesen Ideen haben Lidmar et al. [5] eine elegante Theorie der Capside entwickelt, die uns erlaubt, die Formen minimaler elastischer Energie zu bestimmen (in Analogie zum Vorgehen bei der Berechnung der Formen der Zellen). Dies ist ein wichtiges praktisches Ergebnis, da es uns erlaubt, die Form und Stabilität der Viren-Capside durch messbare physikalische Parameter zu charakterisieren. Da elastische Schalen in der belebten Natur in großer Vielfalt vorkommen (von der Nusschale zu den Fangklappen der Fliegen fangenden Venuspflanze), ist die FvK-Theorie von generellem Interesse in der Biomaterialforschung [8]. Eine interessante technische Anwendung ist die Beschreibung der mechanischen Instabilität von dünnen Plättchen (z. B. Papier) durch *Knitter-Übergänge*. Man spricht auch in Anlehnung an das englische Wort *buckling transition* von *Buckling-Übergängen*.

Wir zeigen zunächst in Abbildung 35.6 ein wichtiges Ergebnis der Theorie und diskutieren danach, welche Rolle die Defekte des Kristallgitters beim Übergang zwischen runden und polygonalen Formen der Capside, z. B. während der Reifung der Viren, spielen (Abb. 35.7). Im Anschluss daran bringen wir eine kurze Darstellung der Theorie der Formumwandlung.

Durch numerische Lösung des Variationsproblems wurden die Formen minimaler elastischer Energie der Capside als Funktion der FvK-Zahl γ_{FK} berechnet [5, 6]. Wie das in Abbildung 35.6 wiedergegebene Ergebnis zeigt, sind Capside bis zu einem kritischen Wert von $\gamma_{\text{FK}}^* \approx 150$ quasisphärisch und nehmen oberhalb dieser Grenze eine polyederförmige Gestalt an. Dieses Ergebnis stimmt mit der Beobachtung überein, dass kleine Viren (mit Durchmessern $\Phi < 40$ nm) in der Regel rund sind, wie die Beispiele des Polyoma-Virus ($\Phi \approx 40$ nm), des Poliovirus ($\Phi \approx 30$ nm) und des besonders kleinen Paro-Virus ($\Phi \approx 25$ nm) zeigen. Mit zunehmender Größe werden die Viren immer facettenartiger, wie der Herpes simplex-Virus in Abbildung 35.4b mit $\Phi \approx 100$ nm.

Ein anderes interessantes Beispiel für die Kontrolle der Form der Viren durch elastische Kräfte ist wieder die oben schon angesprochene Reifung der Capside

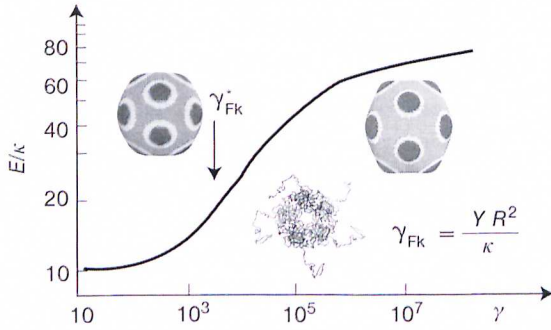


Abb. 35.6 Die gesamte elastische Energie der Capside als Funktion der Föppl-von Karmann-Zahl γ_{FK} zeigt einen Übergang von der runden in die facettenförmige Kontur der Schale bei dem kritischen Knickwert von etwa 150. Die Bilder zeigen simulierte Formen für $\gamma = 500$ und $\gamma = 1400$ (modifiziert nach [5]).

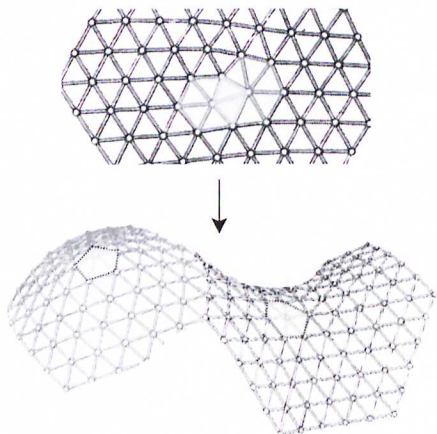


Abb. 35.7 Darstellung der Dissoziation einer Stufenversetzung in einem 2D-Dreiecksgitter. Sie zeigt, dass diese aus einem gekoppelten Paar von $(+60^\circ, -60^\circ)$ -Disklinationen besteht. Die Dissoziation der Defekte durch thermische Anregung wird energetisch möglich, indem das Kristallgitter in die dritte Dimension ausbuchtet, wobei die Dislokationen entweder eine kegelförmige Kappe $(+60^\circ)$ bzw. einen Sattelpunkt (-60°) bilden. Man beachte, dass man durch Kombination der Kappen und der Sattelpunkte raue kristalline Fläche bauen kann. Man nennt den Übergang von der flachen zur rauen Fläche Buckling-Übergang (oder Knick-Übergang).

der Viren der T-Klasse, die mit der Aufnahme des Genoms verbunden ist. Der Radius der Prä-Capside des T7-Bakteriophagen vergrößert sich von 50 nm auf 60 nm (entsprechend einer Volumenzunahme von 50 %) und die Wandstärke reduziert sich von 4,5 auf 2,5 nm [9]. Nach Gleichung (35.6) entspricht dies einer Zunahme der FvK-Zahl um einen Faktor vier. Das Capsid sollte daher kantiger werden, was tatsächlich beobachtet wird [10].

Auch die molekulare Struktur der Capsomere ändert sich bei der Reifung drastisch. In den unreifen Köpfen der Viren sind die hexagonalen Capsomere oft gegeneinander geschert und daher lockerer gepackt [10]. Dadurch geht mit der Reifung auch eine Zunahme des Kompressionsmoduls einher. Diese ist notwendig, damit das Capsid dem osmotischen Druck durch das Genom standhält. Dieser kann sehr hoch werden, wie wir im nächsten Kapitel 31 bei der Beschreibung des Transfers des Genoms in die Capside sehen werden.

Betrachten wir nun die Rolle der Defekte für die Bildung gekrümmter kristalliner Schalen etwas quantitativer. Im Zusammenhang mit Abbildung 35.3 hatten wir dargestellt, dass man gekrümmte Schalen durch Bildung von -60° -Disklinationen aufbauen kann, wobei für ikosaedrische Polygone genau 12 solcher Defekte gebildet werden müssen. Es wäre sehr kompliziert, solche Schalen aus einem ebenen Kristall zu formen (s. Übungsaufgabe 35.2). Die Viren bauen die polygonalen Capside aber entweder stückweise zusammen oder bilden erst runde Schalen aus locker gepackten Capsomeren, die man auch *Viren-Präköpfe* oder in Englisch *prohead* nennt. Diese Präköpfe kristallisieren dann während der Reifung. Aus diesem Grund interessiert uns nur der Energieaufwand für den letzten Prozess, d. h. die Bildung von polygonalen aus runden Schalen.

Wie in der Einleitung zu diesem Abschnitt erwähnt wurde, ist der Energieinhalt (d. h. die Selbstenergie) einer Disklination ΔG_D für einen ebenen Kristall viel größer als die einer Versetzung ΔG_V . Während letztere nur mit dem Logarithmus des Radius R des Kristalls wächst, ist erstere proportional zum Quadrat der Größe R (s. [5]).

$$\Delta G_V = Yb^2 \ln(R/a) \quad \Delta G_D = \frac{s^2}{32\pi} Y R^2 \quad (35.7)$$

Dabei ist a die Gitterkonstante, b der Burgers-Vektor der Versetzung (mit $b \approx a$) und s die Wertigkeit der Disklination (mit $s = \pi/3$ für die Bildung der Pentamere). Da die freie Energie der Versetzung ΔG_V durch die (ebenfalls mit dem Logarithmus von R wachsende) Mischungsentropie

$$\Delta S \sim 2 k_B \ln R/a$$

wesentlich reduziert werden kann, ist deren Bildung in planaren 2D-Kristallen (wie im Fall der in Kapitel 10 beschriebenen kristallinen Lipid-Membranen) relativ leicht möglich (s. Übungsaufgabe 35.2). Disklinationen können jedoch nur durch thermische Fluktuationen gebildet werden, wenn der Kristall in die dritte Dimension ausweichen und dabei kegelförmige Kappen (für $s = -\pi/3$) oder Sattelpunkte (für $s = +\pi/3$) bilden kann. Für die Bildung der Capside ist nur erstere wichtig.²⁾

Wir können nun die mit der Ausweichung der Disklination in die dritte Dimension verbundene elastische Energie ΔE_Δ zerlegen in einen Beitrag der pentagonalen Kappe E_5 mit dem Radius R_b und einen konusförmigen Bereich E_C . Der an der Spitze offene Konus unterscheidet sich von anderen Schalen wie der Kugel dadurch, dass er aus einer ebenen Platte durch reine Biegung erzeugt werden

2) Wie Abbildung 35.5b zeigt, kann jede Versetzung durch Dissoziation in ein Paar von $(-\pi/3, +\pi/3)$ -Disklinationen zerfallen. Damit lassen sich mit relativ wenig Energieaufwand raue kristalline Platten konstruieren. Die Disklinationen (mit pentagonaler und heptagonaler Symmetrie) können durch Anordnung von Versetzungen stabilisiert

werden. Dies ermöglicht die Bildung großer sphärischer Schalen aus hexagonalen Kristallen, wie man sie z. B. bei der Bildung großer Vesikel aus kristallinen Lipidschichten beobachtet (s. Kapitel 12). Ein anderes interessantes Beispiel ist die Bildung sphärischer Schalen aus hexagonal angeordneten Kolloiden [11].

kann. Die damit verbundene Biegeenergie E_C kann daher in erster Näherung mit dem Helfrich-Modell berechnet werden (s. dazu [6]).

Die Berechnung der Dehnungsenergie der pentagonalen Kappe (die den Konus abschließt) ist ein viel komplizierteres Problem, da man dafür die FvK-Gleichung lösen muss, was nur numerisch möglich ist. Numerische Simulationen führten zu dem interessanten und wichtigen Ergebnis, dass dünne kristalline Plättchen bis zu einem Radius R_b flach bleiben und bei $R > R_b$ (dem Knick-Übergang) in die oben erwähnte konische Gestalt übergehen. Die numerische Rechnung lieferte einen Knickradius von

$$R_b = \sqrt{\frac{154\kappa}{Y}} \quad (35.8a)$$

Bis zu dieser Grenze ist die Dehnungsenergie der pentagonalen Disklination nach der rechten Gl. 35.7

$$E_5 = \frac{1}{288\pi} YR_b^2 \quad (35.8b)$$

(für Referenzen s. [5]).

Die Knickradien der kristallinen Vesikel und Viren liegen bei etwa 5 nm. Dieser Wert ist von derselben Größe wie die Radien der Capsomere (~ 5 nm).

Die gesamte Energie der konischen Spitze mit der Kappe mit dem Radius R_b ist somit [5, 6]

$$E_\Delta = 1/3 \pi \kappa \ln\{R/R_b\} + \frac{1}{288\pi} YR_b^2 \quad (35.9)$$

Der erste Term ist die Biegeenergie des Konus [6]. Dies ist ein wichtiges Ergebnis. Es zeigt uns, dass der Aufwand an mechanischer Energie zur Bildung konischer Kappen mit pentagonaler Symmetrie (durch eine 60° -Disklination) mit dem Quadrat des kleinen Knickradius zunimmt, während der Radius des Vesikels nur mit dem Logarithmus des Radius der Schale wächst. Der Aufwand zur Bildung der quasi-kristallinen polygonalen Schalen ist also relativ moderat.

Um die gesamte elastische Energie E_{caps} der Capside zu berechnen, müssen wir noch beachten, dass die Schale eine mittlere Krümmung besitzt. E_{caps} setzt sich daher aus den 12 Beiträgen (E_Δ) der pentameren Ecken und der mittleren Biegeenergie des Capsids zusammen. Durch Minimalisierung der gesamten elastischen Energie mittels numerischer Verfahren berechneten Lidmar und Nelson die Formen der Viren als Funktion der FvK-Zahl und des Radius der Capside und bewiesen die Formumwandlung zwischen runden und polygonalen Formen. Angesichts der vielen Näherungen ist die Übereinstimmung zwischen beobachteten und berechneten Formen und FvK-Zahlen erstaunlich gut.

Der Leser mag sich fragen, ob sich der große theoretische Aufwand, der zur Berechnung der Formen minimaler Energie notwendig war, gelohnt hat. Die Antwort ist sicher ja. Einerseits wurde eine sehr allgemeine Methode zur Berechnung der Formen geschlossener Schalen aus festem Material entwickelt, die auch neue Möglichkeiten zur Berechnung von Zellformen eröffnet. Mit der im

Folgenden diskutierten Erweiterung lassen sich insbesondere auch exotische Formen von Viren berechnen oder beobachtete Phasendiagramme koexistierender Formen interpretieren. Eine weitere wichtige Anwendung ist schließlich die Messung elastischer Module der Hülle der Viren und Zellen mittels AFM wie wir noch sehen werden.

Das bisher diskutierte Modell führt in der Regel zu sphärischen Capsiden. Es gibt aber auch einige geschlossene zylindrische oder konische Formen, wie das bekannte Beispiel des HIV-Virus in Abbildung 35.2 zeigt. Dieses bestehen aus einem zylindrischen oder konischen Mittelteil, während die Endkappen ähnliche polygone Strukturen bilden wie die sphärischen Viren. Wie man für einen Symmetriebruch beim Übergang von sphärischen zu länglichen Formen erwartet, muss eine neue Längenskala hereinkommen, um das Verhältnis der Länge zur Breite des Capsids festzulegen. Ein eleganter Weg dazu besteht in der Einführung einer spontanen Krümmung C_0 der Schalen. Dies führt tatsächlich zu einer neuen Vielfalt von Formen minimaler elastischer Energie [6]. Die Situation ist ganz analog zu der in Kapitel 12 beschriebenen Formenvielfalt der Vesikel und Zellen. Auf der Basis dieser Idee wurden Phasendiagramme der Virenformen mit nichtsphärischer Symmetrie berechnet.

35.3.1

Zur Energetik der Selbstorganisation der Capside

Wie können wir Wechselwirkungsenergien w_{ij} zwischen den Monomeren messen, um ein weiteres quantitatives Maß für die Stabilität der Schalen zu erhalten (neben dem genannten Aufwand an elastischer Energie)? Eine Möglichkeit besteht in der numerischen Simulation der Form der Capside mit Monte Carlo-Methoden [6]. Eine experimentelle Methode basiert auf der Messung der freien Enthalpie der Assoziation von Capsiden durch Analysen des Assoziationsgleichgewichts in Lösung. Dazu misst man das Verhältnis der Konzentration der Capside und der kleinsten Bauelementen mittels Ausschluss-Chromatografie (s. Kapitel 6.8 und [12]). Man kann auf diese Weise die freie Energie der Assoziation pro Monomer *in vitro* bestimmen. Man misst dazu das Verhältnis der Konzentration der in Capsomeren gebundenen zu der freien Bausteine und zwar als Funktion der Konzentration der Bauelemente und bei verschiedenen Ionenstärken und Temperaturen. Damit lassen sich ΔH und ΔS separat bestimmen. Solche Messungen wurden am Beispiel der Assemblierung des Hepatitis B-Virus (der zur Klasse der T4-Viren ($P = 1, f = 6$) gehört) durchgeführt (allerdings mit gentechnisch hergestellten Monomeren). Dabei handelt es sich um ein interessantes Problem der Reaktion zwischen 120 Bindungspartnern [12]. Das für uns wichtigste Ergebnis dieser Messungen ist, dass sowohl die Bildungswärmen als auch die Bildungsentropie positiv sind. Die Paar-Wechselwirkung der Monomere ist somit durch den hydrophoben Effekt bestimmt. Die Bindungsenergie pro Paar variiert je nach Salzstärke zwischen 5 und $7,5 k_B T$.

Eine physikalische Methode zur Charakterisierung der Stabilität der Viren besteht in der Messung der Deformation der Capside mit Punktkräften (z. B. mit

AFM). Unter dieser Bedingung verhält sich die Kugel wie eine Feder der Federkonstante $k \sim \kappa^{1/2} Y^{1/2} / R$ (s. Übungsaufgabe 35.3). Für den Virus $\Phi 29$ ($R \approx 30$ nm) wurde eine Federkonstante von $k \sim 0,1$ N/m gemessen. Mit dem oben angegebenen typischen Wert von $\kappa \sim 1000 k_B T$ (10^{-18} J) wird $Y \sim 0,6$ N/m. Messungen der Kraftkonstanten ermöglichen auch die quantitative Analyse der Reifung der Capside. Kol et al. [4] bestimmten die Federkonstante der HIV-Viren während der Reifung mittels AFM. Sie fanden eine Abnahme von $k = 3,16$ N/m auf $k = 0,22$ N/m. Ursache ist der Zerfall des Matrixproteins in drei Bestandteile (Abb. 35.2) und die Verdünnung der an die Membran gebundenen Schale.

35.4

Zusammenfassung

In diesem Kapitel haben wir gelernt, dass die belebte Natur die Symmetrieprinzipien nutzt, um fehlende genetische Information zu kompensieren. Wir haben gesehen, dass mechanisch stabile Schalen aus zweidimensionalen Kristallen mit moderatem Energieaufwand durch Selbstorganisation gebildet werden können, wenn man in geschickter Weise von der Reduktion der mechanischen Deformationsenergie durch Kristalldefekte Gebrauch macht. Wir haben auch gesehen, dass die Defekte (an den Spitzen der Pentamere) für den Transfer von Material aus dem Virus eine wichtige Rolle spielen. Es handelt sich also wieder um ein schönes Beispiel der Selbstorganisation biologischer Materialien durch Zusammenspiel von Genetik und Physik.

Auf der molekularen Ebene spielen natürlich spezifische molekulare Kräfte eine zentrale Rolle, auf die wir hier nicht eingehen konnten. Sie sorgen für die Bildung zweidimensionaler Kristalle und verhindern dadurch, dass fremde Proteine in die Capside der Viren eingebaut werden. Dies ist sicherlich notwendig, um die Capside der Viren im Zytoplasma durch Selbstorganisation einigermaßen fehlerfrei aufzubauen, obwohl tausende andere Sorten von Proteinen den Aufbau stabiler und infektiöser Capside stören könnten.

35.5

Literatur

- 1 Caspar, D.L., Klug, A. (1962) Physical principles in the construction of regular viruses. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **27**, 1–24.
- 2 Thuman-Commike, P.A., Greene, B., Jakana, J., Prasad, B.V., King, J., Prevelige, P.E., Chiu W. (1996) Three-dimensional structure of scaffolding-containing phage p22 procapsids by electron cryo-microscopy. *J. Mol. Biol.*, **260**, 85–98.
- 3 Leiman, P., Chipman, P., Kostyuchenko, V., Mesyanzhinov, V., Rossmann M (2004) Three-Dimensional Rearrangement of Proteins in the Tail of Bacteriophage T4 on Infection of Its Host. *Cell*, **118**, 419-429.
- 4 Kol, N., Shi, Y., Tsvitov, M., Barlam, D., Shneck, R.Z., Kay, M.S., Rousso, I. (2007) A stiffness switch in human immunodeficiency virus. *Biophys. J.*, **92**, 1777–1783.
- 5 Lidmar, J., Mirny, L., Nelson, D.R. (2003) Virus shapes and buckling transitions in spherical shells. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.*, **68**, 051910.
- 6 Nguyen, T.T., Bruinsma, R.F., Gelbart, W.M. (2005) Elasticity theory and shape transitions of viral shells. *Phys. Rev. E.*, **72**, 051923.
- 7 Baker, T., Olson, N., Fuller, S. (1999) Adding the Third Dimension to Virus Life Cycles: Three-Dimensional Reconstruction of Icosahedral Viruses from Cryo-Electron Micrographs. *Microbiol. Molecular Biology Reviews.* December 1999, p. **63**, 862-922.
- 8 Seung, H., Nelson, D. (1988) Defects in flexible membranes with crystalline order. *Phys. Rev. A*, **38**, 1005-1018.
- 9 Agirrezabala, X., Martín-Benito, J., Castón, J.R., Miranda, R., Valpuesta, J.M., Carrascosa, J.L. (2005) Maturation of phage T7 involves structural modification of both shell and inner core components. *EMBO J.*, **24**, 3820–3829.
- 10 Conway, J.F., Wikoff, W.R., Cheng, N., Duda, R.L., Hendrix, R.W., Johnson, J.E., Steven, A.C. (2001) Virus maturation involving large subunit rotations and local refolding. *Science*, **292**, 744–748.
- 11 Bausch, A., Bowick, M., Cacciuto, A., Dinsmore, A., Hsu, M., Nelson, D., Nikolaidis, M., Travasset, A., Weitz, D. (2003) Grain Boundaries Scars and spherical crystals crystallography. *Science* **299**, 1716-1718.
- 12 Ceres, P., Zlotnick, A. (2002) Weak protein-protein interactions are sufficient to drive assembly of hepatitis B virus capsids. *Biochemistry*, **41**, 11525–11531.

36

Die Physik der Selbstorganisation und Verarbeitung des Genoms

Bis vor wenigen Jahren beschränkte sich die biophysikalische Forschung des genetischen Apparats auf molekulare und thermodynamische Aspekte der Basenpaarung und Helix-Knäuel-Umwandlung. Die rapide Entwicklung gentechnischer Methoden zur Biosynthese fremder Proteine in Bakterien vor etwa 30 Jahren hat die Biophysik des Genoms revolutioniert und die Entwicklung neuer physikalischer Methoden (Röntgenbeugung mit Synchrotronstrahlen, Kryo-Elektronenmikroskopie, Fluoreszenzspektroskopie spezifisch bindender Farbstoffmoleküle und Einzelmolekül-Kraftspektroskopie) stimuliert. Zahlreiche Experimente und neue theoretische Modelle der Wechselwirkung zwischen semiflexiblen Polyelektrolyten und Proteinen haben gezeigt, welche wunderbare Welt der Selbstorganisation auf Nanometerskalen sich hier für die physikalische Forschung geöffnet hat. Die Physik des Genoms hat sich auch so schnell entwickelt, weil die modernen gentechnischen Methoden die Herstellung definierter Polynukleinsäuren auch in physikalischen Laboren möglich gemacht hat.

In diesem Kapitel behandeln wir die physikalischen Grundlagen der Selbstorganisation und Verarbeitung der Genome in Eukaryonten, Bakterien und Viren durch elektrostatische und mechanische Kräfte. DNA ist ein typisches semiflexibles Polymer, dessen Persistenzlänge (50 nm) von derselben Größenordnung ist wie die an der Kondensation und Verarbeitung beteiligten Proteine. Zur Verarbeitung der genetischen Information muss die Doppelhelix jedoch nicht nur gebogen, sondern auch aufgedrillt werden, und daher sind diese Prozesse durch das Zusammenspiel von Krümmungen und Torsionen der Makromoleküle bestimmt. Aufgrund der starken Kopplung der Basenpaare besitzt DNA auch eine erhebliche Torsionssteifigkeit, mit einer Persistenzlänge von etwa 75 nm oder 220 bp (bei 0,15 M Salz [1]). Wie man aus eigener Erfahrung weiß, lassen sich tordierte Filamente lokal leicht verbiegen, während sich Torsionen viel weiter ausbreiten können und zu komplexen topologischen Formen führen. Die Mechanik des Genoms ist daher besonders reich und komplex und stellt neue Anforderungen an die physikalische Messtechnik. Auch die elektrostatische zwischenmolekulare Wechselwirkung im Genom unterscheidet sich oft wesentlich von derjenigen in Lösungen aus kleinen Ionen oder flexiblen Polyelektrolyten. Wir hatten diese Besonderheiten der zwischenmolekularen Wechselwirkungen bisher vernachlässigt, da sie für die Kontrolle der Struktur und Funktion der betrachteten

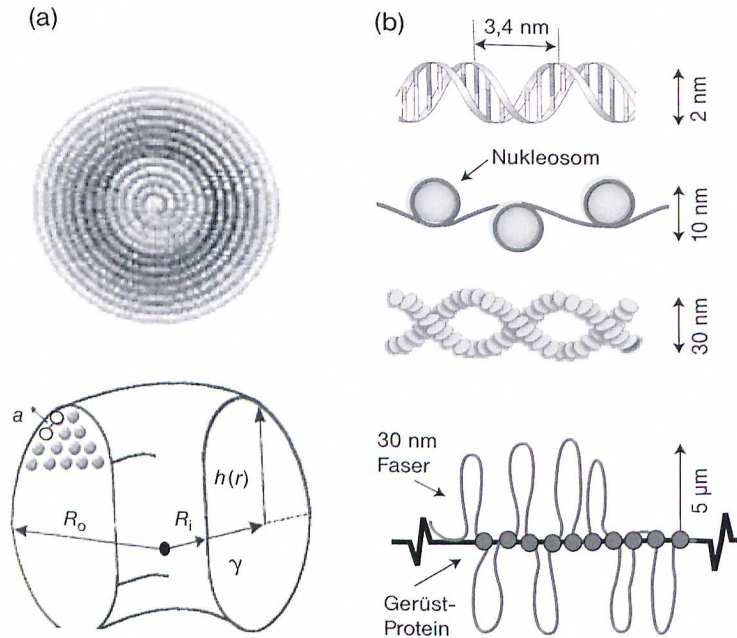


Abb. 36.1 Kondensierte Organisationsformen des Genoms in Viren (a) und im Kern eukaryontischer Zellen (b). (a) Anordnung der DNA in T7 Bakteriophagen. Die DNA bildet eine Spule aus sechs Schichten, mit einem Loch von $\Phi \approx 10$ nm Durchmesser in der Mitte, das parallel zur Achse des Stammes der Virushülle orientiert ist. Die Filamente bilden ein hexagonales Gitter mit einem Abstand der Filamente von $a \approx 2,5$ nm. Die Orientierung der Spule wird durch einen Proteinkern im Innern der Stammes der Phagen bestimmt, der teilweise in die Spule hineinragt. Das obere Bild zeigt eine mit dem Rechner hergestellte Rekonstruktion der elektronenmikroskopischen Aufnahme [5]. (b) Die hierarchische Struktur des Genoms in den Chromosomen eukaryontischer Zellen. Die Hälfte ihrer Masse besteht aus einem Proteinkomplex aus Histonen. Die DNA-Stränge sind stückweise um die supramolekularen Kom-

plexe aus diesen Proteinen gewickelt (s. Abb. 36.2). Die Protein-DNA-Komplexe werden Nucleosomen genannt. Die so entstehenden (10 nm dicken) Fasern assoziieren bei physiologischen Salzstärken und in der Zelle zu 30 nm dicken Strängen (s. auch Kapitel 37). Es ist noch nicht ganz klar, ob die Nucleosomen dabei eine Superhelix bilden, wie im Bild gezeigt wird, oder zickzack-förmig angeordnet sind. In den Chromosomen der Interphase sind die dicken Filamente über Kopplungsproteine lokal an ein Netzwerk aus faserartigen Gerüstproteinen (der Kernmatrix) ange dockt. Sie bilden Schleifen von einigen Mikrometern Länge. In der Metaphase (d. h. kurz vor der Teilung) aggregieren die Kopplungsproteine und bilden die uns vertrauten und im Bild gezeigten Anordnungen dicht gepackter Schleifen, die ein wenig aussehen wie die Wendeln einer Glühlampe.

Materialien oder Systeme nur eine untergeordnete Rolle spielten. Für die Kontrolle der molekularen Architektur des Genoms in Zellen und Viren sowie die Reproduktion und die Verarbeitung der biologischen Information sind sie jedoch sehr wichtig.

Man sollte aber auch Folgendes beachten. Während die supramolekulare Organisation der Erbmasse durch die oben genannten, auf Nanometerskalen ablaufenden Mechanismen der Wechselwirkungen bestimmt wird, werden die Prozesse der Reproduktion und Translation der DNA durch Kräfte kurzer Reichweite (wie Wasserstoff- und Salzbrücken) vermittelt. Um einen hohen Grad der Reproduktion und *Translation* der genetischen Information zu erreichen, müssen die Formen der molekularen Bausteine auf Bruchteile von Nanometer aufeinander abgestimmt sein. Ein eindrucksvolles Beispiel für die Bedeutung dieser Erkennungsprozesse auf atomaren Skalen ist die Bildung der mRNA-Kopie durch *RNA-Polymerase* [2]. Bei diesen Prozessen der molekularen Erkennung spielt die molekulare Dynamik der DNA eine zentrale Rolle.

Die statischen Bilder der Struktur der Doppelhelix vermitteln den Eindruck einer starren Struktur. Dies ist mitnichten der Fall. Die Basen führen thermisch induzierte Torsionsschwingungen sowohl um die Verbindungslinie als auch um die Normale zur Molekülebene aus und verschieben sich gegenseitig. Die Doppelhelix ist daher auf der Längenskala der Basenpaare sehr flexibel. Dies ermöglicht ihr, sich eng an α -Helizes anzuschmiegen, um spezifische DNA-Protein-Komplexe zu bilden, wie wir in Abschnitt 36.3 sehen werden. Man ist noch weit von einem Verständnis der Physik dieser molekularen Mechanismen der DNA-Protein-Erkennung entfernt. Bisher liefern nur molekulardynamische Simulationen Einblicke in die molekulare Bewegung der Basen und deren Rolle für die Replikation und Transkription des Genoms (s. dazu [3]). Wir konzentrieren uns hier auf die Behandlung der Physik der Selbstorganisation auf Nanometerskalen. Wer mehr über biochemische Prozesse auf atomarer Ebene lernen möchte, sollte Bücher der Biochemie oder Zellbiologie konsultieren.

36.1

Die molekularen Organisationsformen des Genoms in Viren und Eukaryonten

Abbildung 36.1a zeigt die Organisationsform des Genoms in Viren und im Zellkern eukaryontischer Zellen. In Bakteriophagen des Typs T7 (mit DNA als Genom) bildet die Doppelhelix eine Spule mit einem Loch mit dem Radius von $R_{\text{in}} \approx 5$ nm in der Mitte. Dieses ist parallel zum hohlen Stamm dieser Viren angeordnet, sodass die DNA über dessen inneren Kanal in die Bakterien injiziert werden kann (s. Abb. 35.2 und 36.8). In der Spule sind die Filamente dicht gepackt und bilden ein hexagonales Gitter mit einem Abstand von ca. 2,5 nm zwischen den Filamenten. Wir werden sehen, dass für diese Verdichtung des Genoms im Virus ein enormer Druck von einigen Megapascal notwendig ist.

Das Genom der Eukaryonten ist sehr viel komplexer aufgebaut, wie Abbildung 36.1 zeigt. Im Fall des Menschen ist es in 23 separaten DNA-Strängen (*Chromosomen* genannt) organisiert. Diese bestehen aus insgesamt $3 \cdot 10^9$ Basenpaaren (bp) im Abstand von 0,34 nm, was eine Gesamtlänge von etwa 1 m ergibt. Die gesamte DNA der menschlichen Chromosomen ist im Zellkern (zumindest während der Metaphase der Zellen) in einem Volumen von etwa $3 \mu\text{m}^3$ unter-

gebracht. Diese enorme Verdichtung wird durch Assoziation der DNA mit Proteinen (den sog. *Histonen*) und einen raffinierten hierarchischen Aufbau des Genoms erreicht. Die Doppelhelix ist stückweise auf den zylinderförmigen Komplexen aus Histonen aufgerollt und diese *Nukleosomen* sind durch kurze Stücke aus freier DNA verbunden. Die so entstehenden Perlenketten von 10 nm Durchmesser assoziieren bei physiologischen Ionenstärken zu dickeren (30 nm) Filamenten. Eine übliche (aber von manchen Experten noch angezweifelte) Vorstellung ist, dass die Perlenkette der Nukleosomen dabei die in Abbildung 36.1b gezeigten Superhelices bilden (s.[4]).

Die dicken Filamente ordnen sich auf der nächst höheren Ebene der Organisation entlang spezifischen Proteinfilamenten, den so genannten Gerüstproteinen (engl. *scaffold proteins*), an. In diesen bilden die 30 nm-Filamente Schleifen, die an die Wendeln der Glühlampen erinnern und an die Gerüstproteine angedockt sind. Diese Gebilde füllen während der Zwischenphase des Zellzyklus den Kern aus. Erst während der Metaphase (d. h. während des Zustands der Mitose) bilden sie die uns vertraute kompakte Form der Chromosomen, die man aufgrund der starken Anfärbungsfähigkeit traditionsgemäß *Chromatin* nennt.

36.1.1

Nukleosomen als Speicherform der genetischen Information

Jedes Nukleosom besteht aus zylinderförmigen Komplexen aus acht Histonen, um welche sich die DNA-Sequenzen aus 146 bp in 1,75 Windungen schlingen. Sie sind durch freie Stränge aus 55 bp verbunden. Der Protein-Zylinder ist ca. 5,5 nm hoch und 11 nm breit und besitzt etwa 245 positive Überschussladungen (Abb. 36.2). Einige der positiv geladenen Enden der Histone ragen wie Haare aus

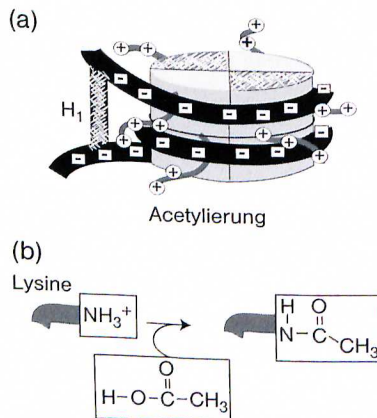


Abb. 36.2 (a) Vereinfachte Struktur der Nukleosomen. Den Kern bildet ein Komplex aus acht Proteinen (die Histone H2A, H2B, H3, H4), die einen zylindrischen Stamm (von ca. 10 nm Durchmesser und 5,5 nm Höhe)

bilden, um den sich DNA-Stücke aus rund 50 bp wickeln können. Davon sind 145 bp fest an den Zylinder gebunden, während der Rest (aus 55 bp) die Verbindungsstücke bildet. Die Stelle, an der die beiden Stränge der DNA frei werden, ist von einem weiteren Histon (H1) bedeckt. Man beachte, dass elektrisch geladene, flexible Peptidschwänze aus der Oberfläche hervorragen, deren positive Lysine und Arginine ebenfalls mit DNA elektrostatisch oder über Wasserstoff-Brücken wechselwirken könnten (s. Abb. 36.7).

(b) Schematische Darstellung der Acetylierung der Aminogruppen der Lysine durch Anlagerung einer Acetylgruppe. Sie dient der Neutralisierung der basischen Gruppe und zur Unterdrückung der elektrostatischen Bindung der DNA an die Peptidkette. Dadurch wird die DNA lokal vom Histon-Komplex entkoppelt und kann repliziert werden.

der Oberfläche heraus. Diese an Lysin und Arginin reichen Enden spielen bei der *Transkription* der genetischen Information eine zentrale Rolle. Sie werden (angeregt durch *Transkriptionsfaktoren*) durch Ankopplung von Methylgruppen neutralisiert (Abb. 36.3a). Durch diese Methylierung wird die Bindung der DNA an die Histone gelockert und die Polymerasen können an die nun freie Doppelhelix binden und mit der Transkription beginnen. Umgekehrt kann die Expression einzelner Gene durch Entfernung der Methylgruppen (ein *De-Acetylierung* genannter Prozess) gestoppt werden. Ausführliche Darstellung dieses Prozesses findet man in Lehrbüchern der Zellbiologie und Biochemie.

Ein physikalischer Grund für die Bildung der Nukleosomen ist die hohe positive Überschussladung der Histon-Komplexe ($Q = +245e$), welche eine starke attraktive Kraft auf die gebundenen DNA ausübt, da diese ihrerseits 292-fach negativ geladen ist. Möglicherweise tragen aber auch Wasserstoff-Brücken zwischen den Arginin- und Lysin-Gruppen der Haare und den Basen der DNA bei. Solche Wechselwirkungen werden wir weiter unten bei der Besprechung der Genexpression in Prokaryonten kennen lernen.

36.2

Mechanische und elektrostatische Basis der DNA-Verarbeitung

Die obige Betrachtung zeigt, dass elektrostatische Kräfte für die Bildung der Nukleosomen und die Regulation der Transkription durch Polymerasen eine wichtige Rolle spielen. Dies zeigt vor allem auch die Beobachtung, dass die Stabilität der Nukleosomen und die Bildung der Überstrukturen empfindlich von der Konzentration und Wertigkeit z der Ionen abhängt. Erniedrigt man die Konzentration einwertiger Ionen auf unter 45 mM, so zerfallen die 300 nm-Fasern in die 10 nm-Stränge. Diese bilden sich wieder, wenn man zweiwertige Ionen (wie Mg^{2+}) hinzu gibt. Ursache der Dissoziation der dicken Stränge ist möglicherweise die Entfernung des H1-Komplexes [6, 7].

Der Umfang der Zylinder aus den Histonen ist mit 35 nm vergleichbar der Persistenzlänge der DNA ($L_p \approx 50$ nm). Aus diesem Grund ist die Bildung der Nukleosomen auch mit einem Aufwand an elastischer Energie verbunden. Elastische Kräfte kommen aber auch bei allen anderen durch Proteine kontrollierten Prozessen ins Spiel.

Im Folgenden befassen wir uns mit der Kontrolle der Kondensation und Verarbeitung des Genoms durch Zusammenspiel elektrostatischer und elastischer Kräfte. Wir werden sehen, dass sich die elektrostatische Wechselwirkung zwischen DNA und Proteinen wesentlich von derjenigen zwischen kleinen Ionen oder innerhalb flexiblen Polyelektrolyten unterscheidet und dass die klassische Debye-Hückel-Theorie erweitert werden muss.

Auf den Längenskalen, auf denen sich die genetische Verarbeitung abspielt, verhält sich DNA mechanisch wie ein semiflexibles Makromolekül. Die elastischen Eigenschaften solcher Polymere haben wir im Kapitel über Aktin-Netzwerke ausführlich behandelt. Im Gegensatz zu Aktin ist das Verhalten der

DNA jedoch auch wesentlich durch dessen außergewöhnliche Torsionssteifigkeit bestimmt. Diese spielt für Kontrolle der DNA-Protein-Wechselwirkung während der Verarbeitung des Genoms eine wichtige Rolle. Sie führt aber gleichzeitig zu komplexen topologischen Verwicklungen der langen Filamente, zu deren Beiseitigung spezifische Enzyme, die *Topoisomerasen*, notwendig sind.

In Lösung würde sich die DNA-Doppelhelix des Menschen wie ein flexibles Makromolekül aus $n \approx 2 \cdot 10^7$ Segmenten mit einer Kuhn-Länge von $\lambda_K \approx 50$ nm verhalten und würde ein statistisches Knäuel mit einem Radius $R \sim 250$ μm bilden. Um das Genom in das Chromosom zu packen, muss es also fast um einen Faktor 10^5 kondensiert werden (s. Übungsaufgabe 36.1).

Wie hat die Natur das scheinbar unlösbare Problem überwunden, den genetischen Apparat auf so engem Raum zusammenzupacken, und zwar so, dass einzelne Segmente schnell freigelegt werden können, um den RNA-Polymerasen gezielt Zugang zu den Genen zu verschaffen? Zur Beantwortung dieser Frage müssen wir uns die biochemischen und die (in der Einleitung erwähnten) physikalischen Grundlagen der Konformationsumwandlungen der DNA und der DNA-Protein-Wechselwirkung genauer ansehen. Im Folgenden diskutieren wir den Stand der Forschung auf diesem Gebiet. Wir gehen dabei davon aus, dass die molekulare Struktur der DNA-Doppelhelix, das Watson-Crick-Modell der Basenpaarung sowie die Kodierung der 20 Aminosäuren durch Triplets von Basen bekannt ist. Zur Auffrischung der Erinnerung dienen die Übungsaufgabe 36.3 und die Zusammenfassung des Prozesses der Replikation und Translation in Anhang 36.A und 36.B.

36.2.1

Die topologischen Verwicklungen und die Topoisomerie der DNA

Die Mechanik von Filamenten im dreidimensionalen Raum ist erstaunlich kompliziert, wenn diese Krümmungs- und Torsionssteifigkeit besitzen wie die DNA. Freie Filamente verhalten sich daher anders als solche, die geometrischen Beschränkungen unterliegen, wie sie beispielsweise bei der Bindung der DNA an die Histone oder andere Proteine auftreten. Dies führt im Fall der DNA vor allem während der Replikation und Translation zu zahlreichen topologischen Verwicklungen, die durch spezifische Enzyme entwirrt werden müssen. Wir betrachten zunächst zwei Beispiele:

Um die Bindungsenergie durch Basenpaarung zu optimieren, muss in der Doppelhelix die Beziehung zwischen Ganghöhe P der Helix und der Zahl der Basenpaare streng eingehalten werden. In der B-Konformation der DNA ist die Zahl der Basenpaare pro Ganghöhe $n/P = 10,4$. In einem DNA-Strang aus 5200 bp sind die Einzelstränge 500-mal umeinander gewunden und sie können ohne Aufwand an mechanischer Energie ringförmig geschlossen werden. Wird die Helix (z. B. während der Replikation) jedoch verdrillt (z. B. um 360°) und werden die Enden verbunden, ehe die zusätzliche Torsion relaxieren konnte, so treten beim Ringschluss aufgrund der entstehenden Fehlpassung der Basenpaare Torsions-Spannungen in der Doppelhelix auf. Diese können jedoch durch *Superver-*

drilling des Doppelstrangs so relaxieren, dass die Zahl der Windungen wieder 500 ist. Im Fall einer Verdrehung um 360° nimmt die DNA im relaxierten Zustand die Form einer Acht an, die durch Superverdrillung des Ringes entsteht. Hätte man die DNA um 720° tordiert, so würde im relaxierten Zustand eine Kurve mit zwei Überkreuzungen entstehen. Diese Art der Relaxation der zusätzlichen Torsion durch Superverdrillung tritt bei der Replikation ringförmiger DNA der Bakterien auf, wie das Beispiel der Abbildung 36.3 zeigt.

Ein anderer, sehr wichtiger Fall der zusätzlichen Torsion findet bei der Bindung der DNA an die Histone statt. Sie tritt ganz allgemein auf, wenn ein dünnes flexibles Band um eine Säule (als Phantom-Histon) gewickelt wird. Erfolgt dies N -mal, so entsteht eine zusätzliche Torsion von $N \cdot 360^\circ$. Wird das Band von dem artifiziellen Histon befreit, während die Enden festgehalten werden, so relaxiert die zusätzliche Torsionsspannung, indem das Band sich mehrfach überkreuzt und eine Superhelix bildet, genau wie die in Abbildung 36.3 gezeigte DNA. Die um die Nucleosomen gewickelte DNA unterliegt also einer zusätzlichen Torsionsspannung. Diese kann zu lokalen Fluktuationen der Ganghöhe der DNA führen, deren Konsequenzen wir im Folgenden diskutieren.

Man nennt die superhelikalen (mechanisch relaxierten) Filamente *plektonemische Bänder* (engl. *plectonemic bands*). Der Name leitet sich von den griechischen Wörtern *plektos* für tordiert und *nema* für Faden ab. Bei der Replikation der viralen DNA treten solch Superverdrillungen der Doppelhelix stets auf, weshalb sich der Mutter- und der Tochterstrang gegenseitig mehrfach durchdringen (Abb. 36.3). Im täglichen Leben begegnet uns das topologische Problem in Form der oft ärgerlichen Superverdrillung der dünnen Kabel des Telefons oder der Computermas.

Die Bildung plektonemer Bänder durch Superverdrillung ist ein klassisches Problem der Topologie tordierter dünner Bänder, und die Mathematiker haben Gesetzmäßigkeiten gefunden, die einen Zusammenhang zwischen zwei beobachtbaren Größen herstellen: erstens der Zahl Tw der Torsionen (engl. *twist*) des Filaments und zweitens der Zahl Wr der Überkreuzungen (engl. *writhe*) der plektonemen Bänder. Die Summe dieser beiden Größen ist eine topologische Konstante Lk , die wir im folgenden Superverdrillung nennen, während die Abkürzung selbst für den englischen Fachausdruck *linking number* steht.

$$Lk = Tw + Wr \quad (36.1)$$

Man kann das Gesetz durch folgendes Modellexperiment mit einem flexiblen Band und Zylindern als Modell-Histon überprüfen. Wickelt man das Band N -mal um die Histon-Säulen, so beobachtet man nach der Befreiung von der Säule im gestreckten Zustand N Torsionen. Klebt man die Enden zusammen und lässt das Band relaxieren, so

bilden sich eine plektonemische Struktur mit mehreren Überkreuzungen, während die Zahl der Torsionen des Bandes entsprechend abnimmt. Man kann sich davon durch Lösung der Übungsaufgabe 36.2 überzeugen. Außerdem zeigt das Experiment, dass die plektonemen Formen Zustände minimaler Torsionsenergie sind.

Die Zahlenwerte T_w und W_r selbst müssen nicht ganzzahlig sein, sondern nur ihre Summe.

Man definiert als Standardwert der Superverdrillung (*linking number*) einer relaxierten Doppelhelix aus N Basenpaaren (in der normalen B-Konformation) die Größe:

$$Lk_0 = N \text{ bp}/10,4.$$

Für das oben betrachtete Beispiel der DNA aus 5200 bp wird also $Lk_0 = 500$. Man muss beim Lesen der Literatur aufpassen, ob dieser Wert oder dessen Änderung $\Delta Lk = Lk - Lk_0$ betrachtet wird. Häufig ist es praktisch sinnvoller, die von der Länge des Genoms unabhängige Größe

$$\sigma = \frac{Lk - Lk_0}{Lk_0} \quad (36.2)$$

zu betrachten, die wir *spezifische Superverdrillung* (engl. *specific linking number*) nennen. Für *Escherichia coli* ist $\sigma = -5\%$, die DNA ist also in negativer Richtung superverdrillt. Der Wert gilt für $T = 37^\circ\text{C}$ und ist stark von der Temperatur abhängig.

Eine moderne und effektive Methode zur Untersuchung der Superverdrillung ist die Analyse der Form auf Glimmer deponierter DNA-Stränge mittels AFM, da sie (im Gegensatz zur Elektronenmikroskopie) auch Information über die 3D-Struktur liefert. Eine andere Methode ist die Elektrophorese, mit der man die Stränge unterschiedlicher plektonomer Struktur (die wir im Folgenden *Topoisomere* nennen) aufgrund ihrer verschiedenen Beweglichkeit separieren kann [8].

Die bei der Replikation und Translation (s. Anhang 36.A und 36.B) der DNA auftretenden Verspannungen und Verknotungen behindern die Expression der Gene und die Trennung der Einzelstränge während der Replikation. Um diese Behinderungen zu beseitigen, hat die Natur zwei Gruppen smarter Enzyme erfunden: die *Topoisomerasen I* und *II*. Wie wir oben sahen, sind zwei Probleme zu lösen: die Beseitigung unerwünschter Torsions-Spannungen aufgrund der Superverdrillung der Doppelhelix und die Beseitigung der Verschränkungen der Mutter- und Tochter-Stränge ringförmiger DNA (in Bakterien):

- Die Topoisomerase I löst das erstere Problem. Sie durchschneidet einen der Stränge, indem sie die P–O–CH₂-Bindung (Phosphodiester-Bindung genannt) spaltet. Der Prozess wird in der englischen Literatur als *nicking* bezeichnet. Die Superverdrillung kann nun relaxieren, wobei der Prozess durch die Torsionsspannung angetrieben wird. Danach verbindet das Enzym die beiden losen Enden wieder.
- Die Topoisomerase II durchschneidet den ganzen Doppelstrang kurzfristig und kann ihn auch wieder zusammenfügen. Während der Öffnung eines Rings kann der zweite durch die Lücke entweichen, um sich zu befreien. Sie kann daher zur Entspannung von Superverdrillungen beitragen und gleichzeitig die Trennung verschränkter DNA-Ringe ermöglichen.

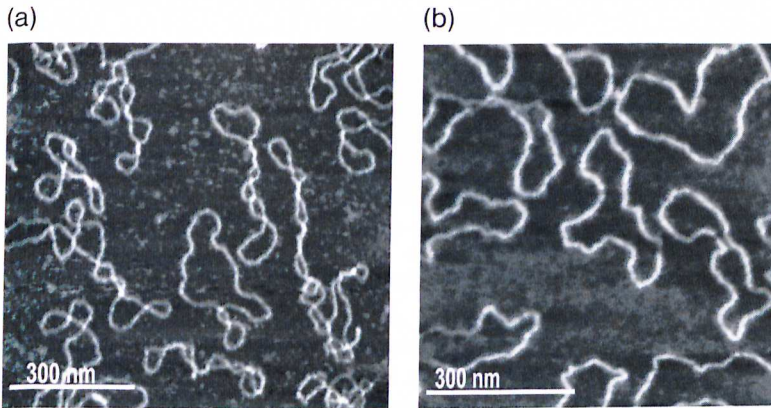


Abb. 36.3 AFM-Bilder der ringförmigen DNA von bei 37 °C gewachsenen *Escherichia coli*-Bakterien. (a) Plektoneme Strukturen der stark negativ superverdrillten Topoisomere der ringförmigen DNA (mit $\sigma = -5\%$). (b) Die DNA nach Erwärmen auf 50 °C.

Die Bildung ringförmiger Formen zeigt, dass Temperaturerhöhung positive Torsionen induziert und die Superverdrillung relaxiert. Mit freundlicher Genehmigung durch G. Dietler, ETH-Lausanne.

In Bakterien (*Escherichia coli*) findet man eine weitere wichtige Gruppe von Enzymen, die *Gyrasen*. Diese durchschneiden wie die Topoisomerase II die Ringe, erzeugen aber gleichzeitig eine negative Torsion um 720° (4π). Diese ist für den negativen Wert der spezifischen Superverdrillung von $\sigma = -5\%$ verantwortlich. Man nimmt an, dass die durch die negative Torsion erzeugten Defekte die Bindung der für die Genexpression zuständigen Proteine (wie der Polymerasen) erleichtern. Um eine definierte negative Torsion von -4π einzustellen, windet sich ein Ende der durchschnittenen DNA ein Stück um eine spezifische Domäne der Gyrase. Wie wir oben sahen und wie man im Experiment der Übungsaufgabe 36.2 nachvollziehen kann, wird die Superverdrillung Lk durch Adsorption auf Oberflächen geändert und die Änderung hängt von der Länge des gebundenen Stücks der DNA ab. Die Gyrase kann also über die Länge des adsorbierten Stücks die zusätzliche Superverdrillung einstellen. Sie wechselt schnell zwischen gebundenem (und damit aktivem) und dissoziiertem Zustand und kann so die Struktur der Doppelhelix ständig auflockern, um die Expression zu beschleunigen [9]. Die ist möglicherweise der Grund für die erstaunlich schnelle Replikation der bakteriellen DNA von 16 000 Basen pro Minute.

Eine weitere erstaunliche und biologisch wichtige Eigenschaft der bakteriellen DNA ist die Temperaturempfindlichkeit der Superverdrillung Lk , die für das Überleben der Spezies sehr wichtig zu sein scheint. Dies zeigen elegante Experimente (der DNA der *Escherichia coli*) mittels 2D- Elektrophorese, mit der man die Topoisomere in einem elektrischen Feld und einem dazu senkrechten Temperaturgradienten trennt, um deren Form anschließend mittels AFM zu analysieren. Dabei zeigt sich:

- Die bei 37 °C wachsenden Zellen besitzen im Mittel eine stark negativ superverdrillte Konformation, was auf eine große Aktivität der Gyrase schließen lässt und eine schnelle Reproduktionsgeschwindigkeit ermöglicht.
- Erhöht (oder erniedrigt) man die Temperatur abrupt, so erhöht (erniedrigt) sich die Superverdrillung. Dadurch gehen die plektonemen Formen mit negativer Lk in eine zirkuläre Form über, wie Abbildung 36.3 zeigt.

36.2.2

Elektrostatik und Thermodynamik der DNA-Kondensation

Die elektrostatischen Eigenschaften geladener, stäbchenförmiger Makromoleküle unterscheiden sich in vielfältiger Weise vom Verhalten von Lösungen aus kleinen Ionen oder flexiblen Polyelektrolyten. Viele der im Folgenden diskutierten Ideen sind aus der Physik stäbchenförmiger Polyelektrolyte seit langem bekannt, vor allem durch die theoretischen Arbeiten von F. Oosawa, A. Katchalsky und G. Manning (Referenzen siehe [3]). Ihre Bedeutung für die Strukturbildung und Funktion des Genoms wurde erst in den letzten Jahren bekannt [3]. Hier sind jedoch zwei Bemerkungen angebracht. Man sollte erstens stets im Auge behalten, dass die unspezifischen elektrostatischen und mechanischen Kräfte nur für die Bildung der Überstrukturen der DNA-Komplexe sorgen können. Die spezifischen molekularen Erkennungsprozesse zwischen Polynukleinsäuren und Proteinen bei der Replikation des Genoms und der Transkription der Gene in Boten-RNA spielen sich auf der Ebene der Moleküle und Atome ab und werden durch Kräfte kurzer Reichweite (wie Wasserstoff-Brücken) bestimmt [2]. Zweitens befassen sich praktisch alle Experimente und theoretischen Modelle mit dem Verhalten in verdünnter Lösung, während sich die wirklichen Lebensprozesse in dicht gepackten Materialien abspielen. In diesen können chemische und physikalische Prozesse (wie Komplexbildungen) sehr viel anders ablaufen als in normalen Lösungen, wie in Kapitel 7 gezeigt wird.

Wir betrachten nun drei Aspekte: (i) die Ladungskondensation (engl. oft *Manning condensation* genannt), (ii) die Attraktion gleich geladener Filamente in Gegenwart zweiwertiger Ionen durch Ladungsdichte-Fluktuationen und (iii) die unspezifische Wechselwirkung durch Ladungsdelokalisierung.

Die Ladungskondensation ist eine Folge der durch eindimensionale Objekte erzeugten logarithmischen elektrischen Potenziale. In der Elektrizitätslehre lernen wir, dass das Potenzial eines geladenen Leiters mit Radius a und der linearen Ladungsdichte λ (mit der Einheiten $[\lambda] = e \text{ m}^{-1}$) logarithmisch mit dem Abstand r abnimmt:

$$\Phi(r) = - \frac{2\lambda}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \ln(r/a) \quad (36.3)$$

wobei ϵ die Dielektrizitätskonstante des Wassers ist ($\epsilon \approx 80$). Gleichung (36.3) erfüllt den Gaußschen Satz, der verlangt, dass die Normalkomponente des elektrischen Feldes an der Oberfläche gleich der Ladungsdichte ist. Da wir es in der Biologie immer mit Energien in der Größenordnung $k_B T$ zu tun haben, ist es hilf-

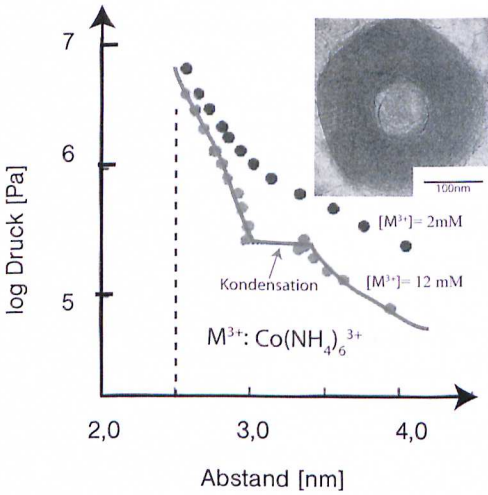


Abb. 36.4 Druck-Abstands-Diagramm einer Lösung von DNA eukaryontischer Zellen. Der osmotische Druck der Lösung wurde durch Zugabe steigender Mengen von neutralen, flexiblen Polymeren erhöht. Zugabe steigender Mengen des dreiwertigen Kations $\text{Co}(\text{NH}_4)_6^{3+}$ führen oberhalb von 8 mM zu einem Übergang vom expandierten in den kondensierten Zustand (modifiziert nach [10]). Die Filamente bilden ein hexagonales Gitter. Der Abstand zwischen diesen ist im kondensierten Zustand $a \approx 2,8$ nm. Um diesen auf den im Capsid

herrschenden Abstand zu bringen muss der osmotische Druck auf 10^7 Pa erhöht werden. Der Einsatz zeigt die spontane Kondensation von DNA-Strängen eines Bakteriophagen (T5) in Wasser etwa 15 min nach dem Transfer aus den Phagen in die Lösung und in Gegenwart von 5 mM Spermin. Dies ist ein Polyamin mit vier dissoziierbaren Aminen, das in Spermien zur Kondensation des Genoms dient. Es bildet dort Kristalle, über die schon von Antoni von Leeuwenhoek berichtet wurde (nach [11]).

reich, die potenzielle Energie $q\Phi = e\lambda/4\pi\epsilon\epsilon_0$ einer Ladung q im Potenzial Φ durch die schon in Kapitel 24 eingeführte Bjerrum-Länge $l_B = e^2/4\pi\epsilon\epsilon_0 k_B T$ auszudrücken, indem man eine neue Länge $b = \lambda/e$ einführt. Man erinnere sich daran, dass ϵ_0 (die absolute Permittivität) die Dimension $\text{A} \cdot \text{s}/\text{v} \cdot \text{m}$ hat.

$$\frac{e\Delta V}{k_B T} = \frac{l_B}{b} \tag{36.4}$$

Nun ergibt sich folgendes (für eindimensionale Systeme typisches) Problem. Wie wir bei der Beschreibung des Quellens von Polyelektrolyten in Kapitel 24 gelernt haben, ist die Wechselwirkung zwischen dem Stäbchen und einem kleinen Gegenion durch den zweiten Virialkoeffizienten der Lösung bestimmt. Dort haben wir auch gezeigt, wie wir diesen über die Zustandssumme Z des Wechselwirkungspotenzials berechnen können. Nun hat, wegen Gl. (36.5), Z für eindimensionale Objekte die Form:

$$Z \propto 2\pi \int_0^R r dr \exp\{\ln r^{-2\alpha}\} = \int_0^R r^{1-2\alpha} dr$$

wobei $\alpha = 1/b$ ist. Es ist nun wichtig zu beachten, dass Gleichung (37.5) die Wechselwirkung einer Ladung mit dem nicht abgeschirmten Oberflächenpotenzial ist, da das oben erwähnte Problem nur in unmittelbarer Nähe des Makroions auftritt. Die obere Integrationsgrenze in dem Zustandsintegral ist somit von der Größe der Debye-Abschirmlänge. Wegen der unteren Integrationsgrenze hat das Integral nur dann einen endlichen Wert, falls $l_B/b < 1$ ist. Ist die Bedingung nicht erfüllt, so müssen so lange Gegenionen auf den Polymeren kondensieren, bis sie erfüllt ist.

Für Wasser und 25 °C ist $l_B \sim 0,7$ nm. Der mittlere Abstand zwischen den Ladungen auf DNA ist $b_{\text{DNA}} = 0,17$ nm ($\lambda^{-1} \sim 6$ e/nm) und das Verhältnis $l_B/b \approx 5$. Für Aktin-Filamente mit etwa sieben Überschussladungen pro Monomer wäre $l_B/b \sim 0,3$. Die Idee der Ladungskondensation geht auf F. Oosawa zurück und wurde von G. Manning theoretisch genauer untersucht. Sie wird daher in der amerikanischen Literatur oft *Manning-condensation* genannt. Da typische Makroionen wie DNA oder Aktin einige 1000 Ladungen pro Molekül tragen, tritt die Kondensation bei experimentell noch nicht beobachtbaren Salzstärken auf. Ein eindeutiger experimenteller Beweis des Modells steht daher noch aus. Da die Kondensation bei so kleinen Konzentrationen stattfindet, muss die Bindungsenergie der kondensierten Ladungen wesentlich größer als $k_B T$ sein.

36.2.3

Attraktion gleichnamig geladener Stäbchen (elektrisch induzierte DNA-Kondensation)

Eine wichtige Konsequenz der Ladungskondensation ist die Attraktion zwischen DNA-Doppelhelices in Gegenwart zweiwertiger Ionen. Ein überzeugendes Beispiel für diesen Effekt ist die (in Abb. 36.4 gezeigte) spontane Bildung torusförmig aufgewickelter DNA in Wasser. Diese Form der Kondensate entsteht, wenn man das Genom eines Bakteriophagen durch Öffnung von Poren in wässrige Lösung injiziert und das Polykation *Spermin* zugibt. Dies steht offenbar im krassen Widerspruch zur Debye-Hückel-Theorie, die stets Abstoßung zwischen gleichsinnig geladenen Objekten bei Anwesenheit von Gegenionen vorhersagt.

Um die physikalischen Grundlagen dieser erstaunlichen Attraktion zu verstehen, wurde die DNA-DNA-Wechselwirkung in den folgenden eleganten Experimenten mit DNA-Lösungen systematisch untersucht. Der osmotische Druck in der Lösung wurde durch Zugabe von neutralen Polymeren (z. B. Dextran) auf mehrere Megapascal erhöht. Da die DNA und das Polymer nicht mischen, entstehen zwei koexistierende Lösungen. Da der Druck in dem flüssigen System jedoch konstant ist, wird die DNA dem osmotischen Druck der Dextranlösung ausgesetzt und verdichtet. Nach der bekannten Onsager-Theorie der Bildung *nematischer Flüssigkeiten* aus stäbchenförmigen Molekülen durch Reduktion des freien Volumens richten sich die DNA-Moleküle parallel aus. Daher kann man die Abstände senkrecht zur Längsachse mittels Röntgen-Kleinwinkelstreuung als Funktion des Drucks bestimmen [10]. Abbildung 36.4 zeigt das Ergebnis eines solchen Experiments, und zwar in Gegenwart ein- und zweiwertiger Ionen $\text{Co}(\text{NH}_4)_6^{3+}$. In Gegenwart einwertiger Gegenionen verhalten sich die Stäbchen grob wie ein rea-

les Gas oberhalb des kritischen Punkts, d. h. die Abstände nehmen mit zunehmendem Druck kontinuierlich ab. Bei Zugabe von Ionen der Ladungszahl $Z > 2$ findet oberhalb ca. 10 mM jedoch ein abrupter Übergang in einen kondensierten Zustand statt (der an die Kondensation realer Gase erinnert).

Durch zweiwertige Ionen (z. B. Ca^{2+}) induzierte Attraktion zwischen gleich geladenen Oberflächen findet man auch bei Biomembranen in Gegenwart negativ geladener Lipide. Es scheint sich daher um einen universellen Mechanismus zu handeln. Bei der Behandlung der Dispersionskräfte sahen wir, dass attraktive Kräfte immer durch Fluktuationen elektrischer Ladungen hervorgerufen werden können. Ein berühmtes Beispiel aus der reinen Physik ist die Casimir-Kraft zwischen Metalloberflächen im Vakuum, die durch spontan auftretende, virtuelle Teilchen (Vakuum-Quantenfluktuationen genannt) erzeugt werden. In Analogie dazu wird die Attraktion zwischen den semisteifen Polyelektrolyten auf lineare Dichtefluktuationen der zweiwertigen Gegenionen entlang der Zylinderachsen zurückgeführt. Die Idee ist schon alt und geht auf Oosawa [12] zurück. Inzwischen haben Simulationsrechnungen gezeigt, dass der Mechanismus tatsächlich zu attraktiven Kräften von ca. 0,1 pN/nm führt. Literatur über die ladungsinduzierte Kondensation findet man in der Zusammenfassung von Gelbert et al. [3].

Während der Mechanismus der durch Ladungsfluktuation induzierten attraktiven Kräfte *in vitro* experimentell verifiziert wurde, ist seine Rolle unter physiologischen Bedingungen allerdings noch fraglich. Die Ionenkonzentrationen von etwa 10 mM, bei der die spontane Kondensation der DNA nach Abbildung 36.3 einsetzt, ist wesentlich höher als der physiologische Mg^{2+} -Spiegel in Zellen (typischerweise 0,5 mM). Wesentlich effektiver könnte das sechs basische Gruppen tragende Spermin $\text{C}_{10}\text{H}_{26}\text{N}_4$ (oder andere Polyamine) die Aggregation der DNA vermitteln, da es mit der Phosphatgruppen Salzbrücken oder mit den Basen der DNA Wasserstoff-Brücken ausbilden kann. Das Polykation kommt vor allem in Spermien vor, und da es etwa 1 nm lang ist, ist kein direkter Kontakt der Moleküle notwendig.

36.2.4

Attraktion geladener Makromoleküle durch Ladungsdelokalisation (Verarmungskräfte)

Bei der Aktivierung oder Unterdrückung (Repression) der Genexpression in den Zellen spielen, neben spezifischen Kräften kurzer Reichweite, unspezifische Bindungen zwischen Proteinen mit positiv geladenen Oberflächen (d. h. den Histonen) und der DNA eine wichtige Rolle. Wir werden im nächsten Kapitel ein Beispiel kennen lernen. In der Chemie benutzt man als Maß der Stärke einer Bindung die *Reaktionswärme*, die bei der Bildung eines Komplexes frei wird, wofür es spezielle Kalorimeter gibt. Sorgfältige Messungen der bei der unspezifischen Bindung zwischen DNA und Proteinen mit positiver Überschussladung frei werdenden Reaktionswärme zeigen zwei wichtige thermodynamische Eigenschaften der Komplexbildung [13]:

1. Sie ist endotherm (d. h. die Reaktionswärme ist positiv) und ist daher, wie die Komplexbildung aufgrund des hydrophoben Effekts, durch den Gewinn an Entropie getrieben.
2. Messungen der Gleichgewichtskonstanten K_a als Funktion der Salzkonzentration lieferten das empirische Gesetz:

$$\log K_a = \text{konst} + Z \log c_s \quad (36.5)$$

Z ist dabei die bei der Komplexbildung frei werdende Zahl gebundener Ionen, die durch die Oberflächenladungen der Bindungspartner ersetzt werden. Man kann mit nicht allzu großem Aufwand durch Anwendung des Massenwirkungsgesetzes zeigen, dass Z die bei dem Prozess $R + D \leftrightarrow C + Z I$ freigesetzte Anzahl kondensierter Ionen I ist (s. Übungsaufgabe 36.4). Durch die Bindung der DNA an die Histone wird also offenbar ein Teil der auf dem Filament durch Manning-Kondensation gebundenen Ladungen wieder freigesetzt [3].

Dies ist ein sehr wichtiges empirisches Gesetz der Physik biologischer Makromoleküle. Es ist von allgemeiner Bedeutung, da es bei allen Prozessen eine Rolle spielt, die von der von Komplexbildung zwischen geladenen Makromolekülen abhängen. Die induzierte Ladungsdelokalisation entspricht einem Gewinn an entropischer Freier Energie von der Größenordnung $Z k_B T$. In Analogie zu den Oosawaschen *Verarmungskräften* in neutralen kolloidalen Lösungen (die in Kapitel 6.7 eingeführt wurden), üben die freigesetzten Ionen also einen osmotischen Druck auf die Komplexe aus und stabilisieren diese. Die genaue Rechnung ist schwierig, da man die Poisson-Boltzmann-Gleichung für zylindrische Teilchen lösen muss. Der interessierte Leser wird auf die in Referenz [13] angegebene Spezialliteratur verwiesen. Wir werden im nächsten Abschnitt eine wichtige Anwendung des Gesetzes diskutieren.

36.2.5

Die elektrische Umladung der Komplexe verhindert die Assoziation

Man erwartet, dass bei der oben betrachteten Komplexbildung durch Delokalisation gebundener Ionen ein neutraler Komplex entsteht. Die Wirklichkeit sieht anders aus. Der Histon-Komplex besitzt 242 positive Ladungen, während die gebundene DNA (aus 145 bp) 292 negative Ladungen beiträgt. Diese Überschussladung ist sehr wichtig, denn sie sorgt dafür, dass die Komplexe (wie die Nukleosomen) nicht verklumpen. Woher kommt die Überschussladung und warum kondensiert nicht nur soviel DNA an den Komplex, bis Ladungsneutralität herrscht? Der Grund ist die Potenzialdifferenz zwischen den fast neutralisierten Nukleosomen und den hoch geladenen, freien DNA-Sequenzen, welche die Nukleosomen verbinden und deren Ladungsdichte nur etwas durch die kondensierten Gegenionen reduziert sind. Die beiden Komponenten (d. h. die freie DNA und der Histon-DNA-Komplex) bilden einen Kondensator mit einer Potenzialdifferenz $\Delta\Phi$. Im thermodynamischen Gleichgewicht muss sich jedoch ein Konzentrationsgradient zwischen den kondensierten Kationen auf der DNA (C_D) und den restlichen La-

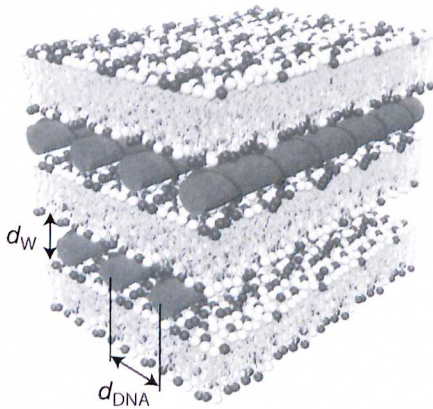


Abb. 36.5 Multischichten aus Membranen mit positiv geladenen Lipiden und interkalierter DNA. (Nach[14].)

dungen auf den Nukleosomen (C_N) ausbilden, und zwar derart, dass die Ionenverteilung der Boltzmann-Verteilung:

$$C_N/C_D = \exp\left\{\frac{-\Delta\Phi}{k_B T}\right\} \quad (36.6)$$

genügt. Daher kann die Netto-Ladung auf den Nukleosomen nicht Null sein. Es werden zusätzliche negative Ladungen angesaugt, um das Gleichgewicht einzustellen. Man nennt diesen Prozess *Ladungsumkehr*. Er ist ein weiteres Beispiel für das besondere Verhalten von Polyelektrolyten.

Ein weiteres praktisch wichtiges Beispiel der Ladungsumkehr sind Komplexe zwischen DNA und positiv geladenen Lipiden. Diese künstlichen Systeme haben in letzter Zeit großes Interesse zum Transfer von Genen in Zellen gefunden, da sie sehr leicht durch Zellen aufgenommen werden [14]. Die DNA-Lipid-Komplexe können verschiedene supramolekulare Strukturen bilden, wie Schichtstrukturen aus Doppelschichten mit interkalierten DNA-Strängen (Abb. 36.5), oder invertierte längliche Mizellen, deren hydrophiler Innenraum mit DNA gefüllt ist. Betrachten wir als Beispiel die Multischichten. Auch hier müssen die Oberflächen der auf Membranen adsorbierten DNA-Filamente eine negative Überschussladung besitzen, damit Multischichten entstehen. Dazu werden mehr DNA-Stränge zwischen den Lipidschichten eingebaut als für die Neutralisierung benötigt werden.

36.2.6

Thermische Fluktuationen lockern die DNA-Histon-Bindung

Die Bildung von Nukleosomen erfordert die Kompensation der Biegeenergie durch die elektrostatische Bindungsenergie. Die freie Energie der Nukleosomen ist:

$$\Delta G = (1/2 BR^{-2} - w)L \quad (36.7)$$

Dabei ist R der Radius des Histon-Komplexes, w die Bindungsenergie pro Länge und $B = k_B T L_p$ der Biegemodul der DNA. Untersuchungen der Stabilität der

Komplexe als Funktion der Salzstärke zeigen Folgendes: Bei kleinen Salzkonzentrationen bis $c_s \approx 100$ mM ist die DNA fest um die Histon-Komplexe gewickelt. Erhöht man diese auf $c_s \approx 700$ mM (d. h. etwas über den physiologischen Wert von etwa 500 mM), so entbindet die Doppelhelix spontan und in kooperativer Weise [6]. Ein diskontinuierlicher Entbindungsübergang durch Erhöhung der Salzkonzentration wurde auch in Simulationsexperimenten auf der Basis der Debye-Hückel-Theorie verifiziert [15].

Die Bindungsenergie pro Basenpaar im thermodynamischen Gleichgewicht ($\Delta G = 0$) erhält man aus der Beziehung $w \approx B/R^2$ zu $w \approx 0,6 k_B T/\text{bp}$. Dies ist ein erstaunlich kleiner Wert. Es scheint also, dass die Natur die Stabilität der Nukleosomen so angepasst hat, dass die DNA nur leicht bindet und durch kleine Änderung des Ladungszustandes entkoppelt werden kann. Wie mehrfach erwähnt, ist die Lockerung der DNA-Histon-Bindung für die Transkription der DNA notwendig.

Dies zeigt auch folgendes smarte biochemische Experiment, mit dem die Bindungsenergie der Basenpaare an die Histone gemessen wurde und das gleichzeitig die Messung der Bindungsenergie ermöglicht. Es ist wieder ein sehr lehrreiches Beispiel, das eindrucksvoll zeigt, wie man durch systematische biochemische Experimente quantitative Information über molekulare Wechselwirkungen im Genom gewinnen kann [7]. Es basiert auf der Anwendung von DNA schneidenden Enzymen, den *Nukleasen*. Damit diese die Doppelhelix entlang der 146 gebundenen Basenpaare durchschneiden können, muss sie (wie für die Transkription) lokal entbinden. Im Experiment wurden die Nukleosomen (ohne freie DNA) dem Enzym ausgesetzt und die Längen L_b der entstehenden Bruchstücke mittels Gel-Elektrophorese bestimmt. Daraus erhielt man die Verteilung $P(L)$ der Längen der nach der Reaktion noch gebundenen DNA-Fragmente. Diese zeigte eine Boltzmann-Verteilung der Form:

$$P(L) \propto \exp\{-\Delta g(L_{\max} - L)/k_B T\} \quad (36.8)$$

wobei L_{\max} die maximale gebundene Länge (der 145 bp) ist. Δg ist offenbar die in Gleichung (36.6) angegebene Bindungsenergie pro Länge. Der im Experiment bestimmte Wert von Δg stimmt mit dem aus Gleichung (36.7) abgeschätzten überein. Das Experiment zeigt eindrucksvoll, dass die DNA der Nukleosomen dauernd zwischen dem gebundenen und freien Zustand hin und her springt und so für Enzyme zugänglich ist. Möglicherweise spielen dabei auch *Ondulationskräfte* wie bei den Membranen eine Rolle.

36.3

Die Regulation der Genexpression in Prokaryonten

In diesem Abschnitt geht es um die zentrale Frage, wie spezifische Gene im Genom der Prokaryonten erkannt und wie die Prozesse der genetischen Expression, d. h. die Bildung von mRNA durch Polymerasen, eingeleitet werden. Ein Ziel ist wieder herauszufinden, welche Rolle die Physik für die Kontrolle dieses

fundamentalen biologischen Prozesses spielt. Ein Großteil unserer Kenntnisse auf dem Gebiet der Genexpression beruht auf Untersuchungen an Bakterien, insbesondere *Escherichia coli*, während die molekularen Grundlagen der Genexpression in Eukaryonten erst langsam aufgeklärt wird. Die bisherigen Experimente zeigen allerdings, dass viele elementare Schritte (wie die Steuerung der Expression durch das von der DNA kodierte Molekül) ganz ähnlich ablaufen.

Das Genom der *Escherichia coli*-Bakterien liegt als ringförmige, aus $3 \cdot 10^6$ Basenpaaren bestehende DNA-Doppelhelix vor, was zur Kodierung von ca. 2000 verschiedenen Proteinen ausreicht. Es bildet in den Zellen eine in sich geschlossene, kompakte Form, die durch Kopplung der DNA an ein basisches Protein (mit ähnlicher Struktur wie die Histone) zusammengehalten wird und Nukleosomen bilden kann. Wie bei allen Prokaryonten (und auch den Eukaryonten) findet die Regulation der genetischen Expression auf der Ebene der Transkription statt. Dieser Prozess wurde erstmals am Beispiel der Expression der *Galactosidase* der *Escherichia coli* aufgeklärt [16]. Das Enzym spaltet das Disaccharid *Lactose* in Glucose und Galactose, die beide für den Metabolismus der Zelle genutzt werden können. Das berühmte, nahezu 50 Jahre alte Experiment von F. Jacob und J. Monod revolutionierte die Genetik und bildet immer noch eine wesentliche Basis des Gebiets. Aus ihm entwickelten sich außerdem viele unserer heutigen Konzepte der Enzymregulation, wie das allosterische Modell der Enzyme.

Den entscheidenden Hinweis auf die Regulationsmechanismus der Genexpression lieferte folgende Beobachtung. Wächst *Escherichia coli* in Anwesenheit von *Lactose*, so synthetisieren die Zellen die zum Abbau dieses Metabolits notwendige β -*Galactoxidase*. Lässt man die Zellen jedoch nur auf Glucose wachsen, so wird das Enzym nicht synthetisiert. Nach Entfernung der Glucose und erneuter Zugabe von *Lactose* wird das Enzym nach einer Induktionsphase wieder synthetisiert. Jacob und Monod schlossen daraus, dass die *Lactose* die *Exprimierung* des Gens aktiviert und entwickelten die Idee des *Operons*. Sie postulierten, dass jedes Gen (des Prokaryonten) aus vier Bestandteilen besteht: dem *Regulatorgen*, einer Regulationsdomäne aus *Promotor* und *Operator* und dem eigentlichen *Strukturgen*. Die Sequenz wird schließlich durch einen *Terminator* abgeschlossen. Das Strukturgen kann wieder aus mehreren Bestandteilen bestehen, welche verschiedene Proteine kodieren. Man nennt die gesamte Sequenz zwischen dem Beginn des Promotors und dem Ende des Strukturgens das *Lactose Operon* oder abgekürzt *lac-Operon*. Abbildung 36.5 zeigt den Aufbau des *lac*-Operons in schematischer Form.

Der Regulationsprozess verläuft wie folgt: In Abwesenheit von *Lactose* bindet der Repressor stark an den Operator und blockiert dadurch die Bindung der die Transkription vermittelnden Polymerase. Diese kann die Doppelhelix nicht aufwinden, um die Synthese der mRNA zu beginnen. Die Transkription des Strukturgens startet, sobald der Repressor vom Operon entkoppelt wird. Dieser Prozess wird durch einen Effektor (hier *Induktor* genannt) induziert, der an das Repressor-Protein bindet und dessen Umwandlung in eine nichtbindende Konformation einleitet. Als Induktor wirkt in der Zelle übrigens nicht direkt die *Lactose*, sondern ein Isomeres dieses Disaccharids (*Allolactose*), welches aus Glucose

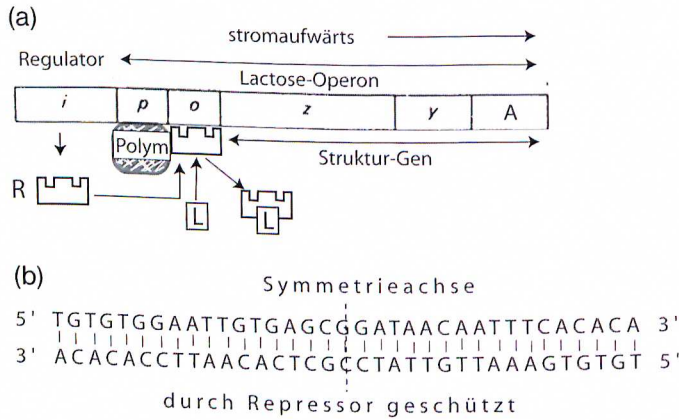


Abb. 36.6 Das Operon-Modell der Genexpression nach Jacob und Monod [16]. (a) Aufbau des *lac*-Operons aus Regulatorgen *i* und Operon. Das Regulationsgen kodiert die Synthese eines Repressors. Das Operon besteht aus dem Promotor *P*, dem Operator *O* und drei Strukturgenen *Z*, *Y* und *A*, welche die für den Lactose-Metabolismus notwendigen Enzyme kodieren. Der Promotor enthält die Bindungsstelle für die Polymerase und der Operator diejenige für den Repressor. In Abwesenheit von Lactose bindet der Repressor *R* und die Polymerase wird blockiert. Bei Zugabe von Lactose, dem sogenannten In-

duktor, entbindet *R* und die Genexpression wird eingeleitet. Die Produktion des Enzyms wird somit durch sein eigenes Substrat reguliert. (b) Nukleotid-Sequenz des *lac*-Operators, bestehend aus 35 Nucleotiden, von denen jeweils sechs mit der Sequenz AATTGT in der 5'→3'-Richtung spiegelbildlich um ein Zwischenstück angeordnet sind. Diese Sequenzen bilden Bindungsstellen für den Repressor, der aus einem Komplex aus zwei identischen Proteinen besteht. Der Abstand der beiden DNA-Bindungsstellen des Komplexes ist gleich dem der beiden Sequenzen AATTGT.

und Lactose mithilfe der noch vorhandenen Reste an β -Galactoxidase gebildet wird. In *in vitro*-Experimenten kann jedoch auch die Lactose selbst als Induktor fungieren. Ausführliche Darstellungen der Biochemie der Regulation findet man in den Büchern der Biochemie (s.[17]). Eine ausführliche Darstellung der mathematischen Aspekte des Monodschen Modells der prokaryontischen Genregulation findet man in dem Buch von L. A. Segel [18].

Wir befassen uns nun mit folgender interessanter Frage: Wie findet der Repressor schnell seine spezifische Bindungsstelle? Dies ist eine fundamentale Frage der Genexpression, die sich auch im Falle der Eukaryonten stellt. Um die Transkription zu stoppen, muss der Repressor seinen Operator finden, sobald er durch Dissoziation der Lactose aktiviert wird. Da dieser sich im gesamten Bereich des Genoms befinden kann, muss er eine Stelle unter einigen Millionen möglicher Bindungsplätze finden. Wie das aus heutiger Sicht funktioniert, wollen wir uns im Folgenden ansehen.

Wir betrachten zunächst die Situation des thermodynamischen Gleichgewichts der Reaktion:



$$\frac{d[C]}{dt} = k_+[D][R] - k_-[C] \quad (36.9b)$$

wobei K_d die Dissoziationskonstante ist, $K_d = k_-/k_+$. Das Genom der *Escherichia coli* hat ein Volumen von ca. $1 \mu\text{m}^3$ und die Konzentrationen der Bindungsstelle und des Rezeptors sind jeweils ca. 10^{-10} M. Die Dissoziationskonstante des Repressor-DNA-Komplexes sollte daher für die bimolekulare Reaktion von dieser Größenordnung oder kleiner sein. Tatsächlich findet man einen noch viel kleineren Werte von $K_d \sim 10^{-13}$ [17]. Sorgfältige *in vitro*-Messung der Bindung des Repressors an verschiedenen langen DNA-Strängen, mit oder ohne die spezifische Basen-Sequenz, zeigten, dass der Repressor auch an die anderen Basensequenzen der DNA unspezifisch bindet, allerdings mit einer ca. 10^9 -mal größeren Dissoziationskonstante (von $K_d \sim 10^{-4}$ M). Dies bedeutet jedoch, dass der Repressor fast immer leicht an der DNA im Genom der Zellen haftet. Auf die Bedeutung dieser Beobachtung für die Kinetik der Reaktion werden wir gleich zurückkommen und zunächst die wichtige Frage diskutieren, weshalb die Bindung des Rezeptors an seine Erkennungsdomäne im Genom so groß ist.

Die Antwort lieferte die Aufklärung der molekularen Struktur der Komplexe des Repressors und der Basensequenz des Operators, die das in Abbildung 36.7 gezeigte Bild ergaben. Ein Grund für die starke Bindung ist die symmetrische Anordnung der Basensequenz (T-A, T-A, A-T, A-T, C-G, A-T) des *lac*-Operators. Der Repressor bildet außerdem ein stabiles Dimeres und kann so an beide symmetrisch angeordnete Stellen binden. Jedes Monomere besteht aus drei Einheiten. Eine kleine Domäne am Amino-Ende dient zur Bindung an die DNA, eine zweite enthält die Bindungsstellen für den Induktor und die dritte sorgt für die Bildung von Tetrameren des Repressors, auf deren Bedeutung wir gleich kommen. Die DNA bindende Domäne eines jeden Monomeren besitzt eine kurze α -Helix, die genau in die große Kuhle der DNA passt, und zwar so genau, dass sich eine oder mehrere Wasserstoff-Brücken zwischen den Aminosäuren und den Basen ausbilden können. Ein Beispiel zeigt Abbildung 36.7. Für die hohe Spezifität der Bindung sorgt insbesondere die Flexibilität der DNA. Analysen der Röntgenbeugungsbilder zeigen, dass sich die Kuhle der DNA durch die Bindung der α -Helix vertieft und sich enger an diese anschmiegt. Man kann die lokale Deformation als partiellen Übergang der DNA von der B-Form in die A-Form verstehen. Die A-Form ist gegenüber der B-Form etwas aufgeweitet und besitzt eine tiefere Kuhle [19].

Kommen wir nun zur Betrachtung der Kinetik der Reaktion. Wir hatten schon mehrfach gesehen (z. B. bei der Betrachtung der Reaktionskinetik in Membranen), dass die Natur die Besonderheiten der Diffusion in niederdimensionalen Räumen nutzt, um Reaktionen zu optimieren. Die Suche des *lac*-Operators durch seinen Repressor ist ein besonders wichtiges Beispiel eines solchen Prozesses, wie in sehr beeindruckenden biochemischen und thermodynamischen Untersuchungen gezeigt wurde [17]. Ausgangspunkt des Modells ist die Beobachtung, dass die Wahrscheinlichkeit der Bindung des Repressors an das *lac*-Operon wesentlich von der Kinetik der unspezifischen Protein-DNA-Bindung abhängt.

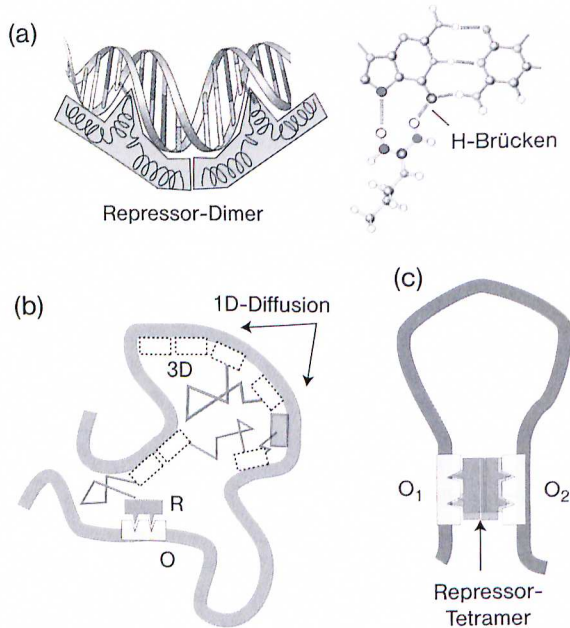


Abb. 36.7 (a) Vereinfachte Feinstruktur des Repressor-DNA-Komplexes. Nur die DNA bindende Domäne der Monomeren wird gezeigt. Die Schlaufe der DNA bindenden Domänen jedes Monomeren bindet in die große Furche der DNA und kann dort mit den Basen Wasserstoff-Brücken ausbilden. Der Einsatz zeigt als Beispiel die Bildung von zwei Wasserstoff-Brücken zwischen Arginin und dem GT-Basenpaar (nach [17]). (b) Irrlauf des Repressor-Dimeren im Genom durch Überlagerung der eindimensionalen Diffusion des unspezifisch gebundenen Proteins und des-

sen 3D-Diffusion während des dissoziierten Zustands. (c) Kopplung zweier weit entfernt liegenden DNA-Schleifen, von denen eine den eigentlichen Operator (O₁) enthält und die andere eine Sequenz mit ähnlicher Struktur (den Operator O₂). Die beiden Sequenzen werden durch die Assoziation zweier Repressor-Dimeren gebunden. Die Bindung entfernter Domänen auf der DNA kann durch Elektronenmikroskopie oder durch Kraftspektroskopie beobachtet werden (s. Übungsaufgabe 36.5).

Diese rein elektrostatische und damit unspezifische Wechselwirkung sorgt dafür, dass das große Repressor-Molekül die meiste Zeit an der Doppelhelix andockt und im Bereich des Bakterien-Chromosoms gefangen bleibt, unabhängig davon, ob es Lactose gebunden hat oder nicht. Da die Bindung schwach ist, kann *R* entlang der DNA diffundieren, wird aber aufgrund der kleinen Bindungsstärke mit der Häufigkeit k_- entbinden. Seine Bewegung besteht daher aus einer Überlagerung ein- und dreidimensionaler Diffusion.

Zur quantitativen Analyse des Prozesses betrachten wir die Kinetik des Repressor-Operon-Assoziationsgleichgewichts Gleichung (36.9b). Wir nehmen an, das Genom der Länge L liege als relativ dicht gepacktes Knäuel mit dem Durchmesser $\Phi \sim 1 \mu\text{m}$ vor. Betrachten wir zunächst die rein dreidimensionale Diffusion des Repressors (Radius 5 nm). Die Viskosität des Zytoplasmas ist $\eta \sim 10^{-2} \text{ Pa sec}$ und der Diffusionskoeffizient des ca. 5 nm großen Proteins $D \approx 10^{-12} \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$.

Nach Gleichung (9.3) in Kapitel 9 ist die mittlere Zeit, die der Repressor braucht, um das Target im Abstand b (mit $\varnothing b_r \approx 5$ nm) zu finden: $T_r \approx b^3/3Da \approx 10^3$ sec. Da sich in dem Reaktionsraum ein Repressor (entsprechend 10^{-9} mol/l) befindet, erwartet man einen kinetische Koeffizienten von $k_+ \sim 10^7$ mol $^{-1}$ sec $^{-1}$. Der beobachtete Wert liegt jedoch wesentlich höher: $k_a \sim 10^{10}$ mol $^{-1}$ sec $^{-1}$ [17].

Die Suche durch die kombinierte Diffusion ist viel effektiver, wie folgende Überlegung zeigt. Während der unspezifischen Bindung an die DNA mit der Lebensdauer $\delta t = 1/k_-$ diffundiert der Repressor eine Strecken $\delta L \approx (D^{(1)} \delta t)^{1/2}$ auf dem Genom. Während einer Beobachtungszeit τ hat er τk_- eindimensionale Sprünge gemacht. Die dabei durchlaufene Strecke auf der DNA wird

$$\Delta L(\tau) = \tau k_- (D^{(1)} \delta t)^{1/2} \quad (36.10a)$$

Die ist ein interessantes Ergebnis. Es besagt nämlich, dass die Zahl der vom Repressor auf dem Genom abgefragten Positionen linear mit der Zeit τ zunimmt und nicht mit $\sqrt{\tau}$ wie bei der 3D-Diffusion. Die Suche nach dem Operator ist so viel effektiver. Die gesamte Zeit zum Erforschung des Genoms ist:

$$t_{\text{tot}} = L(D^{(1)}k_-)^{-1/2} \quad (36.10b)$$

Die Messungen von Berg *et al.* lieferten folgende Daten [17]. Der eindimensionale Diffusionskoeffizient ist $D^{(1)} \sim 10^{-13}$ und die Entbindungshäufigkeit $k_- \approx 10$ sec $^{-1}$. Die während der Lebensdauer durchlaufene Strecke auf der DNA ist daher $\Delta L(t) \approx 100$ nm. Um das Genom von $10 \mu\text{m}$ Länge abzufragen, sind nur $t_{\text{tot}} \approx 10$ sec notwendig. Die Zeit würde etwa $t_{\text{tot}} \approx 1000$ sec betragen, falls der Repressor nur entlang der DNA diffundieren würde (da $t_{\text{tot}} \sim L^2/D^{(1)}$ ist).

36.4

Die DNA-Kondensation in Bakteriophagen erfordert Megapascal-Drucke

Wir hatten mehrfach erwähnt, wie wichtig das Zusammenspiel elastischer, elektrostatischer und zwischenmolekular Kräfte für die Bildung der hierarchischen Organisationsformen und die Funktion des Genoms in den Zellen ist. Die Bindungsenergien lagen dabei in der Größenordnung von einigen $k_B T$ (z. B. rund $25 k_B T$ im Falle der starken Bindung des Repressor-DNA-Komplexes). Sehr viel größerer Kräfte sind notwendig, um die DNA in Viren zu packen. Dies zeigt schon der Vergleich der Abstände zwischen den DNA-Filamenten in den selbstorganisierten Torusen in Lösung und in den λ -Bakteriophagen T7. Der Abstand zwischen den Filamenten in Lösung ist etwa 2,8 nm. Im Virus sind die Abstände mit $d \approx 2,5$ nm dagegen nur noch 25 % größer als die dichteste Packung der DNA von 2,0 nm. Es bedarf also sehr großer Kräfte, um die sterische Abstoßung zwischen den Filamenten zu überwinden.

Wir diskutieren nun die Frage, wie die Viren es schaffen, die rund $10 \mu\text{m}$ lange DNA des Genoms in Capside mit Radien von $R_C \approx 30$ nm einzuschleusen, und welche Kräfte dabei die entscheidende Rolle spielen. Wir beschreiben zunächst ein elegantes mikromechanisches Experiment, mit dem die Kraft gemessen

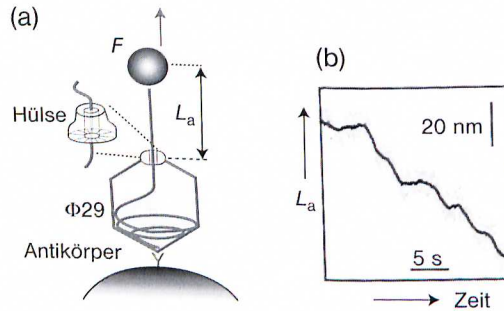


Abb. 36.8 (a) Schematische Darstellung zur Beobachtung des DNA-Transfers in Bakteriophagen und zur Messung der Transferkräfte nach Smith *et al.* [21]. Das Capsid (hier des Bakteriophagen $\Phi 29$) wird über Antikörper auf einer Oberfläche befestigt. Das aus dem Capsid ragende Ende der DNA wird mit einer Kraftsonde verbunden, die über optische Pinzetten manipuliert wird. Der Einsatz zeigt das hülsenförmige Verbindungsstück (mit 3,6 nm Innendurchmesser), durch das die

DNA eingeschleust wird. Es besteht aus 12 Proteinen (gp10 genannt), an deren nach außen weisendem Ende sechs spezielle RNA-Sequenzen angedockt sind, die zusammen mit sechs ATPasen an dem aktiven Transport beteiligt sind. Man schließt aus der sechsfachen Anordnung, dass der Antrieb als Rotationsmotor funktioniert (nach [22]). (b) Typische Abnahme der aus dem Virus ragenden DNA, die zeigt, dass er stottert.

wurde, die notwendig ist, um die DNA durch das Portal in den Virus zu treiben. Dann diskutieren wir ein detailliertes theoretisches Modell der Gruppe um A. Ben Shaul [20]. Diese Betrachtungen werden zeigen, dass dabei Arbeit gegen einen Druck von 50 atm ($= 5 \cdot 10^6$ Pa) geleistet werden muss, wozu Kräfte von etwa 50 pN auf das DNA-Molekül ausgeübt werden müssen.

Im Fall der Bakteriophagen $\Phi 29$ ist bekannt, dass der Transfer der 6,6 μm langen DNA in die Capside über hülsenförmige Verbindungsstücke (mit ca. 3,6 nm Innendurchmesser) erfolgt, welche den Übergang des Stammes in das Capsid bilden (s. Abb.36.8). Der DNA-Transport in das Capsid erfolgt unter ATP-Spaltung, wobei man annimmt, dass diese einen Rotationsmotor antreibt. Dabei spielt eine Anordnung von sechs speziellen RNA-Molekülen (pRNA genannt, wobei p für *packing* steht) eine wichtige, allerdings noch unbekannt, Rolle. Die Funktion des Motors wurde in den in Abbildung 36.8 skizzierten Experimenten mit optischen Pinzetten untersucht [21]. Wie man sieht, erfolgt der Transfer nicht kontinuierlich, sondern, wie im Fall der DNA-Polymerase, schrittweise. Die Geschwindigkeit des Transfers hängt von der Kraft auf das Filament ab. Sie nimmt monoton von 100 bp sec^{-1} bei $F = 0$ auf 20 bp sec^{-1} bei 40 pN ab und geht bei 57 pN gegen Null. Pro ATP-Spaltung werden 2 bp transferiert, was einer Länge von 0,68 nm entspricht.

Es scheint auch noch nicht geklärt, ob die DNA in Viren vollständig in der natürlichen B-Form (Durchmesser $\Phi \approx 2,37$ nm) vorliegt oder ob sich Teile nicht in die Z-Form umwandeln, deren Durchmesser mit $\Phi \approx 1,87$ deutlich kleiner sind. Wir werden weiter unten sehen, dass die maximale Kraft von 57 pN gerade ausreicht, um das gesamte Genom zu transferieren.

Für das nun folgende phänomenologische Modell der Aufnahme der DNA in die Phagen nehmen wir an, dass sich die DNA vor der Aufnahme im thermodynamischen Gleichgewicht befindet, einen Torus bildet (wie in Abb. 36.1) und der Gleichgewichts-Abstand der Filamente im hexagonalen Gitter $a \approx 2,8$ nm beträgt. Dieser ist bestimmt durch das Gleichgewicht zwischen der (durch zweiwertige Ionen vermittelten) Attraktion und den abstoßenden Dehydratationskräften, die in Kapitel 6.6 eingeführt wurden [10, 20]. Der Aufwand an elastischer Energie zur Biegung der DNA im Torus ist dabei klein (ca. $25 k_B T$ pro μm Länge). Wie elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen, ist die Anordnung der DNA in den Bakteriophagen dagegen oft anders. Anstatt Torusse (wie in Abb. 36.4) bildet sie eine Spule von der in Abb. 36.1 gezeigten Struktur mit einem Loch von ca. 10 nm Durchmesser im Zentrum. Dieses ist parallel zum Stamm der Phagen (Abb. 36.1). Offenbar ermöglicht diese Anordnung eine höhere Packungsdichte als der Torus. Die DNA wird (wie im Fall des Phagen $\Phi 29$) durch das als Motor wirkenden Portal mit der 3,6 nm dicken Pore injiziert.

Zur Berechnung des Energieaufwandes zum Transfer der DNA in das Capsid betrachten wir eine Situation, in der sich ein Teil der DNA (der Länge L_a) in Lösung und der andere (mit $L - L_a$) im Virus befindet. Die gesamte freie Energie der DNA der Länge L (G_V) ist:

$$G_V = G_{\text{in}}(L - L_a) + G_a L_a \quad (36.11)$$

wobei G_{in} und G_a die Beiträge zur freien Energie im Innen- und Außenraum sind. Im Gleichgewicht muss gelten:

$$\frac{\partial G_V}{\partial L} = -\frac{\partial G_{\text{in}}}{\partial L_{\text{in}}} + \frac{\partial G_a}{\partial L_a} = 0$$

da die Ableitungen die chemischen Potentiale pro Basenpaar sind. Die Energie in jedem Teilraum besteht aus drei Teilen: dem Energieaufwand zum Biegen der Filamente $G_{\text{in,b}}$, der Arbeit gegen die Wechselwirkung zwischen benachbarten Filamenten im Abstand a $G_{\text{FF}}(a)$ und einer Oberflächenenergie G_{O} . Zur Vereinfachung der Diskussion betrachten wir im Folgenden jedoch nur die Energie der DNA im Virus und vernachlässigen den wesentlich kleineren Beitrag der äußeren Fraktion [20]. Die Energie im Capsid ist gegeben durch:

$$G_{\text{in}} = -\varepsilon(a)L + \frac{1}{2}B \int_0^L ds R(s)^{-2}$$

Dabei ist $\varepsilon(a)$ die Kohäsionsenergie der DNA-Stränge pro Länge, $R(s)$ der lokale Krümmungsradius am Ort der Kontur s und B der Biegemodul mit $B = k_B T L_p$.

Die entscheidende Größe für unsere weitere Betrachtung ist der repulsive Teil der Energie $\varepsilon(a)$, gegen die beim Transfer die meiste Arbeit geleistet werden muss. Diese Arbeit erhält man aus den in Abbildung 36.4 gezeigten Messungen des osmotischen Drucks $\Pi(a)$ als Funktion des Abstandes a gemäß:

$$\epsilon(a) - \epsilon(a_0) = \int_{a_0}^a 2\pi a \Pi(a) da$$

Diese Beziehung folgt aus der Tatsache, dass $P = 2\pi a \Pi(a)$ der senkrecht auf die Filamente wirkende Druck ist, gegen den bei Änderung des Abstandes um δa die Arbeit $p\delta a$ geleistet werden muss. Aufgrund der hohen Packungsdichte im Genom muss nur der abstoßende Teil der Kohäsionsenergie der Filamente betrachtet werden, wie folgende Überlegung zeigt. Der Abstand zwischen den kondensierten Filamenten in dem Torus ist $a_0 = 2,8$ nm (Abb. 36.4). Um die $L = 16,5$ μm lange DNA des Phagen T7 in das Capsid mit dem Radius $R = 27,5$ nm zu zwingen, muss der Abstand zwischen den Filamenten auf $a = 2,48$ nm reduziert werden. Der interessierte Leser sollte die Berechnung des Abstands anhand der Übungsaufgabe 36.8 nachvollziehen.

Die Berechnung der Form der injizierten DNA als Funktion der Länge L_a durch analytische Lösung der Euler-Lagrange-Gleichung der Gesamtenergie ist nur für symmetrische Formen wie den Torus möglich. Um asymmetrische Formen wie die Spule zu berechnen, wurde das Variationsproblem numerisch gelöst. Die wesentlichen Ergebnisse der analytischen und numerischen Rechnungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Solange das Verhältnis der Länge im Genom zur Gesamtlänge L_i/L kleiner als 0,3 ist, bildet die DNA einen Torus. Bei $L_i/L \geq 0,3$ beginnt sich eine Spule auszubilden, die bei $L_i/L \geq 0,7$ die in Abbildung 36.1 gezeigte Form besitzt.
- Der gesamte Energieaufwand zum Einbau des Genoms beträgt für $L_i/L \leq 0,3$ (d. h. solange die DNA als Torus vorliegt) etwa $10^3 k_B T$, während der Aufwand im Bereich $0,3 \leq L_i/L \leq 0,7$ auf $4000 k_B T$ ansteigt.
- Der Aufwand an Biegeenergie macht sich vor allem bei der Ausbildung des inneren Bereichs der Spule bemerkbar, in dem die Krümmung sehr groß ist. Dort ist es energetisch günstiger, den Abstand a zu verringern, als den inneren Radius kleiner zu machen.

Der osmotische Druck zur Erzeugung des DNA-DNA-Abstands von 2,48 nm ist nach Abbildung 36.5 etwa $\Pi = 10^7$ Pa. Auf die Öffnung des Portals vom Durchmesser 3,6 nm wirkt danach eine Gesamtkraft von 100 pN, was in etwa der maximalen Kraft der Motoren des Phagen $\Phi 29$ von 57 pN entspricht. Das erste der obigen Ergebnisse stimmt mit der Beobachtung des Kraftexperiments überein, dass die Geschwindigkeit der Injektion konstant ist, bis sich etwa 40 % des Genoms im Capsid befinden [23].

Anhang 36.A

Replikation und Translation: eine Zusammenfassung

Die Prozesse der Replikation und Transkription sind so komplex, dass deren Beschreibung in den Büchern der Zellbiologie einige zehn Seiten beanspruchen. Da in dem vorliegenden Buch immer wieder Begriffe aus diesem Bereich benutzt

werden, zeigen wir in diesem Anhang ein stark vereinfachtes schematisches Bild der Replikation am Beispiel der *Escherichia coli*-DNA (Abb. 36.A.1). Eine gut lesbare Darstellung der Prozesse findet man in der Monographie von G. Karp [4]. An dem Prozess sind eine Reihe von Proteinen beteiligt: DNA-Helikasen winden die Doppelhelix an der durch den Promotor aktivierten Position des Genoms auf und erzeugen eine Replikationsgabel. Einzelstrang bindende Proteine verhindern die lokale Basenpaarung in der Replikationsgabel. DNA-Primasen (die oft im Komplex mit den Helikasen auftreten) bilden kurze Stücke von RNA (sog. *Primer*), welche die Bildung der komplementären Stränge einleiten. Die DNA-Polymerasen synthetisieren neue DNA, indem sie die aktivierten Triphosphate der Nukleotide (wie ATP, GTP etc.) an das 3'-Ende der naszenten DNA oder der Primer an koppeln. Da beim Aufwinden die oben beschriebenen Verdrehungen zu starken mechanischen Spannungen führen, müssen diese laufend durch die Topoisomerasen entspannt werden, die wir hier nicht zeigen. Eine weitere Gruppe von Helferproteinen (die Ligasen) sorgt für die Fusion von kurzen, neu synthetisierten Einzelsträngen.

Beim Replikationsprozess entsteht jedoch folgendes Problem. Die Polymerasen synthetisieren die komplementären Stränge nur in der 5'→3'-Richtung und laufen dabei in 3'→5'-Richtung am Mutterstrang entlang. Sie können daher nur

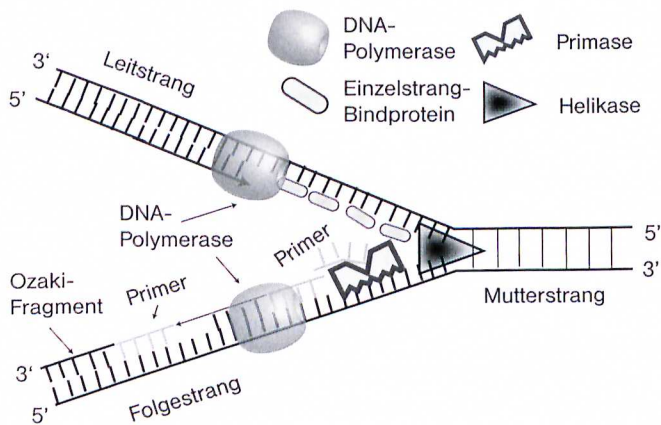


Abb. 36.A.1 Modell der DNA-Verdoppelung an der Replikationsgabel, an der die DNA in den Mutterstrang (engl. *leading strand*) und Folgestrang (*lagging strand*) aufspaltet. Die DNA-Polymerase kann nur Tochterstränge in der 5'→3'-Richtung synthetisieren und läuft auf dem Mutterstrang in 3'→5'-Richtung. Bei jedem Reaktionszyklus wird ein energiereiches, ATP tragendes Nukleotid mit der komplementären Base an die wachsende Kette angekoppelt. Jede neue DNA-Synthese muss jedoch mit einem Primer beginnen. Dabei handelt es sich um ein Stück RNA, das von

Enzymen mit dem Namen Primase hergestellt wird. Diese sind oft an die Helikase gekoppelt, welche die Doppelhelix aufwindet. Wegen der Unfähigkeit der DNA-Polymerase, in beide Richtungen der Einzelstränge zu arbeiten, muss der komplementäre Folgestrang stückweise synthetisiert werden. Für jedes Stück wird ein eigener Primer hergestellt. Die mit einem Primer beginnenden Stücke neu synthetisierter DNA nennt man nach dem Entdecker Okazaki-Fragmente. Diese werden nach Abspaltung der Primer durch das Enzym Ligase fusioniert.

einen der Stränge kontinuierlich reproduzieren. Man nennt diesen Leitstrang: Der komplementäre Folgestrang wird in Sequenzen von etwa 100 nm Länge (1000 bp) hergestellt, und die Stücke werden nach der Synthese durch Ligasen fusioniert. Jedes Stück muss durch einen Primer initiiert werden, der vor der Fusion durch die Ligasen wieder entfernt werden muss. Die RNA-DNA-Stücke nennt man nach ihrem Entdecker Okasaki-Fragmente.

Die Ligase spielt außerdem eine wichtige Rolle als Teil des Reparatur-Apparats des Gens. Dieser besteht aus Nuklease, Polymerase und Ligase. Wird in dem neu synthetisierten Strang eine falsche Base eingesetzt, so entsteht eine lokale Verzerrung in der Doppelhelix. Diese wird von der Reparatur-Nuklease erkannt und ausgeschnitten. Dann wird das fehlende Stück durch die Polymerase neu synthetisiert und die Lücke schließlich mithilfe der Ligase geschlossen.

Die DNA-Replikation in Eukaryonten ist wesentlich komplizierter. Aufgrund der großen Länge muss die DNA lokal entfalten, sodass eine Blase entsteht. Innerhalb dieser erfolgt die Replikation wieder an beiden Strängen. Sie startet jedoch gleichzeitig an mehreren Punkten der Replikationsgabel. Dies ist notwendig, da sie langsamer (2600 Basen pro Minute) abläuft als in Prokaryonten (16 000 Basen pro Minute). Da gleichzeitig bis zu 6000 Replikationsstellen im Einsatz sind, ist die Verdoppelung der gesamten DNA in drei Minuten vollendet. Von einer Startstelle aus wären mehrere Wochen notwendig.

Ganz analog zur Replikation verläuft auch die *Transkription*. Bei dieser wird die DNA eines Gens in Boten-RNA (mRNA, wobei m für *messenger* steht) mit einer zur DNA komplementären Basensequenz kopiert. Dieser Prozess wird durch eine RNA-Polymerase bewerkstelligt. Im Gegensatz zur DNA-Polymerase kommt diese ohne Primer aus. Die Initiierung der Transkription der genetischen Information in Bakterien hatten wir schon am Beispiel des Operon-Systems der *Escherichia coli* ausführlich besprochen.

Anhang 36.B

Polymerasen als molekulare Motoren vermitteln die Transkription

Einer der erstaunlichsten Befunde der Genetik ist die Geschwindigkeit, mit der die genetische Information reproduziert oder in Boten-RNA umgewandelt wird. Eine Erklärung für die hohe Geschwindigkeit ist, dass die Polymerasen als ATP-getriebene molekulare Motoren die Synthese vorantreiben. Hinweise auf eine solche Funktion der Polymerasen wurde durch zahlreiche mikromechanische Experimente erbracht (s.[24–25]), von denen eines mit optischen Pinzetten in Abbildung 36.B.1 gezeigt wird (nach [24]). Die RNA-Polymerase wird, zusammen mit der DNA und einem Stück der zu kopierenden RNA, auf einem Festkörper fixiert. An einem Ende der DNA wird ein Polystyrol-Kügelchen ($\Phi = 4,5 \mu\text{m}$) fixiert, das in einer optischen Falle festgehalten wird. Gibt man nun energiereiche Nukleotide (ATP-Nukleotide) hinzu, so wächst die RNA (vom 5'- zum 3'-Ende), wobei die Polymerase nach links läuft. Dabei wird auf die (am rechten Ende fixierte) optische Falle eine Kraft ausgeübt, die bis zu 30 pN anwachsen kann.

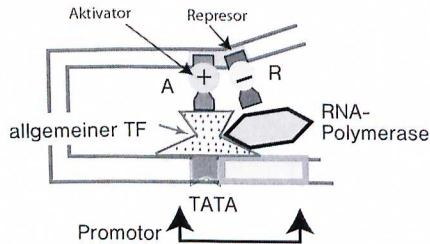


Abb. 36.C.1 Direkte lokale Kontrolle der Bindung der RNA-Polymerase an den Operator eines Gens durch Gen-Aktivatoren (A) und Gen-Inhibitoren (R). Diese kontrollieren die Bindung der allgemeinen Transkriptionsfaktoren TF an die TATA-Box. Nur wenn diese erfolgt, kann die RNA-Polymerase aktiv

werden. Die Proteine besitzen zwei Bindungsdomänen, von denen eine an die weit von der TATA-Box entfernte Bindungsstelle auf der DNA bindet, während die andere mit dem allgemeinen TF wechselwirkt. Gezeigt wird der Fall der Aktivierung der RNA-Polymerase durch Bindung des allgemeinen TF an den TATA Box.

Es gibt zwei wesentliche Unterschiede zwischen der Expression in Prokaryonten und Eukaryonten:

- Im Gegensatz zur Transkription in Prokaryonten, bei der die Transkription startet, wenn der Repressor entbindet, kann die Polymerase II nur in Gegenwart des allgemeinen Transkriptionsfaktors aktiv werden. Erst wenn dieser an seine Bindungsstelle koppelt, kann die mRNA synthetisiert werden.
- Die Aktivität der Transkriptionsfaktoren wird durch flussaufwärtsliegende Basensequenzen reguliert. Diese können einige 10 000 bp lang sein und mehrere Bindungsstellen für mindestens zwei weitere Gruppen von Kontrollproteinen aufweisen: die *Gen-Aktivator-Proteine* und die *Gen-Repressor-Proteine*. Die Regulations-Sequenzen können oft Tausende von Basenpaaren von der TATA-Sequenz entfernt liegen und trotzdem mit der spezifischen Bindungsstelle und dem allgemeinen TF an der TATA-Sequenz wechselwirken. Dies erfolgt wie bei den Bakterien durch Schleifenbildung. Es gibt Tausende dieser spezifischen Kontrollproteine und 5–10% der Basenpaare des menschlichen Genoms werden allein zur Kodierung derselben benötigt.

Es gibt zahlreiche molekulare Mechanismen der Aktivierung der Genexpression in Eukaryonten, von denen wir zwei genauer betrachten:

Ein Mechanismus beruht auf der direkten Zell-Zell-Wechselwirkung und weist damit gewisse Analogien mit der Zelladhäsion auf. Er spielt eine zentrale Rolle bei der lokalen Ausbildung spezifischer Zellen (wie Haaren) bei der embryonalen Entwicklung. Das lokale Wachstum wird durch eine spezielle Klasse von Zell-Rezeptoren vermittelt, welche auf verschiedene Weise in die Transkription der Gene eingreifen (s. [27]). Bei einer Gruppe handelt es sich um Rezeptoren für Wachstumsfaktoren, die von anderen Zellen exportiert werden und sich im Gewebe durch Diffusion ausbreiten. Da die Wachstumsfaktoren oft eine kurze Lebensdauer von zehn Minuten besitzen, bilden sie Gradienten aus und können so zur Bildung spezifischer Gewebemuster beitragen, indem sie die Genexpression

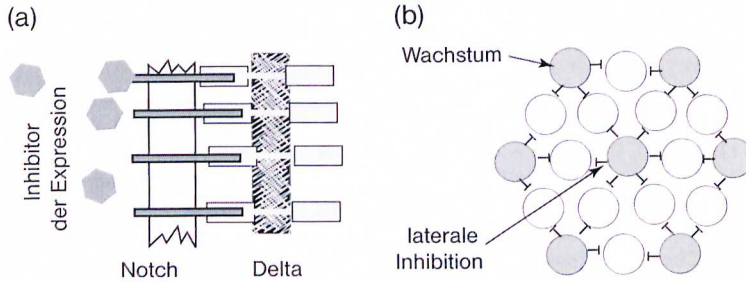


Abb. 36.C.2 Laterale Inhibition der Gen-Expression in der Umgebung einer Endothelzelle, die differenziert und dabei eine Haarzelle als Antenne oder Tasthaar ausbildet. Das linke Bild zeigt die Wirkung von Delta auf Notch. Diese besteht in der Abspaltung einer Protein-Domäne, das die Expression der das Zellwachstum steuernden Gene unterdrückt. Rechtes Bild: Alle Zellen exprimieren zunächst

Notch- und Delta-Proteine. Die Zelle im Zentrum, die zufällig eine hohe Dichte an Delta exprimiert, bindet an die Notch-Rezeptoren der umgebenden Zellen. Diese produzieren eine hohe Konzentration an Inhibitoren der Genexpression und unterdrücken die Bildung der Tasthaare in den benachbarten Zellen. Die Kontrolle der Genexpression ist lokalisiert.

verschiedener Zellen synchronisieren. Dieser Mechanismus führt zur Ausbildung ausgedehnter Zellverbände wie dem Endothelium.

Bei der zweiten Gruppe handelt es sich um die Membranproteine *Notch* und *Delta*. Notch ist ein kleiner membranständiger Rezeptor. Nach Bindung an Delta wird er auf einem komplizierten Weg aktiviert, an dessen Ende die Abspaltung einer intrazellulären Domäne durch eine Protease steht (s. Abb. 36.C.2). Dieses Protein diffundiert zum Kern und moduliert die Expression der Gene auf verschiedene Weise (s. [27]). Insbesondere aktiviert es die Expression von Proteinen, welche das Wachstum von Nervenzellen oder Haaren (wie die Antennen und andere Tasthaare der Insekten) unterdrücken.

Das auf Notch beruhende Signalsystem einer Zelle kann auf verschiedenen Wegen aktiviert werden. Im Fall der lateralen Inhibition erfolgt dies durch Adhäsion an Zellen, die eine hohe Konzentration an *Delta-Rezeptoren* tragen.

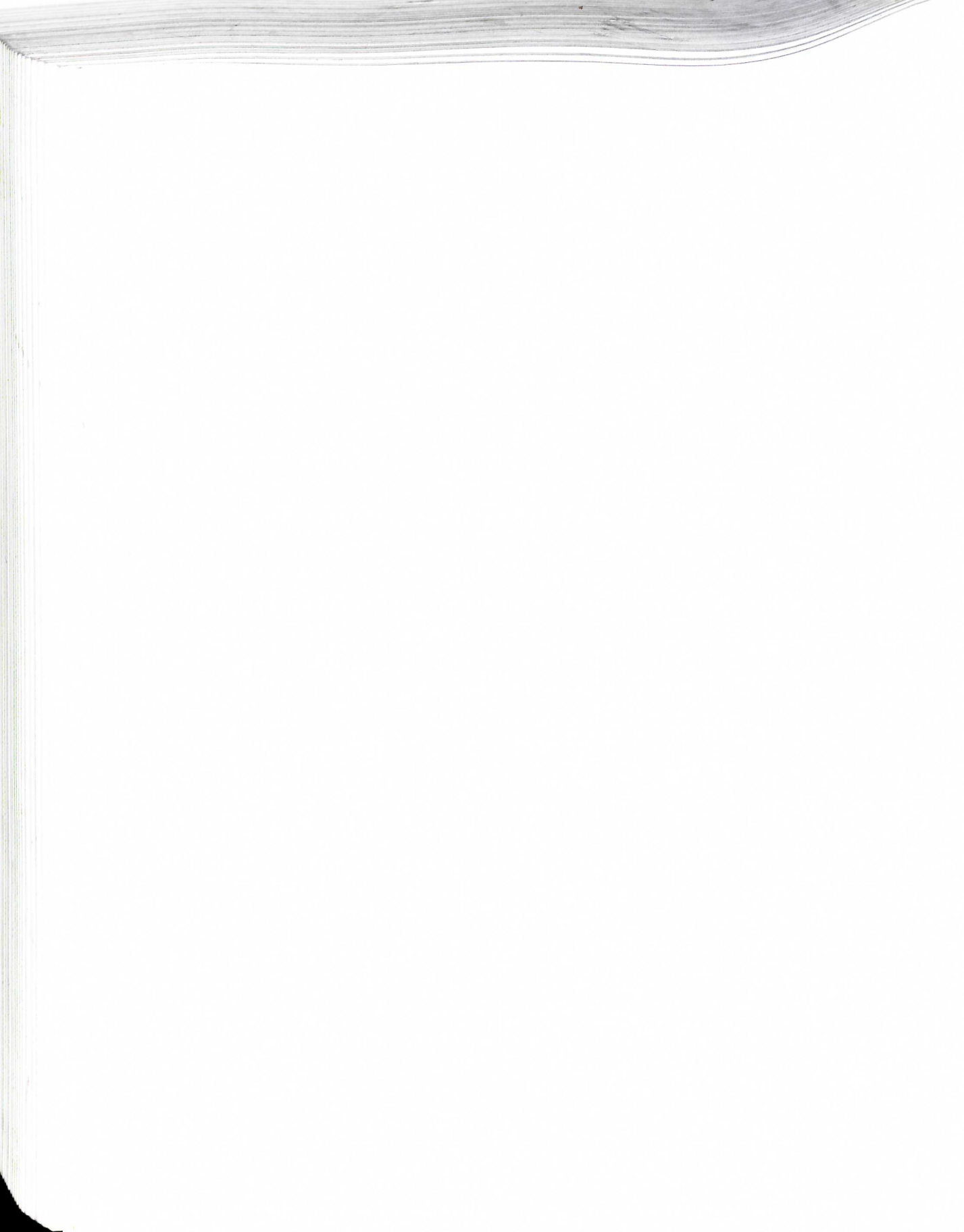
Die lokale Bildung eines Tasthaares stellt man sich wie folgt vor: Alle Zellen der Epithelzellschicht des Embryos exprimieren etwa gleichzeitig den Rezeptor Notch und Delta. Die Bindung von Delta an Notch aktiviert die Abspaltung der intrazellulären Domäne von Notch, das die weitere Differenzierung der den Notch-Rezeptor tragenden Zelle hemmt. In einem Zellverband kann nun eine Zelle, die zufällig besonders viel Delta exprimiert hat, die Differenzierung der Nachbarzellen durch Bindung an deren Notch-Rezeptoren unterdrücken (Abb. 36.C.2). Diese Zelle induziert dann die Ausbildung der Tastorgane (s. [27], Chapter 21). Das auf Notch und Delta basierende System der Genexpression dient also der lokalisierten Bildung spezifischer Zellen während das erste, oben erwähnte System der Bildung globaler Zellmuster dient.

36.5

Literatur

- 1 Marko, J.F., Siggia, E.D. (1995) Stretching DNA. *Macromolecules*, **28**, 8759–8770.
- 2 Kornberg, R. D. (2007) The molecular basis of eukaryotic cells *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 12955-12961.
- 3 Gelbart, W.M., Bruinsma, R.F., Pincus, P.A., Parsegian, V.A. (2000) DNA-inspired electrostatics. *Physics Today*, **53**, 38–45.
- 4 Karp G. (1999) Cell and Molecular Biology. J. Wiley, New York.
- 5 Cerritelli, M.E., Cheng, N., Rosenberg, A.H., McPherson, C.E., Booy, F.P., Steven, A.C. (1997) Encapsidated conformation of bacteriophage T7 DNA. *Cell*, **91**, 271–280.
- 6 Yager, T.D., McMurray, C.T., van Holde, K.E. (1989) Salt-induced release of DNA from nucleosome core particles. *Biochemistry*, **28**, 2271–2281.
- 7 Polach, K.J., Widom, J. (1995) Mechanism of protein access to specific DNA sequences in chromatin: a dynamic equilibrium model for gene regulation. *J. Mol. Biol.*, **254**, 130–149.
- 8 Adamčík, J., Víglašký, V., Valle, F., Antalík, M., Podhradský, D., Dietler, G. (2002) Effect of bacteria growth temperature on the distribution of supercoiled DNA and its thermal stability. *Electrophoresis*, **23**, 3300–3309.
- 9 Gore, J., Bryant, Z., Stone, M.D., Nöllmann, M., Cozzarelli, N.R., Bustamante, C. (2006) Mechanochemical analysis of DNA gyrase using rotor bead tracking. *Nature*, **439**, 100–104.
- 10 Podgornik, R., Rau, D.C., Parsegian, V.A. (1994) Parametrization of direct and soft steric-undulatory forces between DNA double helical polyelectrolytes in solutions of several different anions and cations. *Biophys. J.*, **66**, 962–971.
- 11 Lambert, O., Letellier, L., Gelbart, W., Rigaud, J.-L. (2000) DNA-delivery by phage as a strategy for encapsulating toroidal condensates of arbitrary size into liposomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **97** 7248-7253.
- 12 Oosawa, F. (1968) Helix-with-loops structure of polynucleotide. II. Poly(I + CU). *Biopolymers* **6**, 123-134.
- 13 Bruinsma, R. (2002) Physics of Protein-DNA Interaction in “Physics of Biomolecules and Cells“ NATO Advanced Study Institute LXXV (eds: H. Flyvberg et. al.) Springer Verlag, EDP-Sciences, Berlin.
- 14 Rädler, J., Koltover, I., Salditt, T., Safinya, C. (1997) Structure of DNA-Cationic Liposome Complexes: DNA Intercalation in Multilamellar Membranes in Distinct Interhelical Packing Regimes *Science*. **275**, 810-814.
- 15 Kunze, K.K., Netz, R.R. (2000) Salt-induced DNA-histone complexation. *Phys. Rev. Lett.*, **85**, 4389–4392.
- 16 Jacob, F., Monod, J. (1961) Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. *J. Mol. Biol.*, **3**, 318–356.
- 17 Berg, O.G., Winter, R.B., von Hippel, P.H. (1981) Diffusion-driven mechanisms of protein translocation on nucleic acids. 1. Models and theory. *Biochemistry*, **20**, 6929–6948.
- 18 Segel L.A. (1985) “Mathematical Models in Molecular and Cellular Biology“. Cambridge University Press, Cambridge.
- 19 Olson, W.K., Gorin, A.A., Lu, X.J., Hock, L.M., Zhurkin, V.B. (1998) DNA sequence-dependent deformability deduced from protein-DNA crystal complexes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **95**, 11163–11168.
- 20 Tzilil, S., Kindt, J.T., Gelbart, W.M., Ben-Shaul, A. (2003) Forces and pressures in DNA packaging and release from viral capsids. *Biophys. J.*, **84**, 1616–1627.
- 21 Smith, D.E., Tans, S.J., Smith, S.B., Grimes, S., Anderson, D.L., Bustamante, C. (2001) The bacteriophage straight phi29 portal motor can package DNA against a large internal force. *Nature*, **413**, 748–752.
- 22 Sun J., Cai, Y., Moll, W., Guo, P. (2006) Controlling bacteriophage phi29 DNA-packaging motor by addition or discharge of a peptide at N-terminus of connector protein that interacts with pRNA. *Nucleic Acid Research*. **34**, 5482-5490.

- 23 Breslauer, K.J., Frank, R., Blöcker, H., Marky, L.A. (1986) Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **83**, 3746–3750.
- 24 Yin, H., Wang, M., Svoboda, K., Landick, R., Block, S., Gelles, J. (1995) Transcription against an applied force. *Science* **270**, 1653-1657.
- 25 Maier, B., Bensimon, D., Croquette, V. (2000) Replication by a single DNA polymerase of a single stretched DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* **97**, 12002-12007.
- 26 Alberts B., Johnson A., Walter P., Lewis J., Raff M., Roberts K., (2008) *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. Taylor and Francis, New York.



37

Methoden der Biophysik

37.1

Wie beobachtet man die Feinstruktur von Zellen?

Unser heutiges Bild der Feinstruktur der Zelle (s. Abb. 2.2) ist das Ergebnis vieler tausend Arbeiten, die nach der Akzeptanz des Konzeptes der Zelle vor allem in den letzten 80 Jahren durchgeführt wurden. Erste Einblicke in die komplexe Architektur der Zelle lieferte die optische Mikroskopie, kombiniert mit oft raffinierten Methoden des Anfärbens einzelner Substrukturen. Diese Methode führte zur Klassifizierung von Bakterien durch den Botaniker Hans Gram und (um 1875) zur Entdeckung der Chromosomen während der Zellteilung. Aufgrund der fadenartigen Form der Gebilde nannte man den Prozess Mitose, nach dem griechischen Wort *Mitros*, Faden. Die Färbemethoden werden auch heute noch in der Histologie und Pathologie angewandt, beispielsweise um Blutzellen im Knochenmark zu identifizieren.

Einen weiteren großen Fortschritt brachte die Erfindung des *Phasenkontrastmikroskops*, mit dem auch ungefärbte Strukturen in lebenden Zellen kontrastreich sichtbar gemacht werden können. Die intrazellulären Organellen (bis auf den Kern) ließen sich erst mit dem Elektronenmikroskop (EM) mit hoher Auflösung beobachten. Die älteste und immer noch beliebte Methode ist die Dünnschichttechnik. Dabei werden die Zellen zunächst durch so genanntes *Fixieren* stabilisiert und durch Schwermetalle angefärbt. Die Fixierung erfolgt mittels Proteine vernetzenden Agenzien wie Glutaraldehyd. Danach wird die Probe entwässert und in eine Polymermatrix eingebettet. Nach dem Aushärten wird sie in ca. 0,1 μm dicke Scheiben zerlegt, sodass sie im Elektronenmikroskop (EM) im Durchlicht betrachtet werden kann. Abbildung 2.3 wurde mit einer solchen Technik aufgenommen. Eine vielversprechende Durchlicht-Technik ist die Hochspannungselektronenmikroskopie, mit der Zellen im feuchten Zustand "durchleuchtet" werden können.

Neue und aufregende Entwicklungen zur hochaufgelösten Untersuchung der Feinstruktur der Zellen sind das Röntgenmikroskop [1] und, vor allem, die Elektronentomografie [2]. Elektronenmikroskopische Methoden haben jedoch zwei gravierende Nachteile, wenn man physikalische Eigenschaften von Zellen untersuchen möchte. Man kann nur schichtartige Ausschnitte beobachten und man

muss die Zellen fixieren. Die Fixierung erfolgt heute meist durch rasches Einfrieren auf unter -150°C (ein *Kryofixierung* genannter Prozess) oder durch die oben beschriebene chemische Methode. Die physikalisch besonders interessanten dynamischen Prozesse, wie der intrazelluläre Transport, die Zell-Zell-Adhäsion oder die Wirkung mechanischer Kräfte, lassen sich mit der Methode natürlich überhaupt nicht direkt beobachten. Man kann jedoch spezifische Zustände der Zellen durch schnelles Einfrieren (z. B. Kryofixierung) fixieren und beobachten, wie im Fall der Abb. 37.8.

Um gleichzeitig die Feinstruktur lebender Zellen oder Transportprozesse zu beobachten, ist man daher immer noch auf die optische Mikroskopie angewiesen, die aber in Verbindung mit photophysikalischen Techniken, wie der Einzelmolekül-Fluoreszenzspektroskopie und schnellen rechnergestützten Methoden der dynamischen Bildverarbeitung völlig neue Möglichkeiten eröffnet hat.

Eine klassische Technik, einzelne Proteinfamilien oder intrazelluläre Organellen zu beobachten, ist die Fluoreszenzmikroskopie mit Antikörpern. Die Proteine werden mit monoklonalen Antikörpern markiert. Zur Beobachtung im Fluoreszenzmikroskop werden die Reporter-moleküle durch Zugabe von fluoreszierenden Antikörpern markiert. Man spricht daher von Anti-Antikörper-Färbetechnik. Die beiden Antikörper werden nacheinander in die Zellen injiziert. Vorher werden diese mit der oben beschriebenen chemischen Methode fixiert. Inzwischen gibt es auch eine Vielzahl von Fluoreszenzsonden, die spezifisch an Makromoleküle oder einzelne Kompartimente der Zelle binden und die man oft in lebende Zellen importieren kann. Seit der Entwicklung neuer Photonenverstärker (wie CCD-Kameras, die bis zu 10^6 Halbleiterdetektoren tragen und Photonen mit einer Effizienz von bis zu 90 % detektieren) kann man einzelne Zustände lebender Zellen (*in vivo*) mit einer Zeitauflösung von bis zu 1 msec beobachten. So lässt sich z. B. die elektrische Erregung einzelner Neuronen in Gehirnschnitten oder in Fliegenaugen beobachten. Einen großen technischen Fortschritt brachte auch hier die Laser-Rastermikroskopie (Abb. 37.8)

Eine völlig neue und äußerst informative Möglichkeit, Proteine in Zellen spezifisch zu markieren, brachte schließlich die Entdeckung des *Grün fluoreszierenden Proteins* (GFP), das von bestimmten Arten von Quallen synthetisiert wird. Es enthält ein Farbstoffmolekül, das grünes Licht (der Wellenlänge $\lambda \sim 509 \text{ nm}$) durch Fluoreszenz emittiert (siehe dazu Kapitel 31). Man kann nun mittels gentechnischer Methoden das GFP kodierende Gen mit den Genen anderer Proteine fusionieren und das so entstehende *Fusionsprotein* durch *Transfektion* (s. [3]) in andere Zellen einschleusen. Durch Mutation der GFPs lassen sich auch rot oder blau fluoreszierende Proteine herstellen. Eine ausführliche Darstellung der photophysikalischen Grundlagen der Fluoreszenzmethoden erfolgt im Kapitel 34 (Photophysik).

37.2

Die Abbesche Theorie der Mikroskopie

Die Biophysik ist nicht nur ein faszinierendes wissenschaftliches Abenteuer, sondern sie bietet den Studenten auch die Möglichkeit, eine Vielzahl von Messmethoden zu erlernen und damit Erfahrungen zu sammeln, die sie in der späteren Praxis gut gebrauchen können. Eine zentrale Messtechnik ist die Mikro-Optik in Kombination mit rechnergestützter Bildverarbeitung, die auch in der industriellen Praxis zunehmend an Bedeutung gewinnt. Aus diesem Grund beschreiben wir hier die Abbesche¹⁾ Theorie der mikroskopischen Abbildung etwas ausführlicher. Dieses Konzept bildet gleichzeitig die physikalischen Grundlagen der Röntgen- und Elektronenbeugung, auf die wir hier nicht eingehen können²⁾.

Die uns vertraute Beschreibung der Funktionsweise des Mikroskops durch Darstellung des Strahlengangs hilft oft nicht weiter, wenn man verstehen möchte, wie ein Bild überhaupt physikalisch entsteht oder wie die für die Biologie wichtigen Erweiterungen, wie die Phasenkontrastmikroskopie, funktionieren. Viel lehrreicher ist die Abbesche Theorie des Mikroskops. Insbesondere bildet diese auch die Grundlage der Röntgen- und Elektronenbeugung. Sie beruht auf der Idee, dass die Verteilung der Amplituden der Lichtwelle in den beiden Brennebenen einer Linse über eine Fourier-Transformation miteinander verknüpft sind. Platziert man also knapp vor der vorderen Brennebene der Linse ein Objekt, (z. B. einen Spalt oder ein Gitter) und beleuchtet dies mit parallelem Licht (Situation der Fraunhofer-Beugung), so erscheint in der rechten Brennebene ($z = f$ in Abb. 37.1) das Beugungsbild eines Spaltes (oder eines Gitters). Bei diesem Schritt der Abbildung bleibt also die Phaseninformation der vom Objekt ausgehenden Lichtwellen erhalten und die Amplitudenverteilung in der Brennebene enthält alle Bildinformation (d. h. die Verteilung der Amplituden und der Phasen des vom Objekt ausgehenden Lichts). Registriert man das Beugungsbild jedoch mit einem Detektor (wie in der Röntgen oder Elektronenbeugung), so geht die Phaseninformation verloren³⁾ und das reelle Bild muss mühsam rechnerisch rekonstruiert werden. Dazu muss die Information über die Phase durch Tricks, wie den isomorphen Ersatz durch Schweratome bei der Röntgenbeugung, bestimmt werden.

Betrachten wir nun die Abbe-Theorie anhand der Abbildung 37.2. Zur Vereinfachung nehmen wir an, das Objekt befinde sich kurz vor der vorderen Brennebene der Objektivlinse (L1) und werde mit monochromatischem und kohärentem Licht beleuchtet. Die vom Objekt ausgehenden Wellen werden durch die Objektivlinse in eine hinter der rechten Brennebene liegende Zwischenbildebene (am Ort $z = b$) abgebildet, in der ein vergrößertes Bild des Objektes entsteht. Wir können den Prozess in zwei Schritte zerlegen. Der erste Schritt der optischen

1) Ernst Karl Abbe (* 23. Januar 1840 in Eisenach; † 14. Januar 1905 in Jena) war ein deutscher Astronom, Physiker und Optiker.

2) Es wird nur die Idee skizziert und der Leser wird ermutigt, die Rechnung im Detail

nachzuvollziehen (was sehr lehrreich ist) oder z. B. in Büchern der Optik nachzulesen (was bequemer ist).

3) Das sogenannte „Phasenproblem“ der Optik.

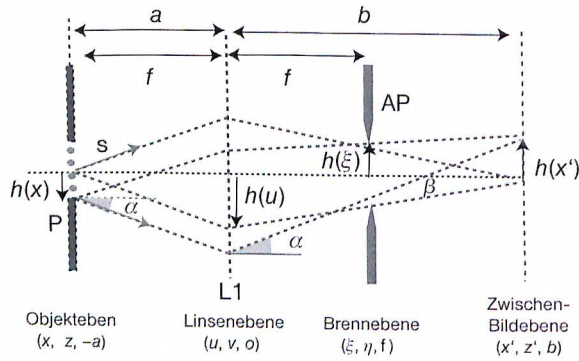


Abb. 37.1 Vereinfachte Darstellung der mikroskopischen Abbildung. Das Objekt (hier eine Blende AP), wird dicht vor der linken Brennebene des Objektivs (Position $z = -a$) lokalisiert. Die vom Objekt ausgehenden Wellen werden durch die Objektivlinse (L1) in die hinter der rechten Brennebene liegende

Zwischenbildebene abgebildet, die sich im Abstand $+b$ befindet. Das Objektiv entwirft ein Bild des Objekts in der Zwischenbildebene. Im Mikroskop wird das Zwischenbild mit dem Okular auf das Auge, eine Photoplatte oder eine CCD-Kamera abgebildet.

Abbildung besteht in einer Fourier-Transformation der Amplitudenverteilung des Lichts in der Objektebene. Da wir das Objekt mit parallelem Licht bestrahlen, ist die Amplitudenverteilung in der Brennebene gegeben durch:

$$E(\xi, \eta, f) = \text{konst} \int_{-\infty}^{+\infty} dx dy \sigma(x, y, -a) \exp \{i(k_x x + k_y y)\} \quad (37.1)$$

(analog zur Situation bei der Röntgenbeugung). Dabei ist nach dem Prinzip von Huygens $\sigma(x, y, -a)$ die Amplitudenverteilung der Elementarwellen, die von der Objektebene $(x, y, -a)$ ausgehen. Diese ist eindeutig durch die Störung des einfallenden Lichts aufgrund der inhomogenen Verteilung der Brechungsindizes oder der Absorption im Objekt bestimmt. Dabei kann es sich um selbstleuchtende oder beleuchtete Objekte handeln. In der optischen Mikroskopie ist $E(\xi, \eta, f)$ vorwiegend durch die Verteilung der Brechungsindizes im Objekt bestimmt, während bei der Röntgenbeugung $E(\xi, \eta, f)$ die Elektronenverteilung im Objekt reflektiert.

Der Wellenvektor des Lichts sei: $\mathbf{k} = 2\pi\mathbf{s}/\lambda = k\mathbf{s}$. Dabei können wir den Einheitsvektor \mathbf{s} durch die Ablenkungswinkel α, β ausdrücken gemäß: $\mathbf{s} = (\tan(\alpha), \tan(\beta))$. Da die Beugungswinkel α und β sehr klein sind, kann man den Tangens durch die Winkel ersetzen: $\tan \alpha \approx \sin \alpha \approx \alpha$. Aus Abbildung 37.1 ergibt sich folgende Beziehung zwischen den Punkten x und ξ auf den vertikalen Achsen der Objekt- und Brennebene:

$$\xi = a \tan \alpha - f \tan \beta = a(b - f) \tan \alpha / b = (1/\nu)(b - f) \tan \alpha \quad (37.2)$$

wobei ν die Vergrößerung der Linse ist. Diese Beziehung findet man durch Betrachtung der Punkte P_x, P_u, P_ξ für $h(x) = 0$ und mit der offensichtlichen geome-

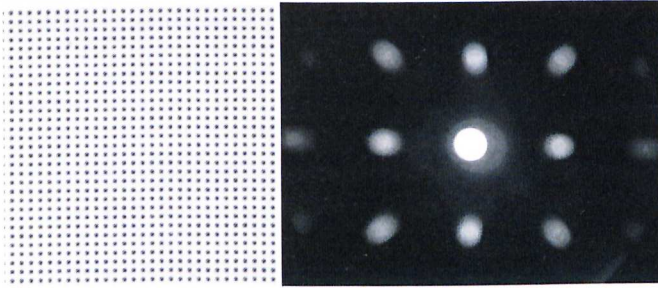


Abb. 37.2 Veranschaulichung der Abbeschen Theorie. Links ist das lichtmikroskopische Bild eines Gitters (Gitterkonstante $1,75 \mu\text{m}$) gezeigt und rechts die Helligkeitsverteilung in der hinteren Fokalebene des Objektivs. Die höheren Beugungsordnungen erscheinen etwas verwischt, da die Beleuchtung mit polychromatischem Licht ($\Delta\lambda \sim 50 \text{ nm}$) erfolgte.

trischen Bedingung $a \tan\alpha = b \tan\beta$. Benutzen wir nun noch die bekannten Linsengleichung unter Vernachlässigung der Linsendicke

$$\frac{1}{a} + \frac{1}{b} = \frac{1}{f}$$

so folgt durch Einsetzen in Gleichung (37.2):

$$\xi = f \tan \alpha \quad \text{oder} \quad s = (\xi/f, \eta/f).$$

Einsetzen in Gleichung (37.1) liefert schließlich:

$$E(\xi, \eta, f) = C \int_{-\infty}^{+\infty} dx dy \sigma(x, y, -a) \exp\left\{ \frac{2\pi i}{\lambda f} (x\xi + y\eta) \right\} \quad (37.3)$$

Dies ist das zentrale Ergebnis der ersten Fourier-Transformation, die die Amplitudenverteilung in der Brennebene bestimmt.

Wir wenden uns nun dem zweiten Schritt der Abbildung zu. Nach dem Abbeschen Theorem ist die Amplitudenverteilung in der Zwischenbildebene gleich der Fourier-Transformierten der Amplitudenverteilung $E(\xi, \eta, f)$ der Brennebene.

$$E(x', y', b) = \int_{-\infty}^{+\infty} d\xi d\eta E(\xi, \eta, f) \exp\left\{ \frac{2\pi i}{v \lambda f} (x'\xi + y'\eta) \right\} \quad (37.4)$$

Man kann das Abbesche Theorem mit einiger Mühe beweisen und zeigen, dass folgender Zusammenhang zwischen den Verteilungen der Amplituden in der Zwischenbildebene $E(x', y', b)$ und den Elementarwellen in der Objektebene besteht:

$$E(x', y', b) = CE\left(-\frac{x'}{v}, -\frac{y'}{v}, -a\right) \quad (37.5)$$

Diese Gleichung besagt, dass die Amplitudenverteilung in der Brennebene gleich der um den Faktor v vergrößerten und um 180 Grad gedrehten Verteilung der Elementarwellen in der Objektebene ist.

Man kann das Abbesche Theorem (37.4) durch folgendes Beugungsexperiment verifizieren: Man bringt in der Brennebene des Objektivs einen Schirm (auch Maske genannt) mit Löchern verschiedener Größe an, und zwar derart, dass die Amplitudenverteilung des durch den Schirm tretenden Lichts dieselbe ist wie die des Beugungsbildes $E(\xi, \eta, f)$. Das vom Schirm auf einer CCD-Kamera erzeugte Fraunhoferische Beugungsbild besitzt dieselbe Intensitätsverteilung wie das Bild in der Zwischenbildebene, d. h. es entsteht ein Bild des Objekts. Diese Technik (auch optischen Transformation genannt) spielte während der Entwicklung der Methoden der Röntgenbeugung von Proteinen (als es noch keine Computer gab) eine zentrale Rolle, insbesondere bei der Lösung des Phasenproblems.

Für theoretisch versierte Leser sind noch zwei einschränkende Bemerkungen angebracht.

Um Gleichung (37.5) abzuleiten, wird eine Deltafunktion verwendet, die eine unendliche Ausdehnung der Fokalebene annimmt. Da Objektive gebeugtes Licht jedoch nur aus einem endlichen Winkelbereich sammeln können, müssen wir noch eine Korrekturfunktion einführen, indem wir den Integrationsbereich in der hinteren Fokalebene einschränken. Auch die Lösung dieses Problems liefert die Abbe-Theorie. Wir müssen in dem Beugungsexperiment einen Teil der Lochscheibe mit einer Blende abdecken, die dem endlichen Durchmesser der Objektivlinse Rechnung trägt. (Dies kann man physikalisch auch verstehen, wenn man sich das Objekt aus lauter Punkten zusammengesetzt denkt. Das Licht, das von jedem dieser Punkte ausgeht, wird zwar von der Linse wieder gesammelt, aber auch gleichzeitig an ihrer Begrenzung gebeugt). Das Bild in der Zwischenbildebene ist dann durch das Produkt der Fourier-Transformationen der Amplitudenverteilungen der Lochscheibe und der Blende bestimmt. Dies folgt aus dem Faltungs-Theorem, das besagt, dass die Fourier-Transformation zweier gefalteter Funktionen gleich dem Produkt der Transformation der Einzelfunktionen ist.

Man nennt die Amplitudenverteilung der Blenden auch Punkt-Transformationsfunktion (oder *Punktspreizfunktion* bzw. englisch. *point spread funktion*). Sie gibt an, wie eine ideal punktförmige Lichtquelle durch das Objektiv auf der Zwischenbildebene abgebildet wird. Viele Physiker kennen den Begriff der Punktspreizfunktion auch aus anderen Bereichen der Informationsübertragung.

Ein weiterer, oft vernachlässigter Aspekt ist die Qualität der Beleuchtung des Objekts. Damit das Bild gleichmäßig hell und kontrastreich ist, muss das Objekt auch homogen beleuchtet werden. Darüber hinaus muss der Winkelbereich des einfallenden Lichts so eingeschränkt werden, dass es möglichst komplett vom Objektiv gesammelt werden kann. Licht, das unter zu großen Winkeln einfällt, führt zu störenden Reflexen und Streuungen innerhalb des Objektivs. Eine Beleuchtung des Objekts, die diesen Bedingungen genügt, wird vom so genannten *Kondensator* erzeugt. Bei fehlendem oder falsch justiertem Kondensator wird das mikroskopische Bild von einem defokussierten Bild der Lichtquelle überlagert und ist meistens für die weitere Auswertung wertlos.

37.3

Methoden der optischen Mikroskopie

In den letzten zehn Jahren erlebte die optische Mikroskopie eine erstaunliche Renaissance und hat sich zu einem wichtigen Werkzeug zur Messung physikalischer Eigenschaften der Zellen entwickelt. Dies beruht einerseits auf der Entwicklung neuer hochauflösender Methoden der Abbildung, wie der konfokalen Mikroskopie, der Mikrointerferometrie und der Mikrofluoreszenz. Den größten Fortschritt brachte aber die Bildanalyse durch schnelle computergestützte Bildverarbeitungsmethoden, mit denen sich dynamische Prozesse wie die Zellbewegung, intrazelluläre Transportprozesse oder die Zelladhäsion in Echtzeit verfol-

gen lassen. In den letzten Jahren wurden auch Methoden zur mikroskopischen Aufnahme von Infrarot- oder Raman-Spektren entwickelt. Wir beschreiben im Folgenden nur Methoden der optischen Mikroskopie.

37.3.1

Phasenkontrastmikroskopie

Die Phasenkontrastmikroskopie wurde vor fast 100 Jahre von dem Frits Zernike⁴⁾ erfunden, um durchsichtige Objekte ohne Anfärben mit Farbstoffen zu beobachten (Abb. 37.3). Die geniale Idee Zernikes bestand darin, durch Eingriff in die erste Fourier-Ebene des Abbildungssystems Phasenverschiebungen des durch das Objekt gestreuten Lichts in Amplitudendifferenzen umzuwandeln (Abb. 37.4b). Es ist lehrreich, sich diese Idee auf der Basis der Abbeschen Theorie genauer anzusehen.

Das Licht der Amplitude E_0 vom Kondensor wird im Objekt in eine direkt durchgehende und eine an lokalen Inhomogenitäten des Brechungsindex $n(x,y)$ gebeugte Welle aufgespalten. Da ein durchsichtiges Objekt nur die Phase des gebeugten Lichtes verschiebt, ist die komplexe Amplitude des elektrischen Feldes der Lichtwelle hinter dem Objekt von der Form:

$$E(x,y) = E_0 \exp\{i\Phi(x,y)\} \quad (37.6)$$

wobei (x,y) die Koordinaten der Objektebene bezeichnet. Für teilweise absorbierende Objekte wäre E_0 durch einen Amplitudenmodulationsfaktor $B(x,y)$ zu ersetzen. Die Phasenverschiebung eines homogenen Objekts der örtlich variierenden Dicke $d(x,y)$ wäre z. B. von der Form

$$\Phi(x,y) = 2\pi d(x,y) n(x,y)/\lambda$$

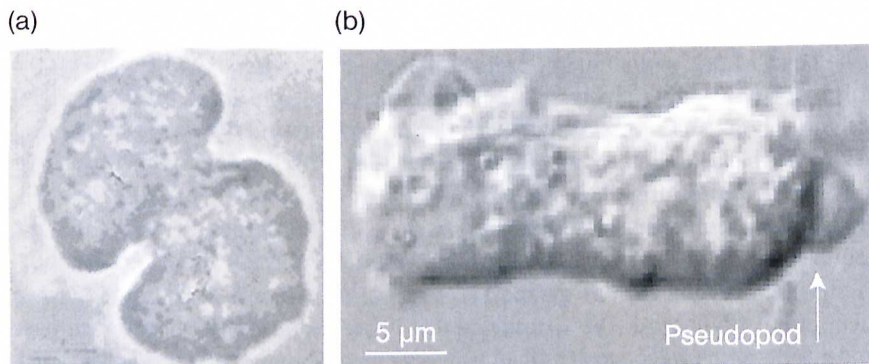


Abb. 37.3 Aufnahme einer Zelle des Schleimpilzes *Dictyostelium discoideum* mittels Phasenkontrastmikroskopie (Bild a) und Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskopie (DIK, Bild b). Die Zelle in (a) befindet sich in der Phase der Zytokinese.

4) Frits Zernike (* 16. Juli 1888 in Amsterdam; † 10. März 1966 in Naarden) war ein niederländischer Physiker und Nobelpreisträger.

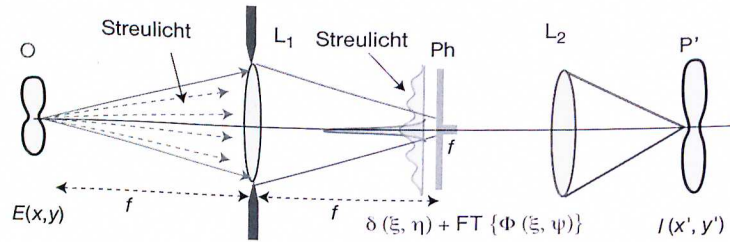


Abb. 37.4 Prinzip des Phasenkontrastmikroskops. Das Objekt (O) wird mit dem Kondensator beleuchtet. Die Amplitudenverteilung des Lichts in der vorderen Brennebene der Objektivlinse besteht aus einer Überlagerung der ungestörten durch das Objekt gehenden Lichtwelle und den an Inhomogenitäten des Objekts gestreuten Licht. In die

Brennebene der Objektivlinse wird eine Phasenplatte (Ph) gestellt, welche die Phase des direkten Lichts um $\pm\pi/2$ verschiebt. Im Zwischenbild wird daher durch Interferenz des direkten und des gestreuten Lichts die Phasenverschiebung in eine Amplitudenmodulation umgewandelt.

wobei n streng genommen der Unterschied im Brechungsindex zwischen dem Objekt und seiner homogenen Umgebung ist. In der Regel sind die Phasenverschiebungen sehr klein. Für Erythrozyten in Wasser ist (bei $\lambda \approx 600 \text{ nm}$) $\delta n \approx 7 \cdot 10^{-2}$, $d \approx 1 \text{ }\mu\text{m}$ und daher wird $\Phi(x,y) \sim 0,1$. Daher können wir in erster Näherung schreiben:

$$E(x,y) \approx E_0(1 + i\Phi(x,y) + \dots) \quad (37.7)$$

Die erste Fourier-Transformation liefert nach Gleichung (37.4) die Amplitudenverteilung in der Brennebene:

$$E(\xi, \eta) = \delta(k_x, k_y) + iFT\{\phi(x,y)\}$$

Die Delta-Funktion $\delta(\xi, \eta)$ steht für das ungestreute Primärlicht, das (vom Objektiv) auf die Brennebene fokussiert wird. Dies gilt für eine ideale Linse. Für eine reale Linse ist $\delta(\xi, \eta)$ die Punkt-Spreiz-Funktion (engl. point spread function). Sie entspricht der Amplitudenverteilung, die eine Linse von einer punktförmigen Lichtquelle erzeugt. Der zweite Term berücksichtigt die Phasenverschiebung des vom Objekt (elastisch) gebeugten Lichts. Der entscheidende Schritt besteht nun in der Einführung einer Phasenplatte Ph in der ersten Fourier-Ebene (d. h. etwa in der Brennebene des Objektivs), welche die Phase des Primärlichtes gegenüber der des gebeugten Lichts um $\pi/2$ verschiebt. Dazu dient ein Lambda-Viertel- ($\lambda/4$ -)Plättchen, das gerade so groß ist, dass es nur vom ungebeugten Licht durchstrahlt wird. Die Grundidee des Phasenkontrasts besteht darin, dass in der hinteren Fokalebene des Objektivs ungebeugtes und gebeugtes Licht räumlich getrennt werden (siehe z. B. das Beugungsbild des Gitters in Abb. 37.3) und somit getrennt manipuliert werden können (z. B. durch Phasenverschiebung oder Abdunkeln einer Komponente). Normalerweise wird das $\lambda/4$ -Plättchen auch noch geschwärzt, um den Kontrast zu erhöhen. Die Wirkung des $\lambda/4$ -Plättchens kann mathematisch beschrieben werden durch die Multiplikation der Fourier-Transformierten mit der Filterfunktion, und zwar mit $H(\xi, \eta) = i T$ im Bereich

des Primärlichts und $H(\xi, \eta) = 1$ außerhalb dieses Bereichs. T ist die Transmission der Phasenplatte, die zwischen $T = 0$ und $T = 1$ variiert werden kann. Die zweite Fourier-Transformation liefert dann wie im Fall der Gleichung 37.4 die Amplitudenverteilung in der Brennebene. Diese hat die Form

$$E(x', y') = i T + i \Phi(-x/v, -y/v)$$

Die Intensität des beobachteten Bildes ist daher für eine $\pi/2$ -Phasenplatte

$$I(x', y') = E E^* = T^2 + 2\Phi T + \Phi^2 \approx T^2(1 + 2\Phi/T + \dots) \quad (37.8)$$

Dies Ergebnis zeigt: Ohne Phasenplatte wäre $I(x', y') \approx E_0^2 (1 + \Phi^2)$ und der Kontrast $C = (I - I_0)/I_0 \approx \Phi^2$, während er mit derselben $C \approx 2\Phi/T$ wird.

Mit dem Auge lässt sich ein Kontrast von $C \sim 0,1$ noch gut beobachten, was einem Wert von $\Phi \sim 0,3$ entspricht. Bei $\lambda = 600$ nm und $\Delta n = 1$ kann man daher mit normalen Mikroskopen Schichten mit Dickenunterschieden von $d \approx 30$ nm (da $d \sim \Phi \lambda / 2\pi$) beobachten. Der Kontrast mit einer Phasenplatte wird $C \approx 2\Phi/T$. Für einen typischen praktischen Wert von $T = 10^{-1}$ können noch Phasenunterschiede von $\Phi = 5 \cdot 10^{-3}$ erkannt werden. Für Objekte an Luft ($\Delta n \sim 1$) entspricht dies einem Dickenunterschied von $\sim 0,1$ nm. Für Zellen (z. B. Erythrozyten) in Wasser ist $\Delta n \sim 0,07$ und es lassen sich noch Dickenänderungen von $\Delta d \sim 2$ nm nachweisen. Mittels Phasenkontrastmikroskopie kann man daher sehr kleine Fluktuationen der Dicke der Erythrozyten (das sogenannte Membranflackern) beobachten (s. Kapitel 11).

In der Praxis führt Beleuchtung mit parallelem Licht dazu, dass jedes Staubkorn innerhalb des Strahlengangs zu im Bild sichtbaren Beugungsringen (Fresnel-Ringe genannt) führt. Daher erfolgt in modernen Mikroskopen die Beleuchtung mit einer ringförmigen Helligkeitsverteilung. Das $\lambda/4$ -Plättchen ist daher in der Praxis ringförmig und wird als *Phasenring* bezeichnet. Ein störender Effekt in der Phasenkontrastmikroskopie ist der so genannte Halo, ein heller

Lichthof um kontrastreiche Strukturen. Der Halo wird durch Licht erzeugt, das am Phasenring vorbei gelangt und somit nicht in seiner Phase gedreht wird. Ursache ist der Gradient des Brechungsindex, der wie ein Prisma das Licht ablenkt. Man kann diesen Effekt jedoch ausnutzen, um die Position der Ränder von Zellen (wie Erythrozyten) mit einer Genauigkeit von einigen Nanometern zu bestimmen.

37.3.2

Die Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskopie (DIK)

Die Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskopie (DIC) nach Nomarski nutzt ebenfalls die Phasenverschiebung des Lichtes durch das Objekt aus. Der Kontrast des Bildes entsteht hier jedoch durch Interferenz zweier durch benachbarte Stellen des Objekts gehender Lichtstrahlen. Das Bild ist daher durch die Differenz der optischen Weglängen bestimmt. Abbildung 37.5 zeigt das Prinzip des DIK-Transmissionsmikroskops. Das einfallende, linear polarisierte Licht wird durch das Wollaston-Prisma⁵⁾ W1 in zwei senkrecht zueinander polarisierte Strahlen

aufgespalten, die um ca. $0,2 \mu\text{m}$ seitlich gegeneinander versetzt sind. Sie werden durch eine nachgeschaltete Kondensor-Linse auf das Objekt fokussiert. Hinter dem Objekt werden die Strahlen durch das zweite Wollaston-Prisma W2 wieder vereinigt. Sie passieren dann einen Analysator, der die originale Polarisationsrichtung wieder herstellt und werden auf den Detektor fokussiert. Da die Strahlen nach dem Durchtritt durch W2 und den Analysator wieder parallel polarisiert sind, können sie interferieren.

Um herauszufinden, welche Information über das Objekt uns das Bild liefert, nehmen wir der Einfachheit halber an, dieses bestehe aus einem Plättchen mit variabler optischer Pfadlänge O in der x -Richtung: $O(x, \gamma_0) = n d(x, \gamma_0) / \lambda$. Die Amplituden der beiden durch verschiedene Stelle des Objekts gehenden Strahlen hinter dem Objekt seien:

$$E_1 = E_0 \exp\{2\pi i O(x, \gamma_0) / \lambda\} \quad \text{bzw.} \quad E_2 = E_0 \exp\{2\pi i O(x + dx, \gamma_0) / \lambda\} \quad (37.9)$$

Dabei ist δx der Abstand zwischen den beiden Lichtstrahlen. Nehmen wir weiter an, die Phasenverschiebungen seien klein, so wird:

$$O(x + \delta x, \gamma_0) \approx O(x, \gamma_0) \{1 + (dO(x, \gamma_0) / dx) \delta x\}$$

Der entscheidende Schritt ist nun, die Phasen der beiden Wellen E_1, E_2 um $\delta\Phi_0$ gegeneinander zu verschieben. Dies erfolgt einfach durch Verschiebung des Prismas W1 senkrecht zur optischen Achse. Man kann mit einiger Mühe zeigen, dass der Bildkontrast dann von der Form

$$C = \sin^2 \left\{ \frac{\pi}{\lambda} (\delta\Phi_0 \pm \delta x \frac{dO}{dx}) \right\} \quad (37.10)$$

wird. Eine gute Darstellung der etwas langen Ableitung findet man in der Monografie von M. Pluta [4].

Aus Gleichung (3.10) folgen zwei wichtige Schlüsse:

- Wegen des Wechsel des Vorzeichens in Gleichung (37.10) wird der Kontrast an der linken Flanke der Erhebung in Abbildung 37.6. heller und an der rechten

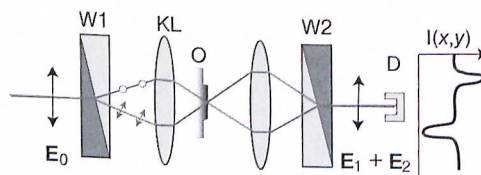


Abb. 37.5 Strahlengang des DIK-Mikroskops nach Nomarsky, mit Wollaston-Prismen W, Kondensorlinse KL und Detektor D. Man beachte, dass die beiden senkrecht zueinander polarisierten Strahlen das Objekt an seitlich um etwa $0,2 \mu\text{m}$ versetzten Stellen

durchlaufen und das Signal am Detektor D daher durch die Differenz der optischen Weglängen bestimmt ist. Das Wollaston-Prisma mit der nachgeschalteten Linse nennt man auch Wollaston-Nomarsky-Prisma.

5) Benannt nach William Hyde Wollaston (* 6. August 1766 in East Dereham; † 22. Dezember 1828 in London), einem englischen Arzt, Physiker und Chemiker.

dunkler. Die beobachtete Aufnahme (z. B. einer Zelle) liefert daher kein echtes Bild des Objekts, wie das Phasenkontrastmikroskop. Dafür wird der Kontrast überhöht, was die Beobachtung kleiner Objekte wie intrazellulärer Kompartimente ermöglicht.

- Durch Anwendung der Gleichung (37.10) kann der Absolutwert des Gradienten dO/dx der optischen Pfadlänge direkt gemessen werden.

37.3.3

Die Reflektions-Interferenz-Kontrastmikroskopie (RIKM)

Diese mikrointerferometrische Technik wurde vor rund 40 Jahren entwickelt. Sie ermöglicht sehr genaue Rekonstruktionen der Oberflächentopologie adhären-der Zellen in der Nähe der Oberfläche oder von dünnen Flüssigkeitsfilmen auf Oberflächen mit ca. 1 nm Höhen- und 0,3 μm lateraler Auflösung (Abb. 37.6b).

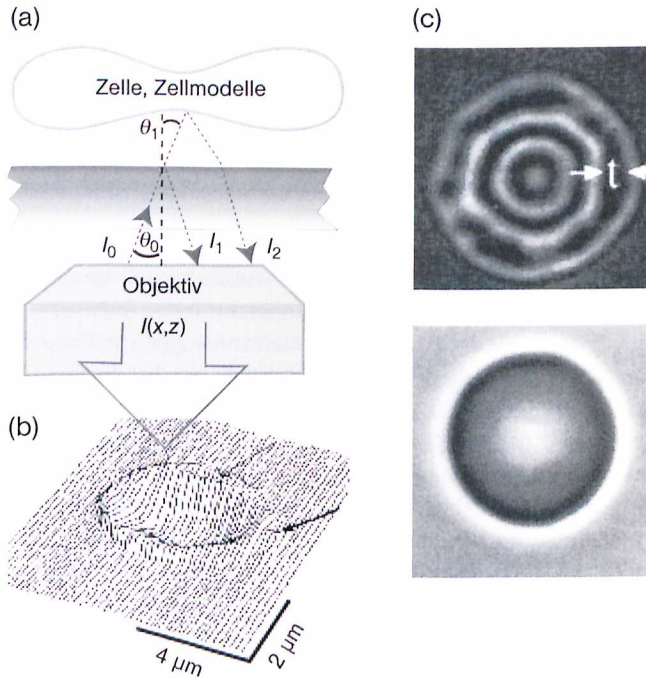


Abb. 37.6 Reflexions-Interferenz-Kontrastmikroskopie (RIKM). (a) Entstehung des Interferogramms eines über der Unterlage schwebenden Erythrozyten durch Interferenz der von den Oberflächen des Substrats und der Zelle reflektierten Lichtstrahlen. (b) Rekonstruktion des Oberflächenprofils des Erythrozyten (vom Substrat her betrachtet). (c) RIKM-Bild eines Erythrozyten im Vergleich

mit einer mittels Phasenkontrast aufgenommenen Zelle. Man beachte den hellen Rand der Zelle im unteren Bild, der in Abschnitt 37.2 erklärt wurde. Da er sehr scharf ist, kann man die Position des Randes der Zelle sehr genau bestimmen, um subtile laterale Bewegungen oder Schwingungen der Zelle (wie das Membranflackern in Kapitel 11) quantitativ zu analysieren.

Das Bild entsteht durch Interferenz des an der Oberfläche des Objekts und des Substrats reflektierten Lichts. Wegen der geringen Reflektivität der Zelloberflächen benötigt man dazu spezielle „Antiflex“-Objektive, mit denen an inneren Oberflächen des Mikroskops gestreutes Licht unterdrückt wird (s. [5]).

Das im Detektor beobachtete Bild ist ein Interferogramm des Oberflächenreliefs des Objekts. Die Intensitätsverteilung des Bildes $I(x', y')$ als Funktion des Abstandes $h(x, y)$ zwischen Zelle und Oberfläche ist durch Überlagerung der beiden reflektierten Teilwellen E_1 und E_2 bestimmt. Für den Fall, dass die Zelloberfläche nahezu parallel zur Oberfläche des Substrats ist, liefert eine längere Rechnung:

$$I(x, y) = |E_1 + E_2|^2 = E_1^2 + E_2^2 + 2\sqrt{E_1 E_2} \cos \{2k h(x, y) + \delta\} \quad (37.11)$$

wobei δ der Phasensprung an der Substratoberfläche ist ($\delta = \pi$) [6]. Aus der Intensitätsverteilung $I(x, y)$ in der Bildebene kann man das Oberflächenprofil durch inverse Kosinustransformation rekonstruieren. Abbildung 37.6b zeigt als Beispiel die Rekonstruktion der Oberfläche eines adhärenenden Erythrozyten. Um Absolutwerte der Höhe $h(x, y)$ zu bestimmen, müsste man allerdings die Absolutwerte der Intensitäten E_1^2 und E_2^2 bestimmen und beachten, dass die inverse Transformation durch die Periodizität der arccos-Funktion nicht eindeutig ist. Das Problem lässt sich allerdings durch parallele Aufnahme des Interferogramms mit zwei oder mehr Wellenlängen lösen.

37.3.4

Das konfokale Raster-Mikroskop

Obwohl das Konzept des konfokalen Raster-Mikroskops konzeptionell besonders einfach und schon lange bekannt ist, wurde sein Einsatz erst mit der Entwicklung schneller Bildverarbeitungsmethoden und schneller elektronischer Instrumente zur Ablenkung und Detektion von Licht möglich. Alle bisher beschriebenen Methoden der optischen Mikroskopie haben einen entscheidenden Nachteil für die Untersuchung von Zellen oder gar von Gewebe. Da diese Proben typischerweise einige Mikrometer dick sind und sehr stark Licht streuen, ist das Bild eine Überlagerung aus dem scharfen Bild der Fokalebene und allen unscharfen Bildern aus den Halbebenen auf beiden Seiten des Fokus (Abb. 37.7). Das diffuse, nicht fokussierte Licht aus anderen Ebenen reduziert den Kontrast und damit die Sichtbarkeit von zellulären Strukturen extrem stark.

Dieses Problem umgeht das konfokale Mikroskop auf folgende Weise. Man fokussiert die punktförmige Lichtquelle (in der Regel ein Laser) mit dem Objektiv auf einen Punkt innerhalb des dicken Objekts und bildet den Brennfleck auf eine kleine Lochblende in der Bildebene ab. Durch diese tritt aber fast nur das aus dem Brennpunkt kommende Licht hindurch, da die Lichtstrahlen aus anderen Ebenen vorwiegend auf den Bereich außerhalb der Lochblende fallen. Das Bild wird nun punktweise abgetastet, indem man den Laserstrahl Zeile für Zeile über das Objekt laufen lässt. Dazu gibt es verschiedene Verfahren. Man kann den Laserstrahl mit piezoelektrisch getriebenen Spiegeln auslenken (wie es bei klassischen Mikroskopen der Fall ist), oder man lässt den Strahl fest und ver-

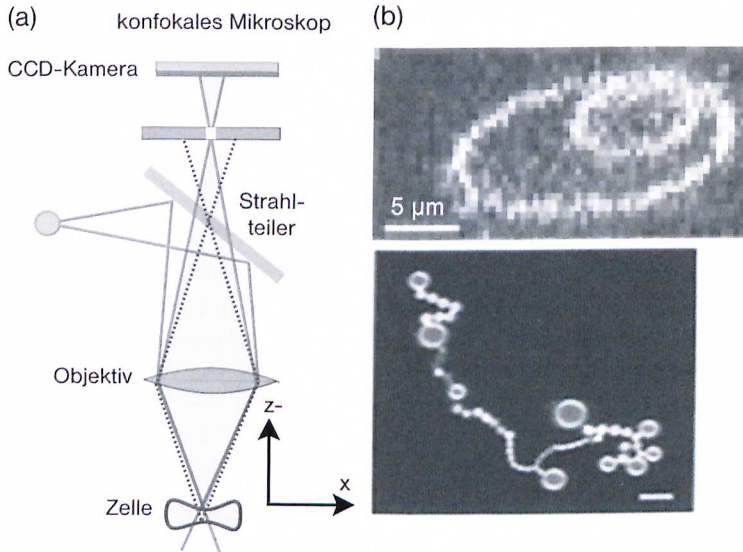


Abb. 37.7 (a) Strahlengang im konfokalen Mikroskop. (b) Oben: Rekonstruktion eines auf der Glasoberfläche adhären- den Vesikels, dessen Membran mit fluoreszierenden Lipiden dotiert wurde. Gezeigt wird ein Schnitt durch die x-z-Ebene. Das Bild entstand durch

Aufnahme entlang horizontaler Schnitte im Abstand von $0,4 \mu\text{m}$ und anschließende Überlagerung der Bilder. Unten: Bild eines osmotisch geschwollenen Lipidvesikels. Die Skala ist in beiden Fällen $5 \mu\text{m}$.

schiebt die Probe. Durch Verschieben des Fokus in vertikaler Richtung kann man dreidimensionale Darstellungen der Objekte erzeugen, wie das Beispiel der Abbildung 37.7b zeigt.

Der Durchbruch der fokalen Mikroskopie kam mit der stürmischen Entwicklung der Anwendung von Fluoreszenzsonden in der Zellbiologie. Vor allem seit der Entdeckung der in Kapitel 31 erwähnten GFP-Sonden wurde die Methode zu einem unentbehrlichen Werkzeug der Zellbiologie. Hier ist der Vorteil besonders eklatant. Da man nur in einem kleinen, zylinderförmiges Volumen von etwa $0,5 \times 0,5 \times 1 \mu\text{m}^3$ ausleuchtet und nur Fluoreszenzlicht aus diesem auf den Detektor trifft.

Ein anderer Weg zur Reduktion des Streulichts ist die Zwei-Quanten-Anregung der Fluoreszenz. Da die Fluoreszenzintensität vom Quadrat der Anregungsintensität abhängt, wird außerdem eine weitere Reduktion des Anregungsvolumens erreicht (s. [7]).

37.3.5

Nano-Fluoreszenzmikroskopie

Die Entwicklung GFP-markierter Proteine und der hochempfindlichen CCD Kameras (für die es 2009 den Nobelpreis gab) ebneten den Weg zur Beobachtung einzelner fluoreszierender Moleküle in spezifischen Organellen lebender

Zellen mittels konfokaler und Weitwinkel-Fluoreszenzmikroskopie. Stimuliert durch diese Entdeckungen wurde in den letzten 10-20 Jahren eine Reihe von Methoden entwickelt mit der das Problem der notorisch schlechten Auflösung der Fluoreszenzmikroskope überwunden wurde. Man kann heute die laterale Position der Sonden in fixierten Zellen mit einer Genauigkeit von einigen 10 nm feststellen kann. Fixiert man die Sonden auf Oberflächen so erreicht man Auflösungen von 2 nm (s. Aufgabe 19.5) und man spricht daher von Nano-Fluoreszenzmikroskopie [7].

Alle Methoden basieren auf der Annahme, dass die Sonden punktförmige Lichtquellen darstellen, und dass man deren Punkt-Spreiz-Funktion (point spread function PSF, s. Glossar) kennt. Wir hatten schon bei der Diskussion der Anwendung der Ultramikroskopie zur Beobachtung der Dynamik von Aktinfilamenten in Kapitel 25 (Abb. 25.1) gesehen, dass man die Position bewegter kolloidaler Goldpartikel mit 5-10 nm lateraler Auflösung beobachten kann, indem man von der Tatsache Gebrauch macht, dass die PSF eine Airyfunktion ist (s. Aufgabe 25.2). Die Auflösung ist dann durch das Rauschen der Kamera und die Genauigkeit bestimmt, mit der man die Intensitätsverteilung des Bildes numerisch an die Messkurve anpassen kann. Die Situation zur Lokalisierung der Fluoreszenzsonden ist etwas komplexer, da man es mit quantenmechanischen Fluktuationen zu tun hat, wie wir nun zeigen werden.

In der Grundvorlesung lernen wir, dass die Auflösung des Mikroskops durch das Abbe-Rayleigh Kriterium bestimmt ist. Dieses besagt, dass zwei punktförmige Lichtquellen getrennt beobachtet werden können wenn ihr Abstand d_m mindestens

$$d_m \geq \frac{0,42 \lambda}{n \sin \alpha}$$

beträgt, wobei $n \sin \alpha$ die numerischen Apertur und α der halbe Öffnungswinkel des Objektivs ist (s. auch Aufgabe 37.1). Der Grund für die begrenzte Auflösung ist die endliche Halbwertsbreite σ der Punkt-Spreiz-Funktion (d.h. der Airy-Funktion) die umgekehrt proportional zur numerischen Apertur ist. Wie Physiker wissen, entspricht dies der Heisenberg-Unschärferelation zwischen Ort und Impuls des Lichts. Wir können daher das Ergebnis auch wie folgt interpretieren: Die Wahrscheinlichkeit, dass ein von der Quelle ausgesandtes Photon am Ort x den Detektor (z.B. die CCD-Kamera) trifft ist durch die Intensitätsverteilung der Airy-funktion bestimmt. Die Richtung der vom Molekül ausgesandten Photonen fluktuiert also stark.

Um die Auflösung der Fluoreszenzmikroskopie zu verbessern geht man wie bei anderen spektroskopischen Methoden (z.B. der NMR) vor. Man verbessert das Signal-zu-Rausch-Verhältnis durch zeitliche Mittelung über viele Messungen desselben Spektrums. Wie wir aus der Fehlerrechnung wissen wird die Halbwertsbreite der Winkelverteilung der Photonen mit der Wurzel aus der Zahl der registrierten Photonen reduziert. Der minimale beobachtbare Abstand der Sonden wird daher um den Faktor \sqrt{N} reduziert. Um die Position einzelner Fluo-

resonanzsonden in fixierten Zellen auf 10 nm genau zu bestimmen muss man mindestens 10^5 emittierter Photonen einer Sonde registrieren [8].

In der Praxis besteht das zentrale Problem in der Selektion spezifischer Sonden in einer Zelle. Dazu wurden eine Reihe von Methoden entwickelt, von denen wir zwei erwähnen.

- Die STED-Technik (Synonym für stimulated emission depletion) ist eine Rastermethode. Sie basiert auf der Idee einzelne Chromophore in einer Population dadurch auszuwählen, dass man alle Moleküle in unmittelbarer Umgebung an der Emission hindert. Dazu regt man die Moleküle durch zwei fokussierte Laserstrahlen an, wobei einer eine gaussförmige und der andere eine torusförmige Intensitätsverteilung aufweist, wobei erster im Zentrum des Torus positioniert ist. Während der zentrale Strahl die Moleküle anregt unterdrückt der torusförmig die Emission in der Umgebung durch induzierte Emission. Das Bild entsteht durch Rastern. Ein weiteres Problem besteht in der Suche nach geeigneten Chromophoren, da Moleküle in der Regel sehr schnell ausbleichen [7].
- In der zweiten Gruppe von Methoden benutzt man normale Weitwinkel-Mikroskope und selektiert die Sonden durch Anwendung photoschaltbarer Chromophore. Das sind Farbstoffe die im Anregungszustand durch eine schnelle chemische Reaktion in einen neuen Zustand übergehen, der bei einer niedrigeren Wellenlänge emittiert. Natürliche Sonden für solche Zwecke sind GFP Proteine, die nach Kapitel 31 durch Anregung bei $\lambda = 400$ nm von einem schwach emittierenden Zustand I in einen stark fluoreszierenden Zustand II (Anregung bei 476 nm, Emission bei 503) übergehen, der für längere Zeit stabil ist. Wir beschränken uns hier auf die Beschreibung der PALM-Methoden, wobei PALM für "photo activated localization microscopy" steht [9]. Dabei müssen allerdings Schnitte fixierter Zellen eingesetzt werden. Die Anregung und die Beobachtung der Fluoreszenz erfolgt unter Totalreflexion (TIRF-Methode). Man bestrahlt die Dünnschnitte mit einem Laserpuls der einen kleinen Teil (getrennt beobachtbarer) Chromophoren in den Zustand II überführt. Die Fluoreszenz dieser Sonden wird unter Anregung bei der niedrigeren Wellenlänge beobachtet. Man summiert über die emittierten Impulse bis die Sonde ausbleicht. Man wiederholt dann den Vorgang indem man eine andere Gruppe von Sonden in derselben oder einer benachbarten Bildebene anregt und erhält so ein dreidimensionales Bild der Verteilung der Sonden im Objekt.

37.4

Untersuchung intrazellulärer biochemischer Prozesse durch die Auto-Radiografie

Eine elegante Methode zur Lokalisierung molekularer Komponenten in Zellen, mit der gleichzeitig intrazelluläre biochemische Prozesse verfolgt werden können, ist die Mikro-Autoradiografie. Dabei werden radioaktiv markierte Ausgangsstoffe (z. B. Tritium-markierte Aminosäuren) in die Zelle injiziert oder der Nährlösung zugegeben. Zur Beobachtung fixiert man die Zellen auf einem Substrat,

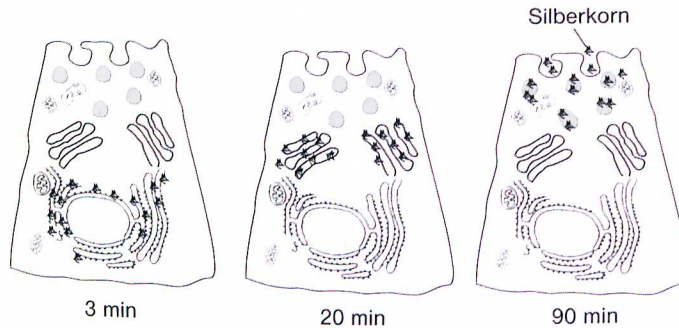


Abb. 37.8 Beobachtung intrazellulärer Prozesse (hier der Synthese und des Exports von Insulin) mittels Autoradiografie (*pulse chase*-Experiment). Zeitlicher Verlauf der Verteilung der Silberkörner in der Zelle der Bauchspeicheldrüse nach Injektion von Tritium-markier-

ten Aminosäuren. Man erkennt, dass sich die markierten Aminosäuren nach ca. 20 min vorwiegend im Golgi-Apparat befinden und nach ca. 90 min in Export-Vesikeln lokalisiert sind, die ihren Inhalt in den extrazellulären Raum exportieren.

bettet sie in eine dünne Wachsschicht ein und überzieht diese mit einer photoempfindlichen Emulsion. Nach mehrtägiger Lagerung im Dunkeln entwickelt man die Filme und beobachtet die Verteilung der radioaktiven Isotope mit dem Elektronenmikroskop.

Um biochemische Prozesse zeitlich zu verfolgen, geht man folgendermaßen vor (s. Abb. 37.8): Man lässt die Zellen kurzfristig (für ca. 1 Minute) in einem Medium mit radioaktiv markierten Aminosäuren wachsen, bis diese aufgenommen werden. Man überführt sie im zweiten Schritt (nach Entfernung der radioaktiven Moleküle durch Waschen der Zellen) in normales Wachstumsmedium. Danach beobachtet man die Verteilung der Isotopen-markierten Proteine in der Zelle zu verschiedenen Zeiten nach dem letzten Schritt. Mit solchen, so genannten *pulse chase*-Experimenten, wurde erstmals nachgewiesen, dass Proteine im Endoplasmatischen Retikulum synthetisiert und dass lebenswichtige Proteine, wie Insulin, über den Golgi-Apparat und Vesikel von der Zelle (durch Exozytose) in rund 90 min exportiert werden.

37.5

Die Ultrazentrifuge: eine hydrodynamische Methode zur Isolation und Charakterisierung biologischer Makromoleküle

37.5.1

Zwei Methoden der analytischen Ultrazentrifugation

Man sollte sich immer vor Augen halten, dass der Siegeszug der modernen Zellbiologie auch auf der Entwicklung zahlreicher, äußerst trickreicher physikalischer und biochemischer Methoden zur Auftrennung der Zellbestandteile oder zur Isolation und Reinigung einzelner Makromoleküle aus Zellen beruht. Viele Proteine

lassen sich heute in großen Mengen mit gentechnischen Methoden herstellen, wodurch die hohe Kunst der gezielten Vollsynthese von Polypeptiden etwas in den Hintergrund getreten ist. Physiker (aber auch Biologen) unterschätzen daher auch oft, wie wichtig die Isolation hoch gereinigter biologischer Makromoleküle und die Charakterisierung ihres Verhaltens in Salzlösungen ist; beispielsweise um gute Einkristalle für die Röntgenbeugung herzustellen. Zentrale physikalische Trennungsmethoden sind die Zentrifugation, die Elektrophorese und die Gelchromatographie (s. Kapitel 6.8).

Im Folgenden wollen wir uns die Physik der Ultrazentrifugation (UZ) genauer ansehen und die Gelegenheit nutzen, die wesentlichen physikalischen Grundlagen der Hydrodynamik zu rekapitulieren, da dieses Gebiet der Physik auch für zahlreiche Lebensvorgänge (wie dem Blutfluss oder dem Schwimmen der Bakterien und Einzeller) eine zentrale Rolle spielt.

Die Erfindung der Ultrazentrifuge durch Svedberg⁶⁾ (um 1920) war ein wichtiger Meilenstein auf dem Weg zur modernen Biologie. Damit konnten zum ersten Mal synthetische und biologische Makromoleküle beobachtet und ihre Molekulargewichte direkt bestimmt werden. Seine Experimente überzeugten die wissenschaftliche Welt von der Existenz biologischer und synthetischer Makromoleküle, die vorher von vielen angezweifelt worden war (s. Kapitel 24). Am Beispiel der Zentrifugation lässt sich auch demonstrieren, wie man mit einer phänomenologischen Technik detaillierte Information über die molekulare Eigenschaften biologischer Makromoleküle gewinnen kann.

Um an die einzelnen Zellkompartimente zu gelangen, werden diese zunächst mechanisch zerstückelt und in einem Medium suspendiert, welches etwa dieselben osmotischen Eigenschaften wie das Zytoplasma hat. Im ersten Schritt wird die unten beschriebene Sedimentationsmethode angewendet. Durch Einstellen der Drehzahl (und damit der in Einheiten der Erdbeschleunigung g gemessenen Beschleunigung g^*) werden Gruppen intrazellulärer Organellen sukzessive abgetrennt. Zunächst werden die Zellkerne bei ca. $g^* = 500g$ am Boden des Zentrifugenröhrchens angesammelt und abgetrennt. Bei $15\,000g$ sedimentieren Mitochondrien und Lysosomen gemeinsam. Bei $100\,000g$ trennt man die Fraktion der Membranen ab. Schließlich kann man bei $300\,000g$ (ca. $75\,000$ Umdrehungen pro Minute) noch die Ribosomen aus dem Überstand herausholen. Durch Anwendung von einem Dichtegradienten in dem Zentrifugenröhrchen kann die Trennung der Zellbestandteile weiter verfeinert werden. So lassen sich Lysosomen und Mitochondrien sauber trennen, da erstere eine Dichte von $1,12\text{ g cm}^{-3}$ und letztere von $1,18\text{ g cm}^{-3}$ besitzen. Um Proteine, DNA und RNA in hochreiner Form herzustellen, benötigt man g^* -Werte von $300\,000$ bis $500\,000$. Man benutzt zu diesem Zweck daher häufig einfachere Methoden wie die Elektrophorese und Gel-Chromatografie.

Zur Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften der Moleküle dienen zwei komplementäre Methoden: erstens die oben erwähnte stationäre Zentrifuga-

6) The (Theodor) Svedberg (* 30. August 1884 in Valbo; † 26. Februar 1971 in Kopparberg) war ein schwedischer Chemiker und Nobelpreisträger.

tion durch Sedimentation oder Fokussierung der Moleküle im Dichtegradienten und zweitens die dynamische Technik, bei der die Permeation der Moleküle zeitlich verfolgt wird. Die moderne Entwicklung der analytischen Ultrazentrifugen (UZ), mit denen g^* -Werte von 1 000 000 g erreicht werden, ermöglicht Messungen des Molekulargewichtes (mit einer Genauigkeit von ca. 10%), der Dichte oder der Größe und Form biologischer Makromoleküle. Sie wird aber auch oft zur Untersuchung der Komplexbildung zwischen Proteinen oder zwischen Proteinen und Polynukleinsäuren (DNA, RNA) eingesetzt. Die UZ ist daher auch ein wichtiges Messinstrument der Biomaterialforschung geworden, das laufend technisch weiterentwickelt wird, um immer kleinere Moleküle zu untersuchen.

Seit der Entwicklung der Massenspektrometrie in Verbindung mit Laserdesorption, (*MALDI-Massenspektrometrie* genannt, wobei MALDI für *matrix assisted laser desorption/ionization* steht), lassen sich Molekulargewichte sehr genau bestimmen. Bei dieser Methode werden die Makromoleküle durch Laserstrahlen in geladene Bruchstücke zerlegt und direkt im Massenspektrometer untersucht. Dabei wird die Flugzeit gemessen, die durch die Wurzel aus dem Verhältnis der Masse m zur Ladungszahl z bestimmt ist. Durch Vergleich der mit MALDI-Massenspektrometrie und Zentrifugation gewonnenen Werte der Molekulargewichte kann der Grad der Wasseraufnahme oder das Verhältnis des hydrodynamischen zum Gyrationradius bestimmt werden.

37.5.2

Die Sedimentations- und Dichtegradientenmethode

Wir betrachten eine Suspension von Teilchen der Dichte ρ in einem Medium der Dichte ρ_0 . Es sei ω die Drehgeschwindigkeit der Zentrifuge und r der Abstand eines Teilchens der Masse m von der Drehachse (Abb. 37.9). Dann wirkt auf dieses Teilchen die Zentrifugalkraft $Z(r) = m r \omega^2$. Dieser entgegen wirkt die Auftriebskraft, die gleich dem Gewicht der verdrängten Flüssigkeitsmenge ist: $A = \rho_0 V r \omega^2$. Die resultierende Kraft ist bei Vernachlässigung von Reibung:

$$F_{\text{res}} = Z(r) - A(r) = m r \omega^2 \left(1 - \frac{\rho_0}{\rho} \right) = m^* r \omega^2 \quad (37.12)$$

wobei man m^* als effektive Masse des Teilchens bezeichnet.

Bei der Sedimentationsmethode zentrifugiert man bei kleinen Drehzahlen und bei konstanter Dichte der Lösung. Da die Diffusion der Sedimentation entgegenwirkt, wird sich eine Boltzmann-Verteilung der Dichte einstellen. Das Verhältnis der Teilchendichten n_1/n_2 in zwei verschiedenen Abständen r_1 und r_2 von der Rotationsachse ist daher:

$$n_1/n_2 = \exp \left\{ - \frac{\Delta E}{kT} \right\} = \exp \left\{ \frac{m^* \omega^2}{2k_B T} (r_2^2 - r_1^2) \right\} \quad (37.13)$$

Aus einer Messung von $n = n(r)$ erhält man m^* und bei bekannter Dichte ρ die Masse m für eine Molekülsorte. Die Methode ist aber extrem ungenau, da die

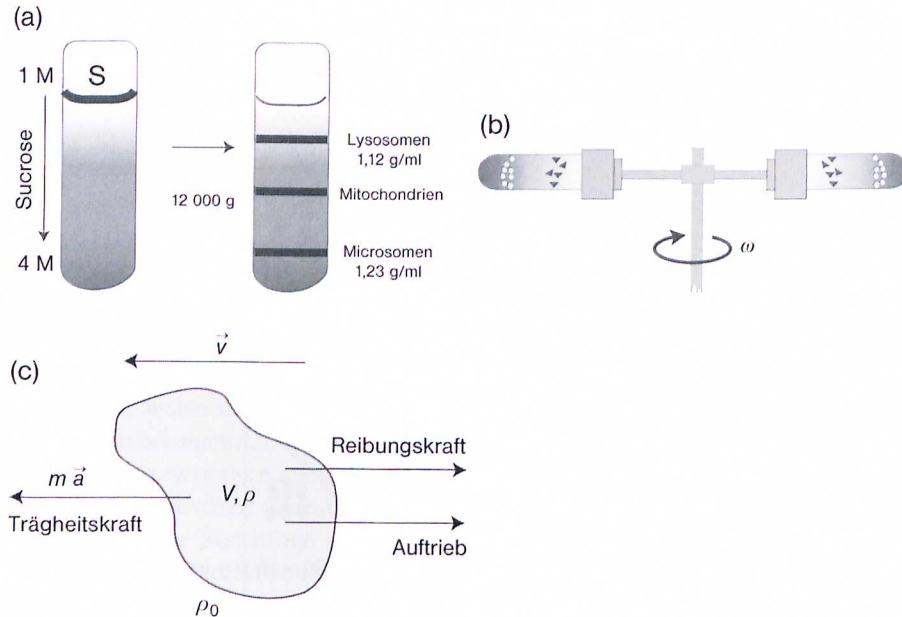


Abb. 37.9 Schema der Gradienten-Zentrifugation. a) Röhrchen mit Dichtegradienten und auf Oberfläche des Mediums geschichteter Substanz S. b) Fokussierung des Komponenten von S während der Zentrifugation. c) Zur Definition der Kräfte auf die Moleküle.

Dichteverteilungen sehr scharf sind (s. dazu Übungsaufgabe 37.9) und man setzt sie daher vorwiegend für die Anreicherung von Substanzen ein.

Um Proteine zu trennen oder um Molekulargewichte zu messen, wendet man daher die Methode des Dichtegradienten an (Abb. 37.9). Diese stellt man durch Zentrifugation einer Lösung mit einem schweren Salz (z. B. CsCl zur Trennung der DNA) oder durch Übereinanderschichten verschieden konzentrierter Zuckerlösungen (Abb. 37.9) her. Im stationären Gleichgewicht häufen sich die Makromoleküle am Ort gleicher Dichte ($\rho = \rho_0$ in Gl. 37.12) an. Die Verteilung der Moleküle ist jedoch nicht scharf, sondern weist aufgrund der der Fokussierung entgegenwirkenden Diffusion eine Gauß-Verteilung auf. Diese kann aber für analytische Zwecke ausgenutzt werden, wie wir unten sehen werden.

Eine eindrucksvolle und elegante Demonstration der Leistungsfähigkeit der Ultrazentrifugation war der direkte Beweis der semikonservativen Replikation der DNA bei der Verdoppelung der Chromosomen während der Zellteilung [10]. Dabei ging es um die Frage, ob die DNA-Doppelhelix der Chromosomen als Ganzes verdoppelt wird oder ob Kopien der einzelnen Stränge stückweise hergestellt werden. Dazu ließ man zunächst *Escherichia coli*-Bakterien in einem Medium mit ^{15}N -haltigem Ammoniumsalz als einziger Stickstoff-Quelle wachsen. Daher sind alle Nucleobasen der DNA ebenfalls ^{15}N -markiert. Nach Zentrifugation der DNA im Dichtegradienten fand man erwartungsgemäß eine einzelne Bande, die der ^{15}N -markierten DNA zuzuordnen war (Abb. 37.10a, nullte Gene-

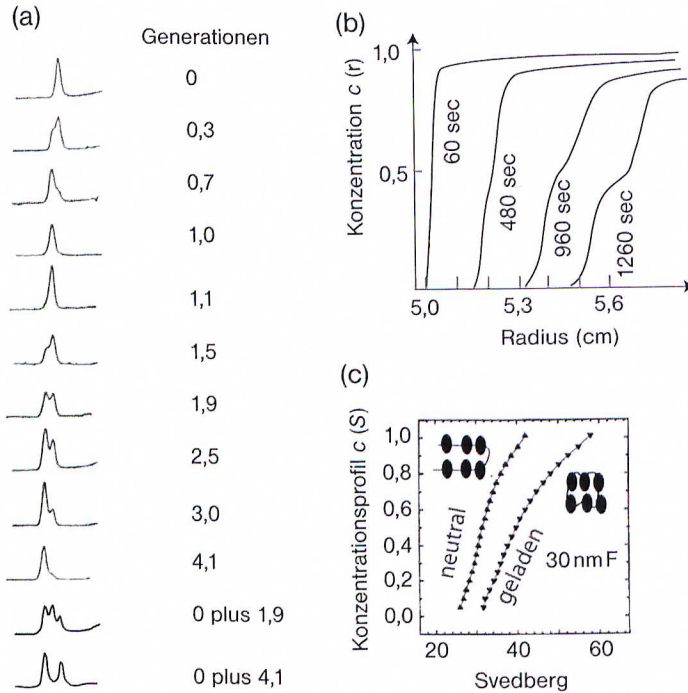


Abb. 37.10 (a) Zum Beweis der semikon-servativen Verdoppelung der DNA bei der Teilung der *Escherichia coli*-Bakterien. Die Aufnahmen zeigen von oben nach unten die Verteilung der Banden von der nullten bis zur 4,1-ten Generation. Man beobachtet nur drei getrennte Banden: die ^{15}N -angereicherte, die natürliche ^{14}N -DNA und eine 1:1-Mischung der beiden isoto-penmarkierten Komponenten. Die unteren beiden Bilder demonstrieren die hohe Trennleistung der Ultrazentrifuge. (b) Simulation des Sedimentationsprofils eines Mischung zweier Proteine mit $S_1 = 20\text{ S}$ (900 kDa) und $S_2 = 25\text{ S}$ (450 kDa). Aufgetragen ist das Profil der Konzentration zu verschiedenen Zeiten, die im Bild angegeben sind. Man beachte, dass die zunehmende Trennung der Komponenten mit einer Ver-breiterung der Profile einhergeht. (Nach [11].)

(c) Dynamisches Permeationsexperiment zur Untersuchung der Struktur der Nukleosomen. Aufgetragen ist das Profil der Konzentrationen $c(r,t)$ der Nukleosomen, aus dem man (durch Ableitung der Kurven) die Verteilung $g(S)$ der Svedberg-Konstanten bestimmen kann. Gezeigt wird das Verhalten eines gentechnisch hergestellten Komplexes aus 12 Nukleosomen in Gegenwart von 3 mM MgCl. Verglichen wird die Sedimentation eines Komplexes mit geladenen Histonen und eines Komplexes, bei dem die Ladungen durch Ankopplung von Acetylgruppen an die geladenen Aminosäuren neutralisiert wurden. Nur im ersten Fall induzieren mehrfach geladene Ionen eine Kondensation der Nukleosomen zu den in Kapitel 2 und 36 beschriebenen 30 nm-Fäden (30 nmF.). (Nach [12].)

ration). Im nächsten Schritt ließ man einen Teil der Bakterien in Medium vermehren, das nur ^{14}N -haltiges Ammoniumsalz enthielt und zentrifugierte daraufhin das Gemisch.

Das Ergebnis dieses klassischen Experiments zeigt Abbildung 37.10. Man beobachtet stets drei deutlich getrennte Banden: die ^{15}N -markierte DNA, die natürliche ^{14}N -DNA und eine 1:1-Mischung (der isoto-penmarkierten Komponenten

^{14}N und ^{15}N). Die Bande mit ^{14}N -DNA wächst mit jeder Generation, während die ^{15}N -markierte DNA rasch und die $^{14}\text{N},^{15}\text{N}$ -Mischung langsamer verschwinden. Daraus folgt: Die DNA verdoppelt sich mit jedem Teilungsschritt, aber es findet nur eine Spaltung der Doppelhelix entlang der Kette statt und jeder Halbstrang bleibt erhalten. Man spricht daher von semikonservativer Replikation.

37.5.3

Die dynamische Sedimentationsmethode

Bei dieser Technik deponiert man die ganze Lösung in der Messzelle und beobachtet die Bewegung der Makromoleküle im Gravitationsfeld als Funktion der Zeit. Dies kann durch UV-Absorption oder durch interferometrische Methoden geschehen, wobei man die Abhängigkeit des Brechungsindex von der Proteinkonzentration ausnutzt, wie wir weiter unten noch kurz sehen werden. Um nun zu verstehen, was man aus Messungen der Permeation lernen kann, sehen wir uns die theoretischen Grundlagen der dynamischen Methode genauer an. Nach Einschalten der Zentrifuge stellt sich extrem schnell ein stationäres Gleichgewicht ein. Die Moleküle bewegen sich mit konstanter Driftgeschwindigkeit \bar{v} , da die Reibungskraft $f_R = \zeta \bar{v}$ gleich der Beschleunigungskraft $m^* g_{\text{eff}}$ wird. Die Driftgeschwindigkeit $\bar{v} = m^* g_{\text{eff}} / \zeta$ wird traditionsgemäß in Einheiten des Sedimentationskoeffizienten S

$$S = \bar{v} / g_{\text{eff}} = m^* \zeta \quad (37.14)$$

ausgedrückt, der gleich dem Verhältnis der mittleren Geschwindigkeit zur Beschleunigung ist. Als Einheit von S definiert man: $[S] = 1 \text{ Svedberg} = 10^{-13} \text{ sec}$. Man charakterisiert nun die intrazellulären Kompartimente oder Makromoleküle empirisch durch ihren spezifischen Wert von S . Typische Werte für Proteine sind $S \sim 5$, für Ribosomen und Viren $S \sim 10^3$ und für Zellkerne $S \sim 10^7$ (s. dazu [8, 9]).

Man ist nun mit folgendem Problem konfrontiert: S hängt von drei unbekanntenen Größen (der Masse m , der Dichte ρ und dem Reibungskoeffizienten ζ) ab. Für sphärische Makromoleküle ist $\zeta = 6\pi\eta R_h$. Da die Form der Moleküle aber *a priori* unbekannt ist, ist R_h eine effektive Größe. Schließlich nehmen die Makromoleküle sehr viel Wasser auf (bis zu 30% der Trockenmasse), d. h. sowohl ρ als auch R_h sind Funktionen des Wassergehalts. Man nennt daher R_h den *hydrodynamischen Radius*. Man kann nun jedoch die Dichte der hydratisierten Moleküle und deren Massen durch Zentrifugation im Dichtegradienten bestimmen, und so fehlt uns noch der Wert von ζ (bzw. R_h). Diese Information liefert die Verbreiterung der Konzentrationsverteilung $c(r)$ aufgrund der bisher vernachlässigten Diffusion, wie folgende Betrachtung zeigt.

Dies wirft allerdings einige experimentelle Probleme auf, wie man aus der Betrachtung der Abbildung 37.10 lernt. Unter der Wirkung der Gravitation bewegt sich zunächst eine scharfe Konzentrationsfront $c(r)$ mit konstanter Driftgeschwindigkeit. Diese wird aber aufgrund der Konkurrenz zwischen Konvektion und Diffusion mit der Zeit verbreitert. Glücklicherweise kann sich bei kleinen Driftgeschwindigkeiten ein stationäres Gleichgewicht einstellen, bei dem der Konvektionsstrom

$j = c(x) \bar{v}$ durch den Diffusionsstrom $j = -D dc/dr$ kompensiert wird (zur Definition der Ströme s. Gleichung 37.7). Gleichsetzen der beiden Ströme und Integration der Differenzialgleichung für $c(r)$ liefert folgendes exponentielle Gesetz (für $r > r_0$):

$$c(r) = c_0 \exp \left[-\frac{\Delta E}{kT} \right] = c_0 \exp \left[-\frac{\frac{m^* \omega^2}{2} (r - r_0)^2}{D\zeta} \right] \quad (37.15)$$

Mit der in Abschnitt 37.7 abgeleiteten Einstein-Beziehung $D = k_B T / \zeta$ kann der Nenner in der Exponentialfunktion durch $k_B T$ ersetzt werden und man kann die effektive Masse m^* bestimmen, indem man $\ln c(x)$ gegen $(r - r_0)^2$ aufträgt. Hat man m^* , kann man nun mit Gleichung (37.15) den Reibungskoeffizienten ζ (oder D) und den hydrodynamischen Radius R_h in demselben Experiment bestimmen. Man kann die Methode auch anwenden, wenn man mehrere Proteine in der Lösung hat, denn $c(r)$ besteht dann nur aus einer Überlagerung mehrerer Terme.

Die Situation ist aber viel interessanter und komplexer, vor allem wenn man die Bildung von Komplexen oder Konformations-Umwandlungen von Proteinen untersuchen möchte. In diesen Fällen hat man es mit Verteilungen $g(S)$ der Sedimentationskoeffizienten zu tun. Man gewinnt Information über die Kinetik der Reaktionen, wenn man bei höheren Geschwindigkeiten, unter nicht stationären Bedingungen, arbeitet. Um die zeitliche Veränderung der Konzentrationsfront $c(r,t)$ für diese Situation zu berechnen, muss man das Zusammenspiel von Konvektionsstrom und Diffusion im Detail betrachten. Insbesondere muss man die Diffusion in Richtung parallel und senkrecht zur Schwerkraft berücksichtigen. Dies erfordert die Lösung einer komplizierten Differenzialgleichung. Diese folgt aus einer modifizierten Kontinuitätsgleichung für die raum-zeitliche Änderung der Konzentration der gelösten Moleküle

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \text{div } \mathbf{j} = 0 \quad (37.16a)$$

die besagt, dass die zeitliche Änderung der Konzentration am Ort r gleich der Divergenz eines allgemeinen Teilchenflusses $\mathbf{j} = \mathbf{j}_D + \mathbf{j}_K$ ist. Dabei besteht \mathbf{j} aus einem diffusen Anteil $\mathbf{j}_D = -D \text{grad } c(r, t)$ und einem konvektiven Anteil $\mathbf{j}_K = \bar{v} c(r, t)$. Ausserdem wird angenommen, dass die Driftgeschwindigkeit \bar{v} in Richtung der Gravitationskraft konstant ist. Da man es mit einem zylindersymmetrischen Problem zu tun hat, wird die zeitliche Veränderung der Konzentrationsfront durch folgende Differenzialgleichung bestimmt (oft *Lamm-Gleichung* genannt, [13])

$$\frac{\partial c(r,t)}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left\{ rD \frac{\partial c(r,t)}{\partial r} - s\omega^2 r^2 c(r,t) \right\} \quad (37.16b)$$

$s\omega^2 r$ ist die Driftgeschwindigkeit der gelösten Moleküle.

In der Praxis kümmert man sich auch nicht mehr um die Lösung dieser Transportgleichung, sondern benutzt die von den Herstellern der Zentrifugen bereitgestellten Computerprogramme, um die Verteilung $g(S)$ der S -Werte aus den Vertei-

Besonders interessant und modern sind Anwendungen der Ultrazentrifuge zur Untersuchung der Strukturänderungen von Nukleosomen beim Übergang vom Ruhezustand, in dem die Nukleonen kompakt gepackt sind, zum offenen und aktiven Zustand, den sie während der Genexpression einnehmen müssen [12]. Wie wir in Kapitel 36 sahen, wird der (schon in Abb. 2.4) gezeigte Übergang von der offenen Form zu den kompakten 30 nm-Fäden durch zweiwertige Ionen nur dann induziert, wenn die Histone positiv geladen sind. Neutralisiert man diese, so öffnet sich die kompakte Form auch in Gegenwart physiologischer Konzentrationen von Mg^{2+} und bildet 10 nm-Fäden. Nur in diesem Zustand kann die Genexpression stattfinden. In den Zellen erfolgt die Neutralisierung der Histone, indem über Enzyme an die positiven Aminosäuren Acetyl-

gruppen angedockt werden. Man vermutete, dass diese Neutralisierung ein zentraler Schritt auf dem Weg zur Transkription von Genen ist. Mehrere Experimente bestätigten diese These, und einige (wie das in Abb. 37.10c) beruhen auf der Anwendung der Ultrazentrifuge. Wir sehen, dass die Svedberg-Konstante (oder der hydrodynamische Radius) für geladene Histone viel größer ist als für ungeladene. Da die kompakte Form einen kleineren hydrodynamischen Radius hat, sedimentiert sie schneller. In anderen Worten, die Neutralisierung der Histone verhindert die Kondensation. Man kann nun die einzelnen Fraktionen isolieren, um herauszufinden, in welchem Zustand der Komplexe die DNA repliziert werden kann. Dabei zeigte sich, dass die Verdoppelung der DNA im Fall der offenen Form 15-mal schneller erfolgt als im Fall der geschlossenen.

lungen der Konzentration $c(r,t)$ zu bestimmen. Das Beispiel einer solchen Analyse in Abbildung 37.10b zeigt, wie das Konzentrationsprofil $c(r,t)$ mit der Zeit auffächert und die zwei Komponenten getrennt werden. Andere gut verständliche Beispiele findet man in dem Übersichtsartikel von Hensley [14].

37.5.4

Zur Beobachtung der Konzentrationsverteilung

Es gibt eine ganze Reihe optischer Methoden zur Beobachtung der Konzentrationsprofile $c(x,t)$ der gelösten Makromoleküle. Dazu zählen: die UV-Absorptionsspektroskopie, die Schlierentechnik und die Rayleigh-Interferenz. Bei letzterer Methode spaltet man Laserlicht (Wellenlänge λ) in zwei Strahlen auf, von denen einer die Lösung in der Zentrifuge und der andere eine Referenzlösung mit bekanntem Brechungsindex n durchläuft. Bringt man beide Strahlen auf dem Detektor zur Interferenz, so entsteht ein paralleles Streifenmuster. Bildet sich im Messröhrchen ein Konzentrationsprofil aus, so äußert sich diese in einer Verschiebung δz des Streifenmusters über den Bereich des Konzentrationsverlaufs $c(r,t)$. Da der Brechungsindex n mit guter Näherung eine lineare Funktion der Konzentration ist ($n = \langle n \rangle (1 + \partial n / \partial c)$) erhält man aus der Phasenverschiebung $\delta \Phi = 2\pi d n(r,t) / \lambda$ (wobei d die Schichtdicke der Messzellen ist) direkt die Konzentrationsverteilung. Um Absolutwerte der Konzentration zu bestimmen, muss man in einer Eichmessung den Brechungsindex der Lösung als Funktion der Konzentration bestimmen.

37.6

Grundbegriffe der Hydrodynamik

Die Hydrodynamik ist, wegen ihrer Bedeutung für die belebte Natur, nicht nur ein wichtiges Teilgebiet der Biologischen Physik, sondern bietet auch selbst eine reichhaltige und faszinierende Physik. Biologische Fragestellungen beflügelten oft die Entwicklung des Gebietes. Ein Beispiel ist die Entdeckung der Wirbelsätze durch Helmholtz, mit denen man erstmals erklären konnte, warum Vögel und Flugzeuge fliegen können (Abb. 37.11a und Aufgabe 37.6). Dieses schon in Kapitel 1 erwähnte Beispiel der Biologie-inspirierten Physik zeigt, wie wichtig die Hydrodynamik in der Biologie ist. Nicht nur Vögel und Fische, sondern auch viele andere Lebewesen (wie Bakterien, Muscheln oder Samen der Pflanzen) nutzen die Gesetze der Hydrodynamik trickreich im Überlebenskampf (s. Kapitel 21 und 22). Hydrodynamische Skalengesetze leiteten die Natur während der Evolution höherer Lebensformen, wie wir noch mehrmals sehen werden. Im Folgenden wollen wir einige Begriffe und Gesetze der *Hydrodynamik* einführen, die wir im Laufe des Textes noch ergänzen werden. Der interessierte Leser sollte das Verständnis durch das Studium der einschlägigen Lehrbücher vertiefen.

Die Grundgleichung der Hydrodynamik inkompressibler und homogener Flüssigkeiten der Dichte ρ ist die Navier-Stokes⁷⁾-Gleichung: Wir benutzen dabei die folgenden Definitionen der Differentialoperatoren.

$$\operatorname{div} \mathbf{V} = \frac{\partial V_x}{\partial x} + \frac{\partial V_y}{\partial y} + \frac{\partial V_z}{\partial z}; \quad \operatorname{grad} c = \frac{\partial c}{\partial x} \mathbf{i} + \frac{\partial c}{\partial y} \mathbf{j} + \frac{\partial c}{\partial z} \mathbf{k}; \quad \Delta \mathbf{V} = \Delta V_x \mathbf{i} + \Delta V_y \mathbf{j} + \Delta V_z \mathbf{k} \quad (37.17)$$

wobei \mathbf{i} , \mathbf{j} , \mathbf{k} die Einheitsvektoren in die drei Richtungen des Koordinatensystems sind.

$$\rho \left\{ \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \nabla) \mathbf{v} \right\} = \eta \Delta \mathbf{v} - \nabla p \quad (37.18)$$

Dabei ist η die dynamische Zähigkeit (der Dimension N sec m^{-2})⁸⁾.

Für reibungsfreie Flüssigkeiten ($\eta = 0$) geht Gleichung (37.17) in die bekanntere Eulersche⁹⁾ Gleichung über (s. auch Kapitel 33). Die linke Seite ist die Beschleunigungskraft (N m^{-3}), die auf infinitesimal kleinen Volumina (dV) der Flüssigkeit wirkt. Die Beschleunigung besteht aus zwei Beiträgen: erstens der lokalen zeitlichen Änderung des Geschwindigkeitsvektors \mathbf{v} des Volumenelements dV und zweitens der Änderung von \mathbf{v} , die dadurch auftritt, daß dV während der Zeit dt von einem Bereich der Geschwindigkeit \mathbf{v} in einen Bereich mit $\mathbf{v} + d\mathbf{v}$

7) Benannt nach Claude Louis Marie Henri Navier (* 10. Februar 1785 in Dijon; † 21. August 1836 in Paris), einem französischen Mathematiker und Physiker und Sir George Gabriel Stokes (* 13. August 1819 in Skreen, † 1. Februar 1903 in Cambridge), einem irischen Mathematiker und Physiker.

8) Häufig benutzt man auch die kinematische Zähigkeit $\lambda = \eta/\rho$ welche die Dimension $\text{m}^2/\text{sec}^{-1}$ hat. Für Wasser bei 20°C ist $\eta = 10^{-3} \text{ Jsec m}^{-3}$ und $\nu = 0,1 \text{ m}^2 \text{ sec}^{-1}$.

9) Benannt nach Leonhard Euler (* 15. April 1707 in Basel; † 18. September 1783 in Sankt Petersburg), einem schweizer Mathematiker.

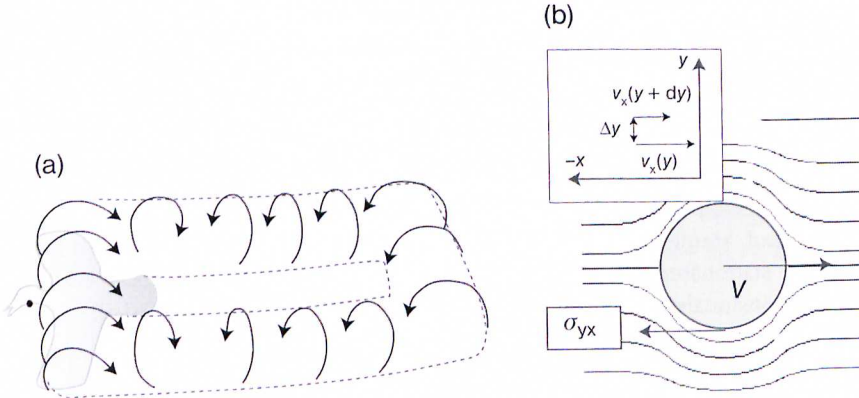


Abb. 37.11 (a) Illustration der Bedeutung der Hydrodynamik für die Biologie: Wirbelstraße eines im Gleitflug fliegenden Vogels (modifiziert nach [15]). Die Wirbelstraße trägt dem Gesetz von der Erhaltung der Zirkulation

Rechnung und die Wirbel um die Flügel sorgen für den Auftrieb. (b) Flusslinien um eine mit Geschwindigkeit v bewegte Kugel zur Definition der inneren Reibungskraft bei kleinen Reynolds-Zahlen.

übergeht, dem konvektiven Anteil (s. [16]). Die rechte Seite stellt die resultierende treibende Kraft (in N m^{-3}) dar. Sie besteht aus dem Gradienten des Drucks (∇p) und der inneren Reibungskraft $\eta \Delta v$, die zwischen zwei benachbarten Volumina auftritt, falls diese unterschiedliche Geschwindigkeiten besitzen (Abb. 37.11b und Aufgabe 37.10)¹⁰.

Die Navier-Stokes-Gleichung ist wegen des zweiten Terms $\mathbf{v} \nabla \mathbf{v}$ nichtlinear und es gibt keine allgemeine analytische Lösung. Für viele praktische Probleme kann man den nichtlinearen Term vernachlässigen, wie folgende einfache Abschätzungen der relativen Größe der Beschleunigungskraft und Reibungskraft zeigen. Betrachten wir dazu eine Kugel (Radius R) in einer homogenen Strömung der mittleren Geschwindigkeit $\langle v \rangle$ (Abb. 37.11b). Da die Geschwindigkeit auf der Kugeloberfläche verschwindet, ist der Gradient von der Größenordnung $\nabla v \sim \langle v \rangle / R$ und $\Delta v \sim \langle v \rangle / R^2$. Das Glied $\mathbf{v} \nabla \mathbf{v}$ wird von der Größenordnung $\langle v \rangle^2 / R$. Damit wird das Verhältnis der Beschleunigungs- zur Reibungskraft:

$$Re = \rho v \nabla v / \eta \Delta v = \rho \langle v \rangle R / \eta \quad (37.19)$$

Man nennt die dimensionslose Zahl Re die *Reynolds-Zahl*. Für kleine Reynolds-Zahlen vereinfacht sich die Navier-Stokes-Gleichung daher zu:

$$\rho \frac{\partial v}{\partial t} = \eta \Delta v - \nabla p \quad (37.20)$$

10) Die Reibungskraft folgt aus dem Newtonschen Gesetz der Reibung (Abb. 37.11). Dies besagt, dass auf die Oberfläche eines in einer Flüssigkeit bewegten Körpers die tangentielle Scherspannung $\sigma_{yx} = \eta \, dv_x/dy$ auftritt. Be-

trachten wir nun zwei zur x,z -Ebene parallele Flächen im Abstand Δy , so wird die resultierende Kraft pro Volumen offenbar $F_R = \{\sigma(y + \Delta y) - \sigma(y)\} / \Delta y = \sigma \, (d^2 v_x / d^2 y)$.

Die folgende Abschätzung zeigt, dass wir unter vielen biologischen Bedingungen auch den ersten Beschleunigungsterm vernachlässigen können. Nach Gleichung (37.10) nimmt die Geschwindigkeit nach Abschalten der treibenden Kraft ∇p näherungsweise exponentiell ab gemäß $v(t) \approx v_0 \exp\{-\eta t/\rho R^2\}$ (mit $\Delta v \sim v/R^2$).

Für einen Erythrozyten ($R \sim 3 \mu\text{m}$) im Blutstrom ($\eta \sim 10^{-2} \text{ J sec m}^{-2}$) ist die Zerfallszeit $\tau = \rho R^2/\eta$ etwa 10^{-10} sec .

Da die zeitlichen Änderungen biologischer Prozesse in der Regel viel langsamer sind, können die meisten interessanten Prozesse mit der folgenden linearisierten stationären Gleichung beschrieben werden (mit Ausnahme ein- und zweidimensionaler Strömungen, siehe dazu Kapitel 10, Abschnitt 10.5).

$$\eta \Delta v - \nabla p = 0 \quad (37.21)$$

Mit dieser Gleichung berechnete Stokes das Strömungsfeld um eine Kugel und leitete daraus die berühmte Gleichung für die Reibungskraft ab:

$$F = 6\pi\eta Rv \quad (37.22)$$

Man nennt den Faktor $\zeta = 6\pi\eta R$ auch den Reibungskoeffizienten.

37.7

Die Fickschen¹¹⁾ Gesetze der Diffusion

Strömungen in Lösungen (z. B. während der Zentrifugation) sind oft mit der Schaffung von Konzentrationsgradienten verbunden, die durch Diffusion ausgeglichen werden. Das Verhalten wird durch zwei Gesetze bestimmt, die um 1855 (also 50 Jahre vor Einstein) von dem deutschen Physiologen A. Fick abgeleitet wurden und daher auch Ficksche Gesetze heißen. Sie gelten nur für kleine Konzentrationsgradienten.

Das erste Gesetz stellt einen linearen Zusammenhang zwischen dem Teilchenfluss j (gemessen in Einheiten Moleküle oder mol pro sec und m^2) und lokalen Konzentrationsgradienten¹²⁾ $\nabla c(x, y, z, t)$ her und lautet:

$$j = -D \nabla c(x, y, z, t) \quad (37.23)$$

Dabei ist D der Diffusionskoeffizient (Dimension $[D] = \text{m}^2 \text{ sec}^{-1}$). Die zweite Gleichung basiert auf der Kontinuitätsbedingung, die besagt, dass im stationären Zustand zeitliche Änderungen der Konzentration (die lokal durch Zentrifuge oder chemische Reaktionen entstehen können) durch den Diffusionsstrom ausgeglichen werden. Diese Bedingung wird durch die Kontinuitätsgleichung bestimmt.

$$dc/dt + \nabla j = 0 \quad (37.24)$$

11) Benannt nach Adolf Eugen Fick (* 3. September 1829 in Kassel; † 21. August 1901 in Blankenberge), einem deutschen Physiologen.

12) Konzentrationen werden, wenn nicht anders bemerkt, in mol/l angegeben.

Aus den Gleichungen (37.23) und (37.24) folgt die bekannte Diffusionsgleichung (auch 2. Ficksches Gesetz genannt):

$$\frac{\partial c(x,y,z,t)}{\partial t} = D\Delta c(x,y,z,t) \quad (37.25a)$$

Eine allgemeine Lösung der Diffusionsgleichung für die eindimensionale Diffusion ist die Gauß-Funktion (s. [16] und Übungsaufgabe 37.3). Für die Anfangsbedingung einer unendlich scharfen Verteilung am Ort x_0 ($c(x = x_0, t = 0) = c_0 \delta(x - x_0)$) wird

$$c(x,t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} \exp\left\{-\frac{(x-x_0)^2}{4Dt}\right\} \quad (37.25b)$$

Die Diffusion führt also zu einer Verbreiterung der ursprünglich scharfen Verteilung der Moleküle. Die Ausbreitung der Front der Konzentrationsverteilung $c(x_0,0)$ mit der Zeit ist durch die Zeitabhängigkeit der Varianz $2(Dt)^2$ der Gauß-Verteilung bestimmt. Mit anderen Worten, im Zeitintervall t breitet sich die Front der Gauß-Verteilung um den Betrag $\delta x = x - x_0 = 2\sqrt{(Dt)}$ in beide Richtungen aus.

Die Fickschen Gleichungen und der Diffusionskoeffizient bekamen erst durch die berühmte Interpretation der Brownschen Bewegung durch Einstein einen physikalischen Sinn. Einstein lehrte uns drei wichtige Dinge:

1. Jedes Molekül (oder ein in der Lösung suspendierter Körper) führt aufgrund der Stöße durch die umgebenden Moleküle eine statistische Bewegung durch.
2. Die entscheidende Messgröße zur quantitativen Charakterisierung der Diffusion ist das mittlere Verschiebungsquadrat $\langle x^2 \rangle$, das für rein statistische Bewegungen gegeben ist durch:

$$\langle x^2 \rangle = 2D t \quad (37.26)$$

und diese Beziehung gilt von makroskopischen bis zu atomaren Dimensionen¹³⁾. Dies ist extrem wichtig für die Messung von D durch Beobachtung der Brownschen Bewegung suspendierter Teilchen mit dem Mikroskop, denn der Wert von D ist unabhängig von der Messzeit. Der experimentelle Beweis der Einstein-Beziehung erfolgte um 1910 durch Jean-Baptiste Perrin.

3. Einstein stellte die extrem wichtige und universelle Beziehung zwischen dem Diffusionskoeffizienten und dem Reibungskoeffizienten (bzw. der Beweglichkeit $\mu_B = 1/\zeta$) auf:

$$D = k_B T / \zeta = \mu_B k_B T \quad (37.27)$$

Die Ableitung dieser Beziehung ist ein besonders schönes Beispiel für Einsteins Genie. Sie basiert auf der Betrachtung der Konkurrenz zwischen der Sedimenta-

13) Man spricht in diesem Zusammenhang von Selbstähnlichkeit der Brownschen Bewegung auf allen Skalen, d. h. jedes Teilstück

der Bewegung setzt sich wieder aus einem statistischen Irrflug zusammen.

tion der Teilchen (der Masse m) im Schwerfeld (der Erde) und der Diffusion. Nach der barometrischen Höhenformel ist die Verteilung der Dichte in Richtung senkrecht zur Gravitationskraft durch die Differentialgleichung $dn/dx = m g n(x) / k_B T$ bestimmt. Dem durch die Schwerkraft erzeugten Teilchenstrom $j_g = n(x) mg / \zeta$ wirkt der Diffusionsstrom $j = -D dn/dx$ entgegen. Gleichsetzen der Ströme liefert unter Berücksichtigung der Gleichung für dn/dx die Beziehung (37.27).

37.8

Literatur

- 1 Schmahl, G., Rudolph, D., Niemann, B., Guttman, P., Thieme, J., Schneider, G. (1996) Röntgenmikroskopie. *Naturwissenschaften*, **83**, 61–70.
- 2 Medalia, O., Weber, I., Frangakis, A.S., Nicastro, D., Gerisch, G., Baumeister, W. (2002) Macromolecular architecture in eukaryotic cells visualized by cryoelectron tomography. *Science*, **298**, 1209–1213.
- 3 Alberts, B., Johnson, A., Walter, P., Lewis, J., Raff, M., Roberts K. (2008) *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. Taylor and Francis, New York.
- 4 Pluta, M. (1988) *Advanced light microscopy: principles and basic properties*: 1. Ed., Elsevier Science Ltd. Amsterdam.
- 5 Limozin, L., Sengupta, K., (2009) Quantitative reflection interferenc contrast microscopy (RICM) in Soft Matter and cell adhesion. *ChemPhysChem* **16**, 2741-2768.
- 6 Rädler, J.O., Feder, T.J., Strey, H.H., Sackmann, E. (1995) Fluctuation analysis of tension-controlled undulation forces between giant vesicles and solid substrates. *Phys. Rev. E*, **51**, 4526.
- 7 Baumgart, T., Hess, S.T., Webb, W.W. (2003) Imaging coexisting fluid domains in biomembrane models coupling curvature and line tension. *Nature*, **425**, 821–824.
- 8 Hell, S. (2007) Far field optical nanoscopy *Science* **316**, 1153-1158.
- 9 Betzig, E., Patterson, G., Sougrat, R., Lindwasser, O., Olenych, S., Bonifacino, J., Davidson, M., Lippincott-Schwartz, J., Hess, H. (2006) Imaging intracellular fluorescent protein at nanometer resolution. *Science* **313** 1642-1645.
- 10 Meselson, M., Stahl, F.W. (1958) the replication of DNA in Escherichia coli. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **44**, 671–682.
- 11 Stafford, W. F., (1992) Boundari analysis in sedimentation transport experiments. *Analytical Biochemistry* **203**, 295–301.
- 12 Tse, C., Sera, T., Wolffe, A.P., Hansen, J.C. (1998) Disruption of higher-order folding by core histone acetylation dramatically enhances transcription of nucleosomal arrays by RNA polymerase III. *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 4629–4638.
- 13 Lebowitz, J., Lewis, M.S., Schuck, P. (2002) Modern analytical ultracentrifugation in protein science: a tutorial review. *Protein Sci*, **11**, 2067–2079.
- 14 Hensley, P. (1996) Defining the structure and stability of macromolecular assemblies in solution: the re-emergence of analytical ultracentrifugation as a practical tool. *Structure*, **4**, 367–373.
- 15 Vogel, S. (1996) *Life in moving fluids: the physical biology of flow*. Rev and Expande. Princeton Univ. Press Princeton, N. J. USA
- 16 Landau, L.D., Lifschitz, E.M. (1991) *Hydrodynamik*, in *Lehrbuch der theoretischen Physik*, Bd.6, 5. Ed. Deutsch (Harri) Akademie Verlag, Berlin

Anhang

38

Übungsaufgaben

Diese Sammlung umfasst zwei Gruppen von Aufgaben. Erstens Übungsaufgaben, die man mit den im Buches dargestellten Grundlagen lösen kann und zweitens komplizierte Aufgaben, welche in der Regel nur anhand der angegebenen Literatur vollständig bearbeitet werden können. Dabei handelt es sich meist um Fragen nach Konzepten zur quantitativen Untersuchung biologischer Materialeigenschaften oder biologischer Prozesse.

Zu jeder der zweiten Gruppe von Aufgaben wird jedoch Hilfe angeboten, welche den Leser in die Lage versetzen soll, die Aufgabe auch ohne Studium der angegebenen Publikationen zu lösen. Der Lerneffekt ist sicher am größten, wenn der Leser versucht, sich anhand der Angaben ein Experiment zu überlegen. Er kann dabei seine Fähigkeit testen, selbstständig Experimente zu konzipieren, um spezifische Fragestellungen zu lösen. Da es in der Biophysik in der Regel nicht um die Erfindung neuer physikalischer Methoden geht, sondern darum, bekannte Methoden geschickt anzuwenden, um spezielle Parameter unter natürlichen Bedingungen möglichst präzise und störungsfrei zu messen, ist diese Fähigkeit besonders gefragt.

In dem Text werden keine Lösungen angegeben. Diese sollen zusammen mit den Farbbildern in das Netz gestellt werden. Die Studenten werden ermutigt, dort ihre Lösungen darzustellen oder neue Aufgaben vorzuschlagen.

Kapitel 1

1.1 Zum Skalengesetz: Gibt es auch ein unteres Limit der Größe von Warmblütern?

Hinweis: Man beachte erstens die Größenabhängigkeit der Wärmeabstrahlung und nehme zweitens an, dass die Nahrungsaufnahme proportional zum Gewicht ist.

1.2 Der Abstand zwischen zwei Sauerstoff-Atomen einer Wasserstoff-Brücke variiert zwischen 0,25 und 0,35 nm und die Bindungsenergie beträgt ca 4 kJmol^{-1} . Vergleichen Sie diese Energie mit der Bindungsenergie einer Salzbrücke zwischen zwei Atomen mit entgegengesetzten Ladungen im Abstand von 0,3 nm (in wässriger Umgebung).

Kapitel 2

2.1 Zur Zellvermehrung: Der Mensch produziert etwa $2 \cdot 10^{11}$ Erythrozyten pro Tag. Vergleichen Sie diese Zahl mit der Zahl der pro Tag entstehenden Nachkommen eines Bakteriums, das sich alle 30 Minuten teilt. Nehmen Sie die Situation exponentiellen Wachstums an. Welche Voraussetzungen müssen für exponentielles Wachstum erfüllt sein? Wie groß ist das Gesamtvolumen der Bakterien für zylinderförmige *E. coli*-Bakterien der Dimension $0,5 \cdot 2 \mu\text{m}$?

Kapitel 3

3.1 Leiten Sie ein Skalengesetz für den Zusammenhang zwischen Grundumsatz und Körpermasse eines Tieres her. Nehmen Sie dabei an, dass die Wärmeproduktion proportional zur Masse des Körpers ist. Die Verlustenergie ist aufgrund von Wärmeleitung proportional zur Oberfläche des Körpers. *Tipp*: Führen Sie den spezifischen Grundumsatz ein und berechnen Sie wie dieser mit der Körpermasse skalieren muss, damit eine stabile Körpertemperatur erreicht wird.

Anmerkung: Experimentell wird ein größerer Exponent gefunden. Dies liegt daran, dass sich die Proportionen der Tiere mit der Größe ändern. Daher gilt die angenommene Skalierung des Wärmeverlusts mit der Masse nur in grober Näherung.

3.2 Beweisen Sie, dass die freie Enthalpie die gesamte mechanische Arbeit außer Volumenarbeit ist, die an einem System bei konstanter Temperatur und konstantem Druck vollbracht wurde. Gehen Sie dabei vom Ersten Hauptsatz Gleichung (3.2) $dU = \delta Q + \delta A$ sowie der Definition der am System geleisteten Volumenarbeit $\delta A_{\text{Vol}} = -p dV$ aus.

3.3 Ein einatomiges Gas (z. B. He, Ne, Ar) besitzt bei nicht zu tiefen Temperaturen pro Teilchen und Raumrichtung eine innere Energie von $k_B T/2$. Diese besteht ausschließlich aus der kinetischen Energie der Atome. Schätzen Sie ab, in welchem Quantenzustand sich ein Argon-Atom in einem Würfel von 1 cm Kantenlänge bei Raumtemperatur (300 K) im Mittel befindet.

3.4 Wie groß ist die Dichte der Quantenzustände für ein Argo-Atom in einem Kubus von 1 cm Kantenlänge bei 300 K? Wieviele Zustände kämen in Frage, falls die Temperatur auf 1 μK genau definiert wäre? Wie groß wäre die Anzahl der Zustände für das gesamte Gas bei Atmosphärendruck?

3.5 Leiten Sie das Gleichverteilung-Theorem der klassischen Statistischen Wärmelehre her. Dieses besagt, dass jeder harmonische Freiheitsgrad des Energiefunctionals eines Systems im thermischen Mittel mit einer Energie von $k_B T/2$ angeregt ist. Mit anderen Worten, dass wenn die Energiefunktion als $H(x_1, x_2, \dots, x_{n-1}, x_n) = H(x_1, x_2, \dots, x_{n-1}) + ax_n^2$ mit konstantem Koeffizienten a geschrieben werden kann, im thermischen Mittel $\langle ax_n^2 \rangle = \frac{k_B T}{2}$ gilt. Dies gilt nur, solange Quanteneffekte vernachlässigt werden können. *Tipp*: Benutzen Sie die quasiklassische Näherung, Gleichung (3.28).

3.6 Berechnen Sie die thermische Wellenlänge der Bestandteile der Luft (N_2 , O_2 , Ar) bei 0°C sowie die Freie Energie und das chemische Potenzial dieser Gase bei Normaldruck. Skizzieren Sie den Verlauf dieser Größen bei isothermer Kompression der Gase von 0,1 Atmosphären (10,1 kPa) bis 10 Atmosphären (1,01 MPa).

3.7 Die gemessenen Parameter a' und b' der van der Waals-Gleichung (3.32) betragen für Argon $a' = 1,36 \text{ atm l}^2 \text{ mol}^{-2}$ und $b' = 0,0322 \text{ l/mol}$; für Wasser-Moleküle in der Gasphase betragen die Werte $a' = 5,54 \text{ atm l}^2 \text{ mol}^{-2}$ und $b' = 0,0305 \text{ l/mol}$. Stellen Sie den Druck dieser Gase als Funktion der Dichte bei Raumtemperatur grafisch dar. Verwenden Sie einen Dichtebereich von 1 mol/m^3 bis 10^3 mol/m^3 . Vergleichen Sie diese van der Waals Isothermen mit denen eines idealen Gases und überlegen Sie sich eine Darstellungsweise der beiden Kurven, die den Unterschied zwischen beiden Isothermen möglichst deutlich zeigt und eine, die den Unterschied möglichst realistisch darstellt. Tipp: Konvertieren Sie a' und b' so, dass Sie die Dichte in der SI-Einheit Teilchen/m^3 verwenden können.

3.8 Physiologische Kochsalzlösung besitzt eine Osmolarität von 0,30 Osmol/Liter. Berechnen Sie, welcher osmotische Druck auf einen Erythrozyten (Radius $3 \mu\text{m}$) beim Transfer in eine 0,13 osmolare Lösung wirkt. Welche mechanische Oberflächenspannung wirkt bei diesem Druck auf die Membran?

Beim Transfer in noch geringer osmolare Lösungen platzen Erythrozyten sehr schnell.

Kapitel 4

4.1 Eukaryotische Zellen enthalten Lysosomen. Dies sind runde Organellen mit einem Durchmesser von 200–500 nm. Ihr inneres Milieu weist einen pH-Wert von 5,0 auf. Wie viele Oxonium-Ionen befinden sich in einem Lysosom?

Proteine, die zum Export aus der Zelle bestimmt sind, sowie Membranproteine werden innerhalb der Zelle in Vesikeln transportiert. Dies sind runde, membranumschlossene Gebilde, die oft Durchmesser von ungefähr 100–200 nm besitzen. Wie viele Oxonium-Ionen befinden sich bei pH 7 in diesen Gebilden?

4.2 Programmieren Sie die Lösung der kubischen Gleichung, die die Wirkung von Puffern beschreibt, in einem Programm Ihrer Wahl (Mathematica, Maple, Excel, ...) und analysieren Sie, welchen Einfluss die verschiedenen Parameter auf den pH-Wert eines Puffers und auf die Breite des Pufferbereichs haben.

Kapitel 5

5.1 Ergänzen Sie die fehlenden Atome in den impliziten Strukturformeln der Aminosäuren (s. Tabelle 5.1).

5.2 Markieren Sie in einer Proteinsequenz (z. B. von Myoglobin) die Aminosäuren nach ihren physikalischen Eigenschaften (s. Tabelle 5.1). Stimmen die Häufigkeiten der Aminosäuren mit den durchschnittlichen Werten überein? Welche Gesamtladung erwarten Sie für das Molekül? Wie ist die Balance zwischen hydrophilen und hydrophoben Aminosäuren?

Tipp: Proteinsequenzen sind über Internet-basierte Datenbanken frei verfügbar, z. B. die Proteindatenbank UniProt (<http://www.ebi.ac.uk/Databases/protein.html>).

Kapitel 6

6.1 Lesen Sie den Anhang 6.A über die Visualisierung von Proteinstrukturen. Installieren Sie eines der frei verfügbaren Visualisierungsprogramme auf Ihrem Rechner und untersuchen Sie selbst die Strukturen eines kleinen Proteins (z. B. die RNase A aus Abb. 6.1 oder 6.3) und eines sehr großen Proteins (z. B. das Cadherin in Abb. 6.4, der Datensatz 1Q5B beinhaltet einen Komplex aus mehreren Molekülen, von denen in Abb. 6.4 nur eines gezeigt wurde). Verschaffen Sie sich an diesen Molekülen einen Überblick über die Verteilungen von Ladungen und von hydrophoben Gruppen. Vergleichen Sie die Strukturen der Moleküle in den verschiedenen Darstellungsformen. Falls Ihr Visualisierungsprogramm dies ermöglicht, sollten Sie auch die Ramachandran-Diagramme zu diesen Molekülen untersuchen.

6.2 Berechnen Sie die Bornsche Selbstenergie, die Abschirmmlängen und die Aktivitätskoeffizienten nach Debye-Hückel der verschiedenen Ionen in HCl-, NaCl- und KCl-Lösungen mit Konzentrationen von 1, 10 und 100 mM. Vergleichen Sie die Energien mit der thermischen Energie.

6.3 Berechnen Sie aus Abbildung 6.18, wie viel Freie Enthalpie notwendig ist, um eine CH_2 -Gruppe von der reinen Substanz in die wässrige Phase zu überführen. Schätzen sie daraus und aus der bekannten Bindungslänge einer C–C Bindung ab, mit welcher Kraft eine Kohlenwasserstoff-Kette in das hydrophobe Innere einer Membran gezogen wird.

6.4 Berechnen Sie den Aktivitätskoeffizienten γ (Definition siehe Gleichung 6.6) für ein hypothetisches kugelförmiges Protein mit 2 nm Radius bei einem Volumenbruch von 5% und 10%. Verwenden Sie dazu das skalierte Partikelmodell von Lebowitz (siehe Anhang 6.B). Leiten Sie den Aktivitätskoeffizienten für ein solches Protein im van der Waals-Modell her. Verwenden Sie dafür die Überlegungen aus Kapitel 3 über reale Gase (vor Gleichung 3.32) und vernachlässigen Sie den Kohäsionsdruck. Das Kovolumen ist in diesem Fall durch das vierfache des Proteinvolumens gegeben. Vergleichen Sie diese Ergebnisse mit dem Aktivitätskoeffizienten, der sich für ein solches Protein aus dem Debye-Hückel-Modell ergibt. Berechnen Sie diese Werte für eine Gesamtladung des Proteins von einer Elementarladung und von fünf Elementarladungen. Überlegen Sie sich, ob das Debye-Hückel-Modell für ein Protein eine gute Näherung sein kann.

Kapitel 7

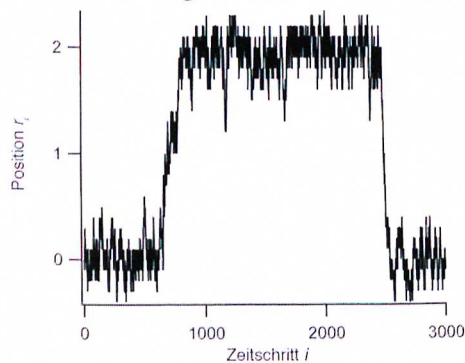
7.1 Eine einfache numerische Simulation einer chemischen Reaktion. Das Potential $G(r)$ entlang der Reaktionskoordinate (r) sei gegeben. Der Einfachheit halber nehmen wir an, dass $G(r)$ in Einheiten von $k_B T$ gegeben und somit benennungs-

los ist. Eine Zufallstrajektorie $r(t)$ mit fester Schrittweite dr wird als Zahlenfolge der Positionen r_i zum Zeitpunkt t_i nach folgendem Schema berechnet:

- 1) Bestimme durch gleichverteilte Zufallszahlen, ob ein Schritt nach links oder nach rechts versucht werden soll.
- 2) Berechne $\Delta G = G(r_1 \pm dr) - G(r_1)$, die Änderung des Potentials in diesem Schritt.
- 3) Würfle eine gleichverteilte Zufallszahl zwischen Null und Eins.
- 4) Akzeptiere diesen Schritt falls diese Zufallszahl kleiner als $\exp(-\Delta G)$ ist.
- 5) Wiederhole die Schritte 1–4 so oft wie gewünscht.

Aufgrund des Entscheidungskriteriums 4) wird ein energieaufwendiger Schritt nur mit einer Wahrscheinlichkeit $\exp\{-\Delta G\}$ durchgeführt, ein Schritt mit Energieabsenkung wird immer durchgeführt. Dieser Algorithmus geht auf Metropolis zurück und ist als Monte Carlo-Simulation weit verbreitet. Die Grundidee des Algorithmus ist in [1] dargestellt. Der Artikel ist frei verfügbar auf der Homepage der Zeitschrift.

Führen Sie diese Rechnung für das Potential $G(r) = 4r^2(r - 2)^2$ durch. Untersuchen Sie, wie selten thermische Übergänge zwischen den beiden stabilen Zuständen $r = 0$ und $r = 2$ gelingen. Eine typische Trajektorie aus 3000 Punkten mit einer Schrittweite von 0,1 sieht folgendermaßen aus:



Die allermeisten Schritte sind also „unproduktiv“, Trajektorien die den Übergangszustand $r = 1$ erreichen und danach wieder umdrehen, sind selten. In einem realistischeren Potenzial mit höherer Krümmung im Übergangszustand kämen solche Umkehrungen wesentlich seltener vor.

7.2 Doty und Yang bestimmten die optische Drehung von Modellpeptiden als Funktion der Temperatur. Ein Beispiel ist in Abbildung 7.15 gezeigt. Die optische Drehung ist direkt proportional zum helikalen Anteil im Peptid, d. h. zum Ordnungsparameter der Umwandlung. Skalieren Sie die y -Achse in Abbildung 7.15 so um, dass Sie eine Darstellung des Ordnungsparameters erhalten und bestimmen Sie die Umwandlungstemperatur sowie die Ableitung des Ordnungsparameters nach der Temperatur bei dieser Temperatur. Aus diesem Wert können

Sie mithilfe des von Zimm und Bragg bestimmten Werts der Umwandlungsenthalpie $\Delta H_{\text{IK}} = 4,14 \text{ kJ/mol}$ die Größe der kooperativen Einheit bestimmen (siehe Gl. 7.18). Die gleichen Autoren bestimmten $\sigma = 10^{-4}$. Vergleichen Sie die beiden Ergebnisse für N aus Abbildung 7.15 mit der Abschätzung $N = \sigma^{-\frac{1}{2}}$.

7.3 Bedeutung eines zweiten Keims im generalisierten Reißverschluss-Modell. Zur Vereinfachung nehmen Sie hierzu an, dass es sich um eine ringförmige Sequenz mit n Elementen handelt. Berücksichtigen Sie Keimbildungs- und Elongationsparameter. *Anleitung:* Berechnen Sie die Wahrscheinlichkeit für die Anwesenheit eines einzigen Keims der Länge j . Die Wahrscheinlichkeit für die Anwesenheit eines einzelnen Keims p_1 ergibt sich durch Summation über j . Berechnen Sie dann die Wahrscheinlichkeit für die gleichzeitige Anwesenheit zweier Keime der Längen k und l . Wiederum ergibt sich die Wahrscheinlichkeit für die gleichzeitige Anwesenheit zweier Keime p_2 durch Summation über k und l . Beachten Sie dabei die möglichen Werte der Keimgrößen. Bei der Bildung des Verhältnisses p_2/p_1 fällt die nur sehr schwer berechenbare Zustandssumme heraus. Für realistische Werte der beiden Parameter und nicht zu kurze Sequenzen liegt das Maximum von p_2/p_1 nahe an $s = 1$. Daher können Sie den Wert von p_2/p_1 bei $s = 1$ als Näherungswert für den Beitrag von Sequenzen mit mehreren Keimen werten. Zeigen Sie, dass die Polymerlänge n_2 , ab der multiple Keime bestimmend sind, für nicht zu kleine Sequenzlängen mit dem Keimbildungsparameter gemäß $n_2 = 2/\sqrt{\sigma}$ zusammenhängt. *Tipp:* Bei der Berechnung der Summen ergeben sich sehr lange Ausdrücke, die Verwendung eines Computeralgebra-Systems ist sehr hilfreich.

7.4 Hämoglobin transportiert Sauerstoff vom Lungengewebe (Partialdruck 100 Torr) in andere Gewebe (Partialdruck rund 20 Torr). Dabei kann Hämoglobin aufgrund der kooperativen Bindung (siehe das MWC-Modell) ungefähr 66 % des aufgenommenen Sauerstoffs auch abgeben. Berechnen Sie, wie effizient ein nicht kooperatives Sauerstoff-Bindungsprotein maximal sein könnte. Gehen Sie dazu von Gleichung (7.22) aus.

7.5 Beweisen Sie durch eine Taylor-Reihenentwicklung, dass der Verlet-Algorithmus (siehe Anhang 7.B) nur Terme der dritten Ordnung im Zeitschritt vernachlässigt.

7.6 Simulieren Sie die Bewegung eines kubischen Oszillators mithilfe der Verlet-Methode. Der Einfachheit halber können Sie Federkonstante und Masse des Teilchens zu Eins setzen. Die Differenzialgleichung lautet dann:

$$\begin{aligned}\dot{v} &= x^3 \\ \dot{x} &= v\end{aligned}$$

Untersuchen Sie den Einfluss der Schrittweiten auf die Form und Stabilität der Lösung. Hängt diese von den Anfangskordinaten ab?

7.7 Berechnen Sie den Zeitverlauf der Relaxation bei periodischer Anregung im Fall der Populationsinhomogenität. Nehmen Sie an, dass es nur zwei weit sepa-

rierte Reaktionsraten gäbe, die Wiederholungsrate der Blitze sei zwischen diesen beiden Raten. Der Blitz sei so stark, dass alle absorptionsfähigen Moleküle ange-regt seien. Wie wäre der Verlauf im alternativen Fall?

Kapitel 8

8.1 Ein Schlüssel habe m Zacken, die in drei verschiedenen Höhen vorliegen kön-nen. Wie groß muss m gewählt werden, damit es mindestens eine Milliarde ver-schiedener Schlüssel gibt? Wie groß wird m , wenn es Zacken in fünf verschiede-nen Höhen gibt?

8.2 Berechnen Sie auf der Basis von Gleichung (8.4) die Verteilung der Bruch-kräfte $-\frac{dp}{df}$, sowie die Abhängigkeit der wahrscheinlichsten Bruchkraft von der Rate der Kraftsteigerung. Was geschieht unterhalb der Rate $k_0 F_0$?

8.3 Ein einfaches Ersatzmodell für das Experiment von Essevaz-Roulet ist ein Massenpunkt auf einer schrägen Rampe, der von einer Feder mit Steifheit k und Ruhelage x_0 gehalten wird und unter dem Einfluss der thermischen Bewe-gung steht. Dabei ersetzt die konstante Kraft f_1 , die der Massenpunkt auf der schrägen Rampe erfährt, die Freie Enthalpie der Basenpaarung. Die nichtlineare Steifigkeit des entfalteten DNA-Strangs wird vernachlässigt. Berechnen Sie die mittlere quadratische Verschiebung, d. h. die Varianz der Position dieses Massen-punktes und setzen Sie für f_1 12 pN und für k $1,7 \mu\text{N m}^{-1}$ ein. *Tipp:* Geben Sie zuerst die mikroskopische Freie Enthalpie G für dieses System an (in diesem ein-fachen System ist G gleich der Inneren Energie), berechnen Sie die Wahrschein-lichkeitsdichte und daraus die Varianz.

8.4 Eine Kugel mit Radius R und Dichte ρ bewegt sich unter der Wirkung einer äußeren Kraft mit der Geschwindigkeit v_0 in einem Medium mit der Viskosität η . Mit welcher Rate klingt die Bewegung ab, wenn man die Kraft abschaltet? Wie skaliert sie mit der Größe? Wie groß ist die entsprechende Abklingzeit bei Raum-temperatur für ein kleines Tier (Radius 0,1 m), ein Bakterium (Radius $0,5 \mu\text{m}$), ein Protein (Radius 3 nm) und ein kleines Molekül (Radius $0,15 \text{ nm}$)? Für Dichte und Viskosität können Sie die Werte von Wasser benutzen.

8.5 Leiten Sie das Leistungsspektrum eines allgemeinen Brownschen Oszillators (Gleichung 8.19) her. Ist die Stärke der fluktuierenden Kraft in diesem Fall geän-dert?

8.6 Über welchen Zeitraum und mit welcher zeitlichen Auflösung muss man die Position eines Brownschen Oszillators messen, damit das Gleichverteilungstheo-rem $\langle \frac{k}{2} x^2 \rangle = \frac{k_B T}{2}$ auch anwendbar ist?

8.7 In Experimenten wird die Steifheit eines Brownschen Oszillators durch Mes-sung des Leistungsspektrums der Fluktuationen bzw. durch Messung des mittlere-n Auslenkungsquadrats bestimmt. In welche Richtung werden die Messwerte von der wirklichen Steifheit abweichen? Beachten Sie die Ergebnisse von Aufgabe 8.6 für Ihre Antworten.

8.8 Tensorielle Kraftspektroskopie an Proteinen: Entfaltet man mit einem Kraftmikroskop mechanisch eine Polypeptidkette, die aus mehreren identischen, globulären Proteindomänen aufgebaut ist, so erhält man ein typisches Kraft-Abstandsverhalten ähnlich zu dem, das in Abbildung 8.20 für Titin gezeigt ist. Die Bereiche ansteigender Kraft (1) entstehen durch das Ausdehnen der Polypeptidkette mit konstanter Konturlänge und können gut durch Formel (8.10) beschrieben werden.

a) Wie groß ist der Konturlängenzuwachs genau, wenn eine einzelne Proteindomäne mit N_{ij} Aminosäuren entfaltet wird (Bereich (2))?. Beachten Sie, dass die Aminosäuren i und j , an denen sie ziehen, im gefalteten Protein einen Abstand besitzen und nehmen Sie an, dass die Konturlänge einer Aminosäure 0,365 nm beträgt.

b) Eine häufig angewandte Methode, um die räumliche Struktur von Proteinen aufzuklären, ist die Röntgenstruktur-Analyse. Hierfür müssen die Proteine aber in kristalliner Form vorliegen, was häufig aufwendig und nicht für alle Proteine machbar ist. Wie könnte man die Kraftmikroskopie nutzen, um Strukturinformationen einzelner Proteine in ihrer natürlichen Umgebung zu gewinnen? Gehen Sie dabei davon aus, dass Sie die Proteindomäne an beliebigen Aminosäuren i und j „anfassen“ können, um diese zu entfalten. Wie viele Messungen benötigen Sie, um die Positionen aller N Aminosäuren eines Proteins zu bestimmen? Welche biochemische Reaktion ermöglicht es, das Protein an fast beliebigen Aminosäuren i und j anzufassen? (Lösung: in [2])

c) Die Entfaltung globulärer Proteine mit der oben beschriebenen Methode findet meist entfernt vom thermodynamischen Gleichgewicht statt. Daher hängt die mittlere Entfaltungskraft auf komplexe Weise von der Struktur des Proteins und der Richtung der wirkenden Kraft ab und lässt sich nicht einfach vorherbestimmen. Findet die Proteinentfaltung im thermodynamischen Gleichgewicht statt (d. h. wenn die Kraft-Abstandskurven der Entfaltung gleich der der Rückfaltung sind), werden diese Zusammenhänge einfacher. Ein Beispiel ist die mechanische Entfaltung von Superhelices, die aus zwei sich umwindender α -Helices bestehen und beispielsweise in molekularen Motoren vorkommen.

Benötigen Sie eine höhere Entfaltungskraft, wenn diese entlang der Längsachse (Überstreckung) oder senkrecht zur Längsachse (*unzipping*) wirkt? Unterteilen Sie dazu gedanklich die Struktur in gleiche kooperative Untereinheiten, die bei einer bestimmten Kraft ent- und rückfalten können und so ein Plateau in den Kraft-Abstandskurven erzeugen. Beachten Sie auch, dass die Gleichgewichtsenergie der Entfaltung unabhängig von der Zugrichtung sein muss, und der Konturlängenzuwachs einer Untereinheit in der *unzipping*-Geometrie größer ist als in der Überstreckungsgeometrie. (Lösung: in [3])

d) Im Gleichgewicht lassen sich solche Experimente durch die Berechnung der Zustandssumme exakt reproduzieren. Formulieren Sie die kanonische Zustandssumme Z_k für den Messaufbau zum Auftrennen einer Superhelix in der *unzipping*-Geometrie. Beachten Sie, dass ein Zustand durch Angabe der Anzahl von

geöffneten Untereinheiten j , die Verbiegung der Blattfeder (x_0-z) und den End-zu-End-Abstand z des Polypeptides mit Konturlänge $L(j)$ vollständig gegeben ist.

e) Geben Sie an, wie der Erwartungswert der Kraft in Abhängigkeit von der Blattfederauslenkung x_0 berechnet werden kann. *Hinweis:* Der Erwartungswert ist durch $\langle F \rangle = \sum_n F_n p_n$ gegeben, wobei die Wahrscheinlichkeit, den Zustand p_n zu finden, durch $p_n = \frac{1}{Z_n} \exp\left\{-\frac{E_n}{k_B T}\right\}$ bestimmt ist. (*Lösung:* in [4] Beachten Sie auch die Ähnlichkeit zum Reisverschluss-artigen Auftrennen von DNA (Abschnitt 8.2.2).

Kapitel 9

9.1 a) Die Erythrozyten binden nach der Abgabe von Sauerstoff im Muskel CO_2 . Nach der Abgabe in das Zytoplasma entsteht daraus Kohlensäure. Woher kommt das CO_2 ? Wie sieht die Reaktion der Bildung von Kohlensäure aus CO_2 aus? *Hilfe:* Wikipedia-Stichwort Pyruvat-Dehydrogenase und Citrat-Zyklus.

b) Der Sauerstoff-Gehalt der Luft ist etwa 20%. Bei einem Gehalt von 0,1% des Atemgiftes CO in der Atemluft sind rund 50% des Hämoglobins mit CO blockiert. Schätzen Sie daraus das Verhältnis der Bindungskonstanten von CO und O_2 an Hämoglobin ab. *Hilfe:* [5]

9.2 Die Messung der Lipidzusammensetzung natürlicher Membranen ist eine wichtige praktische Aufgabe. Eine moderne Methode ist die Gel-Chromatografie. Eine andere hochauflösende Technik ist die Gaschromatografie. Wie funktioniert diese und weshalb lassen sich verschiedene Moleküle mit dieser Methode trennen? Kennen Sie eine andere Methode zur Trennung der Lipide?

9.3 Zur Bindung von Zuckermolekülen an Proteine (Glykosilierung): Die Natur benutzt zwei chemische Mechanismen der Kopplung von Zuckermolekülen an Proteine: die N-gebundene und die O-gebundene Glykosilierung. Welche Aminosäuren eignen sich für diesen Prozess? Zeichnen Sie die Strukturformel für die Kopplung eines Zuckermoleküls (z. B. Mannose) an die NH_2 -Gruppe von Asparagin (als Beispiel einer N-Kopplung) und von N-Acetylgalactosamin (Beispiel einer O-Kopplung) an Threonin. *Zusatzfrage:* Wo finden die beiden Prozesse der Glykosilierung statt? *Hilfe:* [6].

9.4 Ein großes Problem bei der Herstellung neuer Arzneimittel sind die Nebenwirkungen. Diese machen die Entwicklung neuer Arzneimittel so extrem teuer. Sie beruhen oft auf einer (unerwünschten) Bindung der Moleküle an Zellrezeptoren für spezifische Hormone. Wie hoch muss die Konzentration $[A]$ eines Agonisten von Insulin sein, der eine Dissoziationskonstante von $K_d = 3 \cdot 10^{-8}$ M hat, um denselben Bruchteil der Rezeptoren zu besetzen wie Insulin (Bindungskonstante $2 \cdot 10^{-10}$ M *Hilfe:* Man berechne das Verhältnis der Konzentrationen $[A]/[I]$.

9.5 Zur Energetik der Ionenpumpen. Zeigen Sie, dass die Energie der ATP-Hydrolyse für den Na^+/K^+ -Austausch auch ausreicht, wenn man das Membranpotenzial berücksichtigt. Dies ist für Erythrozyten -6 mV und für Neuronen -58 mV.

9.6 Worauf beruht unsere Fähigkeit zum Farbsehen? Nach der Theorie von Helmholtz besitzen wir die Fähigkeit, alle Farben (einschließlich schwarz und weiß) durch Mischen von drei Grundfarben zu erzeugen. Tatsächlich wurde diese Theorie experimentell verifiziert und gilt noch heute. Wie realisiert die Natur das Prinzip der Mischfarben? Weshalb können wir in der Dämmerung keine Farben erkennen? Haben alle Tiere dieselbe Farbwahrnehmung?

Hilfe: Wikipedia, Stichwort Farbwahrnehmung und [7].

9.7 Beobachtung der Ca^{2+} -Spiegel und Calcium-Wellen in Zellen. Viele intrazelluläre Prozesse werden durch kurzfristige Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ausgelöst, wobei die Ionen als Botenmoleküle fungieren. Bei der Befruchtung der Eier spielen Calcium-Wellen eine wichtige Rolle. Die Erhöhung des Ca^{2+} -Spiegels erfolgt durch Öffnung von Kanälen in den Ca^{2+} -Speichervesikeln. Auslöser dafür ist die Bindung von Inositol-triphosphat (IP3) an Rezeptoren in der Membran der Vesikel.

a) Wie entsteht IP3 aus Phosphatidylinositol-diphosphat (PI-4,5-P2)? Beschreiben Sie den Prozess anhand der Information in Abbildung 28.4.

b) Beschreiben Sie die Methode zur Analyse der Verteilung von Ca^{2+} in Zellen und der Beobachtung von Ca^{2+} -Wellen durch Verwendung von Fluoreszenzsonden (z. B. Aequorin). *Hilfe:* [8]; [9].

Eine ausführliche Beschreibung der Beobachtung und Analyse elektrisch induzierter Ca^{2+} -Einströme in Zellen (Chronmaffin Zellen) des Nervensystems findet man in der Arbeit von Neher und Augustin in [10]. Für den theoretisch interessierten Leser: Eine moderne Theorie der Ca^{2+} -Wellen findet man in den Arbeiten von Y.X. Li *et al.* [11].

Kapitel 10

10.1 Monomolekulare Filme auf Wasser als Modellmembranen: Man kann die Phasenumwandlung von der fluiden (L_a) in die kristalline Phase (L_i) der Membranen auch beobachten, indem man die Lipide auf Wasseroberflächen spreitet (wo sie monomolekulare Filme bilden) und diese in tangentialer Richtung komprimiert. Solche Experimente führt man mit kommerziell erhältlichen Langmuir-Filmwaagen durch. Skizzieren Sie ein Experiment und überlegen Sie, wie man die Phasenumwandlung beobachten und die Flächenänderung (ΔA) pro Molekül bei der Umwandlung bestimmen kann?

Denken Sie dabei an die analoge Situation der Beobachtung von p - V -Diagrammen von Gasen.

Beantworten Sie folgende Fragen: (i) Wie ist der zweidimensionale Druck π definiert? (ii) Wie sehen die Druck-Flächen-Diagramme als Funktion der Temperatur aus? (iii) Wie kann man durch Messung der Flächenänderung die Umwandlungswärmen ($\Delta Q = T\Delta S$) bestimmen? (iv) Wie könnten Sie feststellen, ob es einen kritischen Punkt gibt? (v) Wie viele Kilogramm Phospholipid würde man benötigen, um den Bodensee mit einem monomolekularen Film zu bedecken?

Hilfe: Wenden Sie zur Beantwortung der Frage iii die Clausius-Clapeyron-Glei-

chung an ($d\pi_m/dT = \Delta S/\Delta A$). Überlegen Sie zur Beantwortung der Frage (iv), welche physikalischen Parameter man bei der Beobachtung kritischer Punkte beobachten muss. *Hilfe*: [12, 13 und 14].

10.2 Zu elektrostatisch induzierten Phasenumwandlungen von Membranen. Versuchen Sie die Gleichung (10.4) abzuleiten. Dazu betrachte man die Variation der Freien Enthalpie mit dem Druck und der Temperatur und berechne die Ableitung $d\pi/dT$ unter Berücksichtigung der thermodynamischen Beziehungen $A = \partial G/\partial \pi$ und $S = \partial G/\partial T$, die für jeden Phasenzustand gelten.

10.3 Wie kann man die Umwandlungswärme ΔQ und die Umwandlungsentropie ΔS aus den Thermogrammen der Abbildung 10.3 bestimmen? Welche thermodynamische Beziehung benutzt man dabei? *Hilfe*: Berechnen Sie zunächst die Umwandlungswärme aus der Änderung der Wärmekapazität.

Zusatzaufgabe: Das Differenzialkalorimeter zur Messung der Umwandlungswärmen von Membranen oder Proteinen besteht aus zwei Gefäßen, von denen eines das Material und das andere eine Vergleichssubstanz (z. B. Wasser) enthält. Man erwärmt beide Gefäße gleichmäßig und beobachtet den Temperaturunterschied ΔT zwischen diesen, während man die Temperatur erhöht. Skizzieren Sie das Prinzip des Differenzialkalorimeters zur Messung der Umwandlungswärmen und zeigen Sie, wie der Verlauf von ΔT als Funktion von T aussieht, wenn man eine exotherme Phasenumwandlung durchläuft.

Übersichtsartikel: [15] und [16].

10.4 Die experimentell beobachtete C_p - T -Kurve der Abbildung 10.3 ist relativ breit, obwohl es sich um eine Phasenumwandlung erster Ordnung handelt. Wie würde die C_p - T -Kurve für das Schmelzen einer unendlich großen, idealen kristallinen Membran aussehen?

10.5 Welche physikalischen Parameter müsste man messen, um herauszufinden ob Phasenumwandlungen der Membran von erster oder zweiter Ordnung sind? Nennen Sie drei Beispiele. *Hilfe*: Machen Sie sich zunächst wieder mit der Definition der Ordnung der Phasenumwandlungen vertraut, beispielsweise anhand der Beobachtung des Λ -Punktes suprafluiden Heliums.

Zusatzfragen: Wie verhält sich die Flächenänderung der Membranen bei Umwandlungen erster und zweiter Ordnung?

Allgemeine Literatur: [17, 18]. Zum Fall der Lipid-Monofilme siehe [14].

10.6 Modifikation des pH-Wert an geladenen Oberflächen. Der PH-Wert an geladenen Oberflächen kann wesentlich von dem in der Lösung abweichen, was oft zu Missverständnissen führt. Man bestimme die Änderung des pH-Werts an der Membranoberfläche für ein Oberflächenpotenzial von 100 mV.

10.7 a) Man berechne den Bruchteil an *gauche*-Konformationen für $T = 37^\circ\text{C}$ mithilfe der Boltzmann-Gleichung und mit den Daten der Abbildung 10.6b.

b) Man schätze die Übergangswahrscheinlichkeit k_{tg} der *trans-gauche*-Übergänge mit der Arrhenius-Gleichung ab. Man beachte, dass die Frequenz der Torsionsschwingungen um die C–C-Bindungen etwa 10^{13} Hz ist.

c) Man berechne damit den Diffusionskoeffizienten der Kinken entlang der Ketten durch Anwendung der Einstein-Beziehung für die eindimensionale Diffusion.

Zusatzfrage: Mit welcher in Kapitel 10 beschriebenen Methode könnte man die Diffusionsgeschwindigkeit der Kinken in der Richtung der Ketten messen?

10.8 Zur Messung der Lateraldiffusion der Lipide mittels QENS. Der Vorteil der QENS-Technik zur Messung von Diffusionskoeffizienten besteht darin, dass man die Beobachtungsrichtung durch Orientierung der Lipid-Multischichten bezüglich der einfallenden Neutronenwelle festlegen kann. Wie würden Sie die Multischichten in Abb. 10.11 anordnen, um die Lateraldiffusion der Lipide in der Ebene der Membran zu messen.

Zusatzfrage: Warum streuen Protonen viel stärker inkohärent als Deuteronen?

Hilfe: Betrachten Sie die Frage, weshalb eine Welle bei der Streuung an Kernen das Phasengedächtnis verlieren kann. Die mit der Methode der Kernspinresonanz vertrauten Studenten kennen den Prozess von der transversalen Relaxationszeit.

10.9 Aufgaben zur FCS-Technik und Statistik. Wie groß ist die relative Fluktuation $\delta N/N$ der Teilchenzahl N in einer idealen Lösung mit N gelösten Molekülen? Wie viele (gleiche) Moleküle dürfen in dem beobachteten Volumen V sein, wenn die Fluoreszenzintensität etwa um den Faktor 2 schwanken soll? *Hilfe:* Man nehme an, die Fluktuation der Teilchenzahl ($N - \langle N \rangle$) in einem gegebenen Volumen sei durch eine Poisson-Verteilung bestimmt.

Zusatzfrage: Welcher Zusammenhang besteht zwischen der Gauß- und der Poisson-Verteilung? Wie unterscheiden sich die Erwartungswerte und die Varianz der beiden Verteilungen?

10.10 Messung der Kinetik chemischer Reaktionen mittels FCS. Bei der Ableitung der Korrelationsfunktion der Fluoreszenz $K_F(t)$ (Gl. 10.31) hatten wir nur die Fluktuation der Zahl fluoreszierender Moleküle in dem durch den Fokus des konfokalen Mikroskops bestimmten Volumen betrachtet. Dabei nahmen wir an, dass diese nur durch die Diffusion bestimmt ist. Die Situation wird komplizierter, wenn die Moleküle M durch chemische oder physikalische Reaktionen ($M \leftrightarrow M^*$) so modifiziert werden, dass der Zustand M^* nicht mehr (oder in einer anderen Farbe) fluoresziert. Sind k_+ und k_- die Raten der Hin- und Rückreaktion, so ist $\tau = (k_+ + k_-)^{-1}$ die gesamte Zeit, in welcher M sich im Zustand M^* befinden. Ist diese viel kürzer als die Zeit, die das Molekül braucht, um durch das Fokus zu diffundieren, so kann man die Prozesse trennen. Man zeige, dass in diesem Fall die Korrelationsfunktion als Produkt des Beitrags der Diffusion und der Reaktion wie folgt dargestellt werden kann:

$$K_{\text{tot}}(t) = K_F(t) \Gamma_P(t)$$

wobei $\Gamma_p(\tau)$ gegeben ist durch:

$$\Gamma_p(t) = (1 - m^*) + m^* \exp\{-t/\tau\}$$

m^* ist der Bruchteil der Moleküle im Zustand M^* . Welches Aussehen hat die Autokorrelationsfunktion wenn man $K_F(t)$ als Funktion von $\log t$ darstellt? *Hilfe:* [19, 20].

Hilfe: Man nehme an, dass die beiden Prozesse unabhängig voneinander sind. Man beachte: die Wahrscheinlichkeit, dass ein Reporter-molekül Fluoreszenzlicht in den Detektor sendet, ist gleich der Wahrscheinlichkeit, dass sich das Teilchen im Fokus befindet, wenn es nach der Reaktion in den Zustand M zurückgekehrt.

Kapitel 11

11.1 Die Darstellung der Scherung in Abbildung 11.1 wurde speziell zur Beschreibung der Deformation weicher, stark dehnbarer Materialien (wie Polymernetzwerke und Gummi) eingeführt. Man überzeuge sich davon, dass die obige Definition der Scherung in Abbildung 11.1a und deren übliche Darstellung durch den Scherwinkel Θ äquivalent sind. *Hilfe:* Man betrachte dazu die Deformation eines in das Ursprungsquadrat der Abb. 11.1 eingeschlossenen Quadrats, das gegenüber dem ersteren um 45° gedreht wurde und durch die Scherdeformation in eine Raute umgewandelt wird.

11.2 a) Eine wichtige und hilfreiche Näherung zur Beschreibung der Deformation von Kugelschalen: Man zeige, dass für kleine Auslenkungen δu einer Kugelschale (Radius R) die erste und zweite Ableitung der Deformation nach dem Ort von der Größenordnung $du/dx \sim u/R$ und $d^2u/dx^2 \sim u/R^2$ werden.

Hilfe: Man betrachte dazu eine Kugelschale, die an einer Stelle abgeflacht ist, sodass der Radius um u verkürzt wird und eine ebene Scheibe mit dem Radius a entsteht. Dann wird $du/dx \approx u/a$. Mit der bekannten Beziehung zwischen der Höhe einer Kugelkappe und deren Radius a folgt die obige Näherung für die erste Ableitung. Die zweite Ableitung erhält man aus der ersten durch Ableitung von du/dx nach R . *Hilfe:* Gleichungen zur Geometrie der Kugelkappen findet man in [21].

b) Man berechne die relative Dehnung einer Kugelschale (Radius R), wenn man den Radius um das Inkrement ζ vergrößert. Man beachte, dass man sich auf die Betrachtung des Äquators beschränken kann. Wie weit steht ein Ring um den Äquator von der Erdoberfläche ab, wenn man ihn um einen Meter verlängert?

11.3 Aufgabe zum Flächen-Differenz-Modell (Gl. 11.7a). Wie groß ist die Flächen-differenz ΔA_0 zwischen der äußeren und inneren Monoschicht, wenn wir (in einem Gedankenexperiment) aus einer planaren Doppelschicht ein geschlossenes Vesikel formen und zwar so, dass die Flächendichte der Lipide in den beiden Monoschichten erhalten bleibt? Siehe dazu Abbildung 11.4.

b) Welche Form würde ein Vesikel annehmen, das aus einer planaren Membran der Fläche A_0 entsteht, wenn dabei die Flächendichten der Lipide in den beiden

Monoschichten konstant bleiben sollen? Wie kann das Vesikel zum thermodynamischen Gleichgewicht zurückkehren (s. Abb. 11.4)?

11.4 Zum Vergleich biologischer und technischer Materialien: Wie dünn müsste man eine Goldfolie machen, damit sie die Biegesteifigkeit der Endothelzellen besitzt? Die Biegesteifigkeit der Zellen ist $\kappa \sim 1000 k_B T$. Der Young-Modul von Gold ist: $E \sim 10^{12}$ Pa. *Hilfe:* Benutzen Sie Gleichung (11.6).

11.5 Eine Membran werde lokal ausgebeult, sodass eine Kugelkappe mit dem Krümmungsradius R entsteht. Wie lautet die La Place-Gleichung der Membranspannung an der Spitze der Kappen (Radius R)? Man betrachte den Fall einer isotropen lateraler Spannung. Wie ändert sich die Gleichung, falls die Krümmung nicht isotrop ist? Schätzen Sie die rücktreibende Kraft der Spannung ab, für $R \approx 0,1 \mu\text{m}$ und $\sigma \approx 10^{-4} \text{ mN m}^{-1}$.

11.6 a) Man beweise Gleichung (11.13) durch Einsetzen des Ausdrucks $u(r, t)$ in G_{ela} .

Man beachte, dass die Membran eben ist und die thermischen Anregungen als stehende ebene Welle dargestellt werden können.

b) Bei welcher Wellenlänge findet der Übergang von dem durch die Biegeelastizität zu dem durch die Spannung bestimmten Regime der Gleichung (11.12) statt? Welches System von Eigenfunktionen muss man wählen, um die thermische Anregung von geschlossenen sphärischen Schalen wie Vesikeln zu beschreiben? *Hilfe:* [22].

Kapitel 12

12.1 Man konstruiere den zigarrenförmigen Bereich der Fest-Flüssig-Koexistenz einer Lipidmischung aus DMPC mit $T_{m1} = 23^\circ\text{C}$ und DPPC, $T_{m2} = 42^\circ\text{C}$. Die Mischung sei in beiden Phasen ideal: $w_{1,2} = 0$. Eine qualitative Betrachtung ist völlig ausreichend. Wie würde das Phasendiagramm aussehen, wenn die beiden Übergangstemperaturen gleich wären? *Hilfe:* Man betrachte die freie Energie der Mischung (Gl. 12.3) für jede Phase (L_α, L_β) und trage diese als Funktion des Molenbruchs einer der Komponenten auf. Man überlege dabei, welche Form die Kurven der freien Energie haben und wie sie sich bei Änderung der Temperatur verhalten. Man bestimme dann die Koexistenzgrenzen mit der Bedingung $\mu_i^\alpha(x, T) = \mu_i^\beta(x, T)$. Weitere Hilfe und Referenzen findet man in Anhang 12.B oder in dem Übersichtsartikel von [23].

12.2 a) Wie kann man die Liquidus und Solidus-Linie mittels Kalorimetrie bestimmen? Welche (qualitative) Form hat das C_p - T -Diagramm der DMPC/DPPC-Mischung bei $x_{\text{DPPC}} \approx 0,5$?

12.3 Man illustriere die Entstehung eines eutektischen Punktes (Koexistenz dreier Phasen in einem Punkt des T - x -Phasendiagramms) anhand eines $\Delta G_{\text{mix}}-x_B$ -Energieschemas (Abb. 12.A.1).

12.4 Zum Aufbau von Membranmodellen: Um Proteine in Modellmembranen einzubauen, löst man diese zuerst aus der natürlichen Membran mittels Detergenzien (z. B. Fettsäuren oder Cholat) heraus. Danach transferiert man die solubilisierten Proteine wieder in die Membran. Man benutzt dazu z. B. die Dialyse. Dazu solubilisiert man die Phospholipide ebenfalls mit denselben Detergentien und transferiert beide Komponenten in ein sehr großes Volumen aus dem reinen Puffer, oder erneuert den Puffer ständig durch Dialyse.

a) Wie stellen Sie sich die Struktur eines mit Fettsäure aus einer Membran herausgelösten, integralen Proteins vor?

b) Weshalb entstehen bei der Dialyse Vesikel mit eingebauten Proteinen durch Selbstorganisation?

Hilfe: Man beachte für die erste Frage, dass die Fettsäuren amphiphil sind. Zur Beantwortung der zweiten Frage vergleiche man die kritischen Mizellkonzentrationen der Phospholipide und der Detergenzien.

12.5 Fragen zur spontanen Porenbildung in Vesikeln-Schalen

a) Warum können wir die Biegeenergie in Gleichung (12.7) vernachlässigen?

b) In Gleichung (12.6) wurde angenommen, dass die Membranspannung σ allein durch die Ondulationen bestimmt (nach Gl. 11.14) und daher klein ist. Wie ändert sich die Gleichung, wenn wir eine endliche Dehnung der Schale vor der Porenbildung berücksichtigen? K sei der Kompressionsmodul. Welche Konsequenz hat die Erhöhung der Membranspannung?

c) Man trage die Energie der Poren als Funktion des Radius auf. Man berechne den kritischen Radius für einen Wert von $\sigma \approx 1 \text{ mN m}^{-1}$ und $\Gamma = 7,3 \text{ pN}$.

Hilfreiche Literatur: [24] und [25].

Kapitel 13

13.1 Man vergleiche die Wechselwirkungsenergie der van der Waals- und der Ondulationskräfte einer Lipidmembran und eines Erythrozyten mit einer Glasoberfläche im Abstand von 15 nm. Die Hamaker-Konstante (s. Gl. 11.18) der Wechselwirkung zwischen einer Lipidschicht und Glas beträgt $H \approx 8 \cdot 10^{-21} \text{ J}$ (oder ca. $2 k_B T$). Eine hilfreiche Zusammenstellung von Hamaker-Konstanten für die Grenzflächen-Wechselwirkungen findet man in der Monografie: [26, 27].

13.2 Zur Herstellung festkörpergestützter Membranen durch Fusion der Vesikel mit Festkörperoberflächen: Erhöht man die freie Adhäsionsenergie W (Dimension $\text{J} \cdot \text{m}^{-2}$) eines Vesikels (die gleich dessen Spreitdruck ist), so wächst nach Gl. (13.2) die Spannung σ in der Membran, die dadurch gedehnt wird. Da Membranen oberhalb eines kritischen Werts σ^* instabil werden, platzen die adhärenenden Vesikel oder Zellen oberhalb einer kritischen Adhäsionsenergie W_c . Man benutzt diesen Effekt zur Übertragung von Membranen auf Festkörper. Diese dienen zur Herstellung von Modellen biologischer Membranen auf Halbleiter-Bauelementen zum Bau von Biosensoren. Es ist $\sigma^* \sim 5 \text{ mN m}^{-1}$ für reine Lipidvesikel.

a) Man berechne W_c . *Hilfe:* Nach Gl. (13.2) induziert die Adhäsion eine laterale Spannung in der Membran. Man gehe von der durch die Adhäsion induzierten Expansionsenergie der Membran $\Delta G = K (A - A_0)^2 / 2A_0$ aus, wobei K der Flächen-Kompressionsmodul ist. Man beachte, dass die aus ΔG nach $\sigma = \partial \Delta G / \partial A$ berechnete Spannung gleich der freien Adhäsionsenergie ist.

b) Zur Erzeugung starker Adhäsionskräfte dekoriert man die Oberflächen mit dem Protein Streptavidin (als Rezeptor) und dotiert die Vesikel mit Lipiden, deren Köpfe Biotin (als Ligand) tragen. Die Bindeenergie pro Rezeptor-Liganden-Paar beträgt $w \approx 30 k_B T$ ($\approx 1,2 \cdot 10^{-19}$ J). Man berechne die Flächendichte ϱ^* der Rezeptur-Liganden-Paare, bei denen Vesikel aus reinen Lipiden platzen und eine adsorbierte Doppelschicht auf der Oberfläche bilden. Für reine Lipidvesikel (z. B. aus DMPC) ist der Kompressionsmodul $K \approx 700 \text{ mN m}^{-1}$, die maximale Spannung: $\sigma^* \approx 5 \text{ mN m}^{-1}$ und die maximale Flächendehnung $(dA/A_0)^* = 0,03$. Antwort zu b): $\varrho^* \approx 5 \cdot 10^{16} \text{ m}^{-2}$ oder 5 mol %

Zusatzfrage: Was kann man tun, um das Platzen der Vesikel zu verhindern? Experimente zum Spreiten von Membranen findet man in [27].

13.3 Man leite Gleichung (13. 3c) ab, indem man die Arbeit $\delta G(M) \sim M \delta \Theta \delta x$ betrachte, welche das Drehmoment M bei einer Verschiebung der Kontaktlinie um δx leisten muss. Man beachte dass $\delta G(M)$ gleich der bei dem Prozess verlorenen freien Oberflächenenergie ist. Woher kommt der Faktor 2 im Nenner?

Hilfe: [28]

Kapitel 14

14.1 Man leite für das Diffusionspotential Gleichung (14.13b) unter Berücksichtigung von Gleichung (14.4) für den Strom durch die Membran ab.

14.2 Das historische Helmholtz-Experiment der Messung der Geschwindigkeit der Nervenimpulse: Überlegen Sie eine einfache Versuchsanordnung. *Hilfe:* Helmholtz führte das Experiment an einem Froschmuskel aus, indem er die Muskelfaser und das Axon eines motorischen Neurons freilegte (vergleiche Abb. 14.2). Er erregte das Axon des motorischen Neurons an verschiedenen Stellen und bestimmte die Zeitdifferenz zwischen der Erregung des Neurons (im Abstand x von der Synapse) und der Kontraktion des Muskels. Zur Messung der Zeitdifferenz benutzte Helmholtz die Idee, dass der Ausschlag eines ballistischen Galvanometers von der Zeitdauer des Stromflusses abhängt. Er unterbrach den Stromkreis, indem er die Verkürzung des Muskels ausnutzte, und konnte so die Zeitdifferenz zwischen der Erregung und der Kontraktion messen. Sie können sich eine modernere Methode zur Messung der Zeitdifferenz ausdenken, obwohl die Benutzung des ballistischen Galvanometers eine besonders geniale Idee war. *Man beachte:* Helmholtz dachte sich das Experiment mit 29 Jahren aus. Literatur zur Geschichte: [29].

14.3 Zur Dynamik der Synapsen: Um die Öffnungszeiten der Rezeptoren der postsynaptischen Membran möglichst kurz zu halten, befinden sich im synaptischen Spalt Acetylcholin abbauende Enzyme (Diesterasen), welche den Transmit-

ter in ca. 0,1 msec abbauen. Schätzen Sie ab, wie lange es dauert, bis die lokale Erhöhung der Transmitterkonzentration durch Diffusion ausgeglichen wird. Die Breite der Synapse sei 50 nm. Die Viskosität der Flüssigkeit im Spalt ist etwa zehnmal größer als die von Wasser. $\eta_{\text{eff}} \sim 10^{-2}$ Pa sec. Der Diffusionskoeffizient des Transmitters in Wasser ist $D \approx 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$.

14.4 Eine Methode zur Beobachtung der Ca^{2+} -induzierten Fusion synaptischer Vesikel mit der prä-synaptischen Membran. Anwendung photoschaltbarer Botenstoffe: eine allgemeine photophysikalische Methode zur schnellen Stimulation zellulärer Prozesse. Die Methode beruht auf der Verwendung „gefangener Verbindungen“ (engl. caged compounds). Die Botenstoffe (wie z. B. cAMP) werden kovalent an organische Moleküle angekoppelt, während Ionen (wie Ca^{2+} oder Mg^{2+}) durch Chelat-Bildner gefangen werden. Die gefangenen Botenstoffe werden lokal durch Lichtblitze freigesetzt.

Skizzieren Sie ein Experiment zur Verwendung von gefangenem Ca^{2+} um nachzuweisen, dass elektrische und Ca^{2+} -induzierte Depolarisationen der post-synaptischen Membran dieselbe Spannungsänderung hervorrufen. Versuchen Sie zunächst ein Experiment ohne Studium der Literatur zu konzipieren (evtl. unter Verwendung von Abb. 20. 2). Beachten Sie, dass man Farbstoffe in Zellen durch Mikropipetten injizieren kann.

Zusatzfrage: Was löst den Einstrom von Ca^{2+} unter physiologischen Bedingungen aus? *Hilfe:* [30] und [31] Chapter 11.

14.5 Zum Gesetz der quantisierten Ausschüttung durch Fusion synaptischer Vesikel: Ein wesentlicher Schritt zum Verständnis der Signalübertragung an Synapsen war die Entdeckung, dass die postsynaptische Membran nur dann erregt wird, wenn eine minimale Zahl von Transmittermolekülen gleichzeitig ausgeschüttet wird. Dieses Quantengesetz der Signalübertragung an Synapsen wurde durch eine elegante statistische Analyse der postsynaptischen Spannungsänderungen durch die Arbeitsgruppe von B. Katz nachgewiesen.

Beschreiben Sie die Experimente von Katz und versuchen Sie, seine Gedankengänge nachzuvollziehen. *Hilfe:* [31] Chapter 11 und [38].

Kapitel 15

15.1 Zur Messung der Membrankapazität C_m mittels Fleckenklammer-Technik (PCT) und eine Anwendung zur Beobachtung der Fusion der synaptischen Vesikel: Wie in der Elektrotechnik üblich, bestimmt man die Kapazität der Membranen (C_m) durch Messung des durch eine periodische Spannung induzierten Stromes, wobei man unter der Bedingung der Spannungsklammer arbeitet. Bei hohen Frequenzen ist der Strom im Wesentlichen durch C_m bestimmt. Die Messung wird jedoch durch die parallele Leitfähigkeit g der Ionenkanäle sowie die Kapazität der Zuleitungen modifiziert. Eine elegante und sehr empfindliche Methode wurde von Neher und Mitarbeitern entwickelt. Sie basiert auf der Anwendung der Methode der phasenempfindlichen Gleichrichtung zur Messung der frequenzabhängigen Impedanz. Dabei benutzt man die in Abschnitt 15.2 gezeigte PCT-Anordnung.

Leiten Sie die Gleichung für die frequenzabhängige Leitfähigkeit $Y(\omega)$ ab. ($Y(\omega)$ wird auch Admittanz oder komplexer Leitwert genannt.) Zur Vereinfachung vernachlässigen Sie die Zuleitungswiderstände. Berücksichtigen Sie aber die zusätzliche Leitfähigkeit der Pipette und des Elektrolyten unter der Annahme, dass diese Beiträge in Serie mit der Membranleitfähigkeit geschaltet sind. *Hilfe:* Zeichnen Sie zunächst ein Ersatzschaltbild der Messanordnung. Zeigen Sie dann, dass die komplexe Admittanz gegeben ist durch:

$$Y(\omega) = \frac{G_s(G + i\omega C_m)}{G_s + G + i\omega C_m} = B(\omega)(G + i\omega C_m)$$

Berechnen Sie zunächst den komplexen Widerstand R^* des Ersatzschaltbildes

$$R^* = G_s^{-1} + \frac{G^{-1}}{1 + \omega C_m G^{-1}}$$

Sie erhalten die obere Gleichung nach einer kurzen Umrechnung.

Zusatzaufgabe: Zeigen Sie, dass man für hohe Frequenzen die Kanalleitfähigkeit G_s vernachlässigen kann. Zeigen Sie dies durch Ableitung der Gleichung für R^* nach C_m . *Hilfe:* [32].

Zwei wichtige Bemerkungen: Die Methode kann dazu benutzt werden, die Fusion kleiner Vesikel mit der Plasmamembran während der Exozytose in Echtzeit zu messen. Mit dem Problem der Messung sehr kleiner Membrankapazitäten hat man es auch bei der Messung der nichtlinearen Kapazität der Haarzellen zu tun. Eine besonders elegante Methode zur Behandlung dieses Problems wurde von Huang und Sancho-Sacchi entwickelt [37].

15.2 Anwendung der elektrischen Impedanzspektroskopie zur Messung elektrischer Eigenschaften von Membranen und Aufbau von Biosensoren auf der Basis festkörpergestützter Membranen (s. Kapitel 9) auf Halbleiter-Bauelementen oder mit Indium-Zinn-beschichteten Glaträgern. Die Membranen werden durch Fusion von Vesikeln (mit eingebauten Ionenkanälen) übertragen. Das System besteht aus drei Schichten: (i) der Halbleiteroberfläche, (ii) dem ca. 10 nm dicken Wasserfilm zwischen Halbleiter (Indium-Zinnoxid oder Gold) und der Membran, (iii) der Membran mit den Ionenkanälen und dem äußeren Elektrolyten. Die elektrische Eigenschaft jeder Schicht kann durch eine parallele Anordnung aus einem Widerstand und einer Kapazität charakterisiert werden. Man zeige, dass für jede Schicht einen Term $Z_i = \frac{R_i - i\omega C_i R_i}{(1 + 2\pi C_i R_i)^2}$ zur gesamten Impedanz Z_i beiträgt. Wie sieht eine Impedanzspektrum aus, wenn die Relaxationszeiten der Schichten $\tau = C/R$ um ca eine Frequenzdekade getrennt sind und die Membran einen guten Isolator darstellt? Wie ändert sich die Form des Spektrums, wenn die Membranleitfähigkeit durch Einbau von Ionenkanälen erhöht wird? *Hilfe:* [33, 34]. *Zusatzbemerkung:* Man kann die Methode auch in der Zellbiologie anwenden, um die Permeabilität von konfluenten Endothelzellschichten und deren Modifikation durch Hormone (Histidin) und Arzneistoffe mit hoher Empfindlichkeit zu bestimmen. Literatur dazu findet man in [35] und in [36].

15.3 Man begründe Gleichung (15.A.7) durch Betrachtung eines chemischen Gleichgewichts, bei dem gleichzeitig n Partner an ein Enzym binden.

Kapitel 16

16.1 Man begründe die Gleichung (16.3). Man betrachte dazu ein Stück Axon der Länge dx und wende das erste Kirchhoffsche Gesetz der Strombilanz ($\partial I/\partial x dx = I_m$) und das Ohmsche Gesetz der Leitung im Axon ($\partial V/\partial x = I_i R_m$, mit $[I_m] = \text{Amp. cm}^{-1}$) an. *Hilfe:* Text zu Kapitel 16.

16.2 Skizzieren Sie das Experiment von Huxley und Stämpfli. *Hilfe:* Man legt den Nervenleiter in eine Anordnung aus drei Kompartimenten, die etwa so breit sind wie eine Myelinhülle und durch Luftspalte getrennt sind. Man misst den durch das Aktionspotenzial im linken Kompartiment ausgelösten Strom vom mittleren zum linken Kompartiment, der über einen Leiter durch den Außenraum fließt. Man positioniert den Schnürring einmal im mittleren und einmal im linken Luftspalt und beobachtet den Stromverlauf während des Aktionspotenzials. Welchen Unterschied im Stromverlauf erwarten Sie? *Hilfe:* [31] Chapter 7.

16.3 Erklären Sie die Strom-Spannungs-Kennlinie der Tunneldiode. Was unterscheidet die Tunneldiode von der normalen Diode? Welcher Parameter bestimmt den Bereich der negativen Steigung der Strom-Spannungs-Kennlinie?

Hilfe: Glossar.

16.4 Warum sind Bereiche mit negativen Steigungen der Strom-Spannungs-Kennlinien instabil? Kennen Sie Beispiele aus dem Physikunterricht? Wenn nicht, sehen Sie sich die Funktion der Bogenlampe an. Welche Kennlinie betrachtet man in diesem Fall?

16.5 Ein Ausflug in die Physiologie der Navigation: Der Kompass der Wüstenameise. Ein faszinierendes, von Physikern noch wenig beachtetes Gebiet ist die Navigation im Tierreich. Ein gut untersuchtes Beispiel ist die der Wüstenameisen. Sie kann sich auf der Suche nach Nahrung in der Wüste über 100 m vom Nest entfernen und findet problemlos wieder heim. Die Facettenaugen der Ameise besitzen Anordnungen von Polarisatoren mit denen sie die Polarisation, des Himmelslichts analysiert, um die Position des Nestes festzustellen. Andererseits können sich Ameisen bekanntlich auch durch Markierung des zurückgelegten Weges mit Duftstoffen orientieren.

a) Warum kann man mit Polarisatoren die Richtung der Sonne, d. h. den Sonnenstand feststellen?

b) Wie könnte man feststellen, ob die Ameise nicht doch Duftstoffe zur Navigation benutzt?

c) Die Polarisatoren werden durch regelmäßige Anordnungen der Sehzellen gebildet. Welche Eigenschaft des Farbstoffs Rhodopsin wird dabei ausgenutzt?

Betrachten Sie zuerst den physikalischen Hintergrund der Polarisation des Himmelslichts. Wie sieht die Verteilung der Polarisation des Himmelslichts am Horizont aus? Wie ändert sie sich als Funktion der Position des Beobachters?

Zur Beantwortung der zweiten Frage sollten Sie beachten, dass die Ameise bei der Nahrungssuche nahezu statistisch umherirrt. [31, 38]. *Bemerkung:* Es gibt die interessante Idee, dass die Wikinger durch Verwendung natürlicher Polarisatoren ebenfalls die Polarisation des Himmelslichts zur Navigation ausnutzten.

Kapitel 17:

17.1 Magnetokardiografie und Magnetoenzephalografie: neue Methoden der Medizinischen Physik zur Analyse der Herzaktivität und der Gehirnströme. Bildgebende Verfahren spielen eine wichtige Rolle in der modernen medizinischen Diagnostik. Dabei werden neben der Röntgentomografie und der im Glossar beschriebenen PET zunehmend auch magnetische Methoden wie die NMR-Tomografie und die Magnetokardiografie (MKG) eingesetzt. Die Messung der durch die Erregung der Herzmuskeln und der Gehirnströme erzeugten Magnetfelder wurde durch die Entwicklung der SQUID-Magnetometer möglich. Beschreiben Sie diese Methode zur Messung sehr schwacher Magnetfelder.

a) Machen Sie sich zunächst mit der Grundlage der Messung schwacher Magnetfelder mit dem SQUID-Magnetometer vertraut.

b) Überlegen Sie, wie man den Einfluss von Streufeldern reduzieren kann. Dies ist notwendig, da das magnetische Erdfeld (mit $B = 5 \cdot 10^7$ pTesla) und die durch den Verkehr und elektrische Leitungen erzeugten Streufelder (rund 10^3 pTesla) um Größenordnungen stärker sind als die durch die Herzkontraktion und Gehirnströme erzeugten. Diese liegen zwischen 0,1 und 100 pTesla. Eine elegante Methode zur Registrierung der sehr schwachen, fluktuierenden Magnetfelder besteht in der Kompensation der Streufelder durch Verwendung von Gradientenspulen (auch Gadiometer genannt), die nur Gradienten des Feldes messen. Das Gadiometer besteht aus zwei Spulen, die so angeordnet sind, dass die in diesen induzierten Magnetfelder entgegengerichtet sind und der resultierende Strom proportional zum Gradienten des lokalen Magnetfeldes ist.

c) Die Magnetfelder werden durch Ionenströme in den Nervenleitern erzeugt. Welche räumliche Verteilung der Feldlinien bzw. Gradienten der Feldstärke erwartet man in der Nähe der Körperoberfläche? Vergleichen Sie diese Gradienten mit den durch das Erdfeld oder Oberleitungen der Straßenbahn erzeugten.

Überlegen Sie, weshalb dadurch die Streufelder ausgeschaltet werden. Bedenken Sie dabei, dass das Magnetfeld durch lokale Ionenflüsse erzeugt wird, die sogenannte Stromdipole bilden. *Hilfe:* [76].

Kapitel 18

18.1 Zur Krafterzeugung durch Aktin-Polymerisation: Wie groß ist die Kraft, die notwendig ist, um *Listeria*-Bakterien mit $v = 2 \mu\text{m sec}^{-1}$ durch Wasser zu treiben (s. Abb. 18.13)? Nehmen Sie an, das Bakterium sei kugelförmig (Durchmesser $1 \mu\text{m}$).

18.2 Man begründe die im Text angegebene Gleichung $\xi \leq \sqrt{f_p A / F}$. *Hilfe:* Man beachte, dass ein Querschnitt A durch das Pseudopod $n \approx A / \xi^2$ Filamente enthält, die in Richtung der Vortriebskraft zeigen.

Kapitel 19

19.1 Funktion der optischen Pinzetten: Die optische Pinzette beruht auf der Kraft, die das anisotrope elektrische Feld eines fokussierten Lichtstrahls auf kolloidale Partikel ausübt. Man kann die Kraft auf die Partikel durch den Strahlungsdruck des Lichts erklären oder durch Betrachtung der Wirkung des anisotropen elektrischer Feldes des Lichtstrahls auf polarisierbare Partikel. Erklären Sie die Entstehung der Kraft mit beiden Betrachtungsweisen.

Hilfe: Betrachten Sie im ersten Fall die Impulsübertragung zweier Randstrahlen des auf das Teilchen treffenden fokussierten Lichts, indem Sie deren Brechung an der Oberfläche des Partikels analysieren. Skizzieren Sie die Strahlengänge. Zeigen Sie (anhand einer Skizze der Strahlengänge), unter welchen Bedingungen das Partikel in der optischen Falle gefangen wird und wie Kräfte in alle drei Raumrichtungen ausgeübt werden können. Im zweiten Fall überlegen Sie, wie groß die Kraft auf polarisierbare Teilchen in inhomogenen elektrischen Feldern ist.

Zusatzfrage: Wie ändert sich die Situation, wenn der Brechungsindex des Partikels kleiner ist als der des umgebenden Mediums (Situation einer Luftblase in Wasser). *Hilfe:* Benutzen Sie die Clausius-Massotti-Gleichung der Polarisierbarkeit der Materie.

19.2 Wie groß ist die Kraft eines Lasers mit 1 Watt Leistung, der auf eine Goldkugel von $1 \mu\text{m}$ Durchmesser fokussiert wird? Wie ändert sich Kraft, wenn die Kugel aus Glas ist? Wie verhält sich eine Luftblase in Wasser?

19.3 Kraftmessung mit magnetischen Pinzetten: Nehmen Sie an, Sie müssten ein Kraftmikroskop mit magnetischen Partikeln bauen, mit dem Sie entweder (berührungsfrei) Hebekräfte auf Motoren ausüben könnten, die auf Aktin-Filamenten laufen, oder mit dem Sie die Adhäsionskräfte von kolloidalen Sonden auf Festkörpern messen könnten. Benutzen Sie dazu superparamagnetische Kügelchen (sog. Dynabeads). Zur Erzeugung der Felder benutzen Sie Spulen mit Eisenkern. Welche Art von Magnetfelder erzeugen Sie und wie? Was müssen Sie beachten, um die Kraft als Funktion der magnetischen Feldstärke (in relativen Einheiten) zu berechnen? Wie könnten Sie die Kräfte als Funktion des Abstandes zwischen Sonde im Experiment messen? Wie könnten Sie im Mikroskop die Entbindung durch Beobachtung der Form des Beugungsscheibchens der kolloidalen Sonde beobachten?

Hilfe: (i) Beachten Sie zuerst, dass es sich bei den Kraftsonden um Latexkügelchen handelt, die sehr kleine ferromagnetische Partikel enthalten, die in der Polymermatrix der Latexkugeln frei rotieren. (ii) Zur Beobachtung der Entbindung messen Sie die Breite des Beugungsscheibchens der Sonde, wobei Sie zu Beginn des Experiments den Fokus auf optimale Schärfe einstellen. (iii) Zur Messung des Absolutwertes der Kraft beobachtet Sie die Bewegung der Sonde in einer zähen Flüssigkeit. *Hilfen:* [40].

19.4 Beweisen Sie die Gleichung (19.3). Dies kann auf zwei Weisen erfolgen. Durch Konvolution zweier Exponentialfunktionen: $A \exp\{-k_1 t\}$ und $B \exp\{-k_2 t\}$ oder durch Lösung der chemischen Reaktionsgleichung der Bildung einer Spezies A aus einer Spezies B, wobei A nur in B umgewandelt wird. Beachten Sie dabei, dass die einzelnen Reaktionen des Arbeitszyklus der Motoren nur in eine Richtung verlaufen. *Hilfe zum Lösungsweg 2:* Berechnen Sie die Konvolution der Exponentialfunktionen zwischen $t = 0$ und $t = t$. *Referenz:* [41].

19.5 Hochauflösende Experimente mit Fluoreszenzanregung in Totalreflexion (Total internal reflection fluorescence, TIRF). Anwendung: Beobachtung der Hand-über-Hand-Bewegung der Myosin V-Motoren.

a) Beschreiben Sie die physikalischen Grundlagen der TIRF-Methode und skizzieren Sie eine Anordnung zur Anregung der Fluoreszenzsonden unter Totalreflexion für Untersuchungen mit dem Mikroskop. Versuchen Sie es zunächst ohne Literaturstudium. Wie weit dringt eine Welle in das optisch dünnere Medium (Brechungsindex n_2) ein? Wie groß ist die Eindringtiefe an der Glas-Wasser-Grenzfläche für $\lambda \approx 500$ nm *Hilfe:* Die Eindringtiefe ist durch die Londonsche Gleichung bestimmt: $2\pi d_e = \lambda(n_1^2 \sin^2 \vartheta_1 - n_2^2)^{-1}$. Eine einfache Beschreibung der Methode findet man in [42].

b) Beschreiben Sie die Anwendung der TIRF-Methode zur hochaufgelösten Untersuchung der Bewegung der Arme des Myosin V mit Nanometer-Auflösung durch [43]. Beantworten Sie folgende Fragen: (i) Wie werden die Arme des Motors mit Fluoreszenz-Sonden markiert. (ii) Wie kann man die Position der Sonden mit einer Auflösung von ca. 2 nm bestimmen? Diese Auflösung ist um einen Faktor 100 besser ist als die nach dem Rayleigh-Kriterium der Auflösung des Mikroskops erwartete. Betrachten Sie dazu die optische Transferfunktion einer Punktquelle und überlegen Sie, weshalb man das Bild eines fluoreszierenden Moleküls als Gauß-Verteilung darstellen kann. *Hilfe:* Man findet eine gute Definition der optischen Transferfunktion in Wikipedia. Eine Beschreibung der Methode zur Verbesserung der Genauigkeit der Positionsbestimmung findet man in [43, 44] und in Kapitel 37.

Zusatzfrage: Welche neuen Erkenntnisse brachte das Experiment von Yildiz *et al.*?

Kapitel 20

20.1 Beschreiben Sie die Unterschiede der Mechanismen der Muskelkontraktion im Skelettmuskel und in der glatten Muskulatur. Wie unterscheidet sich das Verhalten bezüglich der Geschwindigkeit? Weshalb besteht dieser Unterschied?

Wie kann die Kontraktion der intrazellulären Mikromuskeln eine Kontraktion der ganzen Zelle bewirken? *Hilfe:* Betrachten Sie die unterschiedlichen Mechanismen der Aktivierung der Muskelkontraktion im Skelettmuskel und in glatten Muskelzellen. Information und Literatur: Abschnitt 28.5 und die Monografie von Pollard und Earnshaw [45] und Schmidt *et al.* [46].

20.2 Beschreiben Sie die Rolle des Aktin-Myosin-Motors bei der Trennung der Zellen während der Zytokinese.

Kapitel 21

21.1 Zum Protonenantrieb der Bakterien: Man bestimme den pH-Wert, bei dem sich das elektrische Potenzial und die pH-Differenz kompensieren.

21.2 Zum Zwei-Zustands-Modell des Rotationsmotors. Wir haben in Abschnitt 21.5 festgestellt, dass die beiden Drehrichtungen des Rotationsmotors zwei thermodynamisch stabilen Zuständen der Freien Energie ΔG_{UZ} und ΔG_{GUZ} entsprechen. Bei 37°C ist die Bruchteil der Zeit, in welcher der Motor in GUZ-Richtung rotiert (d. h. taumelt), $r \sim 0,01$. Erniedrigt man die Temperatur auf -1°C so wird $r \approx 1/2$, d. h. es wird $\delta\Delta G = \Delta G_{UZ} - \Delta G_{GUZ} = 0$. Schätzen Sie aus dieser Beobachtung ab, wie groß der Unterschied der Freien Energie bei 37°C ist. *Hilfe:* Text in Abschnitt 21.5 sowie [47] und [48].

21.3 Zur Änderung der Form der Flagellen durch Festkörperumwandlung. Man beweise Gleichung (21.5) durch Berechnung der Differenz Δs als Funktion des Radius R der Helix. Man benutze dazu die Gleichung (21.4) (rechte Seite) für die Länge der Filamente und berechne diese für das außen und innen laufende Protofilament unter Berücksichtigung der Näherung $r/p \ll 1$.

21.4 Beschreiben Sie eine Methode zur Messung des Drehmoments der Rotationsmotoren mittels magnetischer Pinzetten. Wie kann man das Drehmoment als Funktion der Last bestimmen. *Hilfe:* Gehen Sie in Analogie zu Abb. 21.3 vor.

Kapitel 24

24.1 Man beweise Gleichung (24.1), indem man den End-zu-End-Vektor \mathbf{L} aus den die Monomere verbindenden Einzelvektoren \mathbf{a}_i zusammensetzt und \mathbf{L}^2 über alle Winkel mittelt. Welche Voraussetzung muss erfüllt sein, um die Gleichung zu erhalten? Eine gute Darstellung der Berechnung von $\langle L^2 \rangle$ für den Fall der gehinderten Rotation der Segmente findet man in der Monografie von Doi und Edwards [49].

24.2 Man beweise mit Hilfe des Grenzwertsatzes (Gl. 24.2), dass $\langle L^2 \rangle$ gleich dem mittleren Radius der Kette ist.

24.3 Man beweise die Beziehung (24.17). *Hilfe:* Man beachte, dass $N_\phi \phi_m = N$ ist. *Hilfe:* Text zu Abschnitt 24.6.

24.4 Die Spinodale Entmischung: Man zeige, dass der effektive Diffusionskoeffizient D_{eff} in einer Mischung negativ werden kann, indem man von der Fickschen Definition von D ausgeht: $\partial c/\partial t = -D \partial^2 c(x, t)/\partial x^2$ und die Beziehung $d\mu/dc = (d\mu/dc)(dc/dx)$ beachtet. *Hilfe:* Man betrachte dazu Mischungen mit einer Mischungslücke (Abb. 24.4 und Anhang 12.A) und identifiziere den Bereich, in dem $d\mu/dc$ negativ wird.

Zusatzfrage: Wie ändert sich der effektive Diffusionskoeffizient bei Annäherung an die Spinodale (s. Abb 12.A.1). *Hilfe:* Gute Darstellung und Literaturangaben findet man in Wikipedia (Stichwort *spinodal decomposition*). Siehe auch Spinodale Entmischung in Membranen in [50].

Bemerkung: Die Diffusion entgegen dem Konzentrationsgradienten („Bergauf-Diffusion“) spielt eine zentrale Rolle bei der Ausbildung der Mikrostruktur von Metall-Legierungen durch homogene Entmischung.

24.5 Man berechne den osmotischen Druck sehr verdünnter Lösungen von Polymeren als Funktion der Massendichte (ρ_m) und des Molekulargewichts (MG) und zeige, dass $\Pi = RT \rho_m/MG$ ist. *Hilfe:* Kapitel 24.7.

24.6 Wie groß ist der Volumbruch für $x_m = 0,02$? Wie hängt die relative Luftfeuchte mit p_1/p_1^0 zusammen?

24.7 Deformation eines Polymers (aus $N = 10^4$ Monomeren und $a = 0,2$ nm) im elektrischen Feld. Ein Polymer trage an den Enden entgegengesetzte Ladungen ($\pm e$) und befinde sich in einem elektrischen Feld mit $V = 3 \times 10^6$ Vm $^{-1}$. Wie groß ist die relative Verlängerung r/R . Gehen Sie von einer idealen Kette der Kraftkonstante der Entropiefeder $k \approx \frac{k_B T}{a^2}$ aus.

Kapitel 25

25.1 Analyse der Reptationsbewegung von Aktin-Filamenten in Netzwerken und Visualisierung der Reptationsröhre [51].

a) Wie lange benötigt ein Filament, um sich aus seiner Röhre der Länge L durch Diffusion zu befreien?

b) Die Verteilung der Sättigungswerte der mittleren quadratischen Verschiebung in Richtung senkrecht zur Röhrenachse der η -Achse kann durch eine Gauß-Funktion der Form $P(\Delta\eta^2) = P_0 \exp\{-a(\eta - \eta_0)^2\}$ angenähert werden. Welche Form hat das Potenzial? Wie groß ist die Kraft auf das Filament, wenn es an die Wand der Röhre stößt? *Hilfe:* [51].

25.2 Zum Auflösungsvermögen kolloidalen Kraftmikroskopie (in Aufgabe 25.1) auf der Basis der Partikelverfolgung: Bei der hochaufgelösten Verfolgung von kolloidalen Sonden (mit Durchmessern klein gegen die Wellenlänge des Lichts) kann man deren Position in der Bildebene mit 5–10 nm Auflösung bestimmen. Erklären Sie diese starke Verbesserung der Auflösung gegenüber dem Auflösungsvermögen des Mikroskops. Betrachten Sie dazu die Form der optischen Transferfunktion. Welche Form hat diese? Warum benutzt man am besten Gold-

partikel? *Hilfe*: Wikipedia, Stichwort *Point spread function*. Siehe auch Anwendung der Methode zur Partikelverfolgung mit fluoreszierenden kolloidalen Sonden, Aufgabe 19.5 und Abschnitt 37.3.5.

25.3 Anwendung von Polymerfilmen: Schutzfunktion der Glykokalix der Zellen gegen das Eindringen von Parasiten. Reibungsminderung durch Polymerfilme: ein Trick der Delphine. Die Glykokalix dient u. a. dem Schutz der Zellen vor dem Eindringen von Bakterien und Viren. Die Schutzfunktion beruht auf der von Polymerfilmen erzeugten entropischen Abstoßungskraft, welche den Kontakt der Pathogene mit den Zelladhäsionsmolekülen behindert, die in der Regel in der Glykokalix versteckt sind (s. Kapitel 9 und Kapitel 13).

Man kann diese repulsive Wechselwirkung beobachten und die Abstoßungskräfte messen, indem man die Brownsche Bewegung der Pathogene quantitativ analysiert. Man kann dazu auch kolloidale Sonden benutzen, die wie in Abb. 29.1 mit Oberflächenproteinen der Pathogene dekoriert werden. Zur Imitation natürlicher Bedingungen kann man diese Beobachtung mit auf Glasoberflächen gewachsenen Endothelzellschichten durchführen (s. Abb. 29.1).

a) Konzipieren Sie ein Experiment zur Messung des Wechselwirkungspotenzials auf der Basis des in Abbildung 11.8 gezeigten Experiments und der in Abschnitt 8.3 dargestellten Theorie der Brownschen Bewegung im Potenzial.

Hilfe: Betrachten Sie die Langevin-Gleichung der Bewegung in vertikaler Richtung für den Fall starker Dämpfung und unter der Annahme, dass das Wechselwirkungspotenzial harmonisch ist (in Analogie zu Abschnitt 11.5.2):

$$\gamma \frac{\partial h}{\partial t} + V''(h - h_0) = F_M(t)$$

wobei γ der Reibungskoeffizient, $V''(h)$ die zweite Ableitung des Potentials $V(h)$ und $F_M(t)$ die fluktuierende (thermische) Kraft ist. Die Lösung dieser Gleichung wurde ausführlich in Kapitel 8 im Frequenzraum abgeleitet. Durch Fourier-Transformation der Gleichung (8.12) folgt für die Korrelationsfunktion der Höhenfluktuationen:

$$\langle h(t)h(0) \rangle = \frac{k_B T}{V''} \exp\left\{-\frac{t}{\tau}\right\} \text{ mit } \tau = \gamma/V''$$

Eine praktische Anwendung dieser Methode zur Messung der Repulsionskraft von Filmen aus Hyaluronsäure findet man in der Publikation [52].

Zusatzfragen: Mit der Methode kann man nur Potentiale der Größenordnung $5 k_B T$ messen. Um stärkere Abstoßungskräfte (mittels AFM) zu bestimmen, können Sie die kolloidale Kraftmikroskopie auch in Kombination mit AFM anwenden. Falls die Deformation klein gegen die Schichtendicke ist, können Sie das Hertz-Modell der Deformation von Festkörpern durch konische Spitzen von Hertz anwenden. Wie lautet das Deformations-Kraft-Gesetz? *Hilfe*: [53]; siehe auch Abschnitt 1.3.5.2.

Kapitel 26

26.1 Man beweise Gleichung (26.8b) für die Kriechfunktion durch Lösen der inhomogenen Differenzialgleichung (26.6) mittels Variation der Konstanten. Nehmen Sie dabei an, dass die Scherung $\Theta(t)$ durch eine Heaviside-Funktion $H(t)$ gegeben ist.

26.2 Welche Form hat die viskoelastische Kriechfunktion (Antwort auf einen Kraftsprung) eines Maxwell-Modells und eines Voigt-Modells? Denken Sie daran, dass beim Maxwell-Modell die Deformation gleich der Summe der Deformationen der Einzelkomponenten ist. *Hilfe:* [55].

Kapitel 27

27.1 Warum rollen die weißen Blutzellen auf den Wänden der Adern? Was würde passieren, wenn die Zellen nicht leicht auf der Oberfläche des Endotheliums angeheftet wären? Wie koppeln die Blutzellen an die Endothelzellen? *Hilfe:* Beachten Sie das Strömungsprofil (Hagen-Poiseuille-Gesetz) und den Magnus Effekt.

Kapitel 30

30.1 Bei welchem fundamentalen Lebensprozess entsteht Pyruvat als Endprodukt? Was entsteht in diesem Prozess noch?

30.2 Man bestimme die Zahl der Elektronen und Protonen, die beim umsetzen eines Moleküls Glucose in Pyruvat frei werden und vergleiche diese mit den für die Produktion von ATP und NADH benötigten Zahlen.

Man bestimme dasselbe für das Schema (30.2).

30.3 Beschreiben Sie das Experiment von Diez *et al.* [56]. Zur Beobachtung der Vesikel benutze man die konfokale Mikroskopie, wie für die Experimente mittels Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie.

30.4 Man skizziere das Experiment von Rondelez *et al.* mit den Angaben des Textes in der Publikation [57]. Wie kann man rotierende Magnetfelder herstellen?

Kapitel 31

31.1 Man vergleiche die Verteilungen der π -Elektronen in dem Molekül $\text{H}_3\text{C}-\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$ nach dem FE- und dem MO-Modell (Gl. 31.5 und 31.30) im Grund- und Anregungszustand. Es reicht eine qualitative Betrachtung. *Hilfe:* Der radiale Anteil der Wellenfunktionen der p-Elektronen hat die Form $\Psi_\pi = \exp\{-r/r_B\}$

31.2 Man beweise Gleichung (31.5) durch Anwendung des Bloch-Modells des Elektronengases in Metallen.

31.3 Man zeichne ein Termschema der Porphyrinringe des Chlorophyll *b* (ohne Metall-Ion) mit 18 π -Elektronen, unter Berücksichtigung der Entartung der Zustände. Man gebe die Wellenfunktionen des obersten besetzten und des ersten Anregungszustandes an. Wie hängt die Zahl der Knoten der Wellenfunktion

mit der Quantenzahl zusammen? Wie ändert sich das Termeschema für Porphyrin mit 22 π -Elektronen. [58].

31.4 Warum ist Chlorophyll grün und Hämoglobin rot

31.5 Berechnen Sie die Wellenlänge der langwelligsten Absorption für Benzol, im Modell des freien Elektronengases. Beachten Sie, dass die Lösungen zyklische Randbedingungen erfüllen müssen. Als Abstand der Kohlenstoff-Atome können Sie die Werte der Polyene 0,140 nm, verwenden; den Umfang der Moleküle können Sie als Kreise nähern.

Zum Vergleich: Die beobachteten Werte betragen 260 nm, 310 nm, 374 nm und 472 nm. Spielt die Welligkeit der Potenziale wie im Fall der linearen Polyene eine wichtige Rolle?

31.6 Wie groß ist das Übergangsmoment einer Bande der Oszillatorenstärke $f \approx 0,25$ mit einem Maximum bei 500 nm? Wie groß ist die numerische Konstante in Gleichung (34.17), wenn die Ladung in ese Einheiten angegeben wird?

31.7 a) Man berechne den gesamten Energiefluss eines Dipolstrahlers durch Integration über den Poynting-Vektor des Hertzschen Dipols. Wie hängt die Intensität des Strahlers von der Frequenz ab?

b) Bis zu welchen Abständen reicht etwa das Nahfeld eines Dipolstrahlers, der Licht der Wellenlänge 500 nm aussendet? Man benutze Gleichung (34.29).

c) *Zusatzaufgabe:* Man nutzt die kürzere Reichweite des Nahfeldes im Nahfeldmikroskop aus, um die Auflösung zu erhöhen. Beschreiben Sie die physikalischen Grundlagen der Methode. *Hilfe:* [59].

31.8 Wie stark wird das Licht beim Durchtritt durch eine Thylakoidmembran abgeschwächt, wenn das Lambert-Beersche Gesetz gilt. Etwa 50 % der Fläche werde durch Lichtsammler-Komplexe LHC besetzt, die bei 680 nm absorbieren und einen molaren Extinktionskoeffizienten von $\epsilon \approx 70\,000$ besitzen. Wie ändert sich das Ergebnis, wenn wir annehmen, dass die Absorptionübergänge in eine Richtung polarisiert sind?

31.9 Diskutieren Sie die Absorptionsspektren von Chlorophyll *b* und β -Carotin. Bei welchen Wellenlängen liegen die elektronischen Übergänge? Können Sie Schwingungsstrukturen in den Spektren erkennen? Welchen Energien entsprechen die verschiedenen elektronischen Übergänge, welchen die Schwingungsstrukturen? Verschiebt sich die Gleichgewichtslage der Kerne in β -Carotin mit der Anregung von S_0 nach S_1 ? *Hilfe:* Anwendung des Franck-Condon Prinzips. Eine gute Sammlung von Spektren findet man in [60].

31.10 Zur Erinnerung an die Atom- und Molekülphysik: Pauling-Konzept der Hybridisierung.

a) Man skizziere die Elektronenverteilung der Valenzelektronen der C-Atome in Acetylen.

b) Wie sehen die Wellenfunktionen der sp-Hybride des bindenden und der anti-bindenden Zustände aus den 2s- und 2p_z-Elektronenfunktionen aus (z sei die Längsachse des Moleküls)?

Kapitel 32

32.1 Wie kommt der erste Faktor 17 bei der Signalverstärkung durch das Mittelohr zustande? Brauchen Fische auch eine Impedanzanpassung?

32.2 Wie von Békésy auf die Wanderwellenhypothese kam: In seiner Theorie des Hörens nahm Helmholtz an, dass die Basilarmembran (BM) aus einer Anordnung von Resonatoren mit verschiedenen Eigenfrequenzen besteht. Die Hypothese von Békésy beruhte auf der Beobachtung, dass die Phasenverschiebung zwischen der mechanischen Erregung am ovalen Fenster und der Auslenkung der BM Werte von bis zu 3π erreichen kann. Begründen Sie, weshalb die Helmholtz-Theorie deshalb falsch sein muss. *Hilfe*: Denken Sie an die erzwungene Schwingung.

32.3 Mössbauer-Spektroskopie. Skizzieren Sie ein Experiment zur Messung der Auslenkung der BM mittels Mößbauer-Spektroskopie. Wie kommt die Kurve für die Zählrate zustande? Überlegen Sie anhand des klassischen Experiments zur Aufnahme der Mößbauer-Spektren, welche physikalische Größe man mit der Methode misst und wie das Experiment aufgebaut ist.

Versuchen Sie die Grundidee der Messung von W.S. Rohde [61] in einem Gedanken-Experiment nachzuvollziehen.

Gehen Sie dabei wie folgt vor: Machen Sie sich zuerst mit der Methode der Mößbauer-Spektroskopie vertraut. Deponieren Sie die Quelle ^{57}Co auf der Basilarmembran und positionieren den (auf die Spitze eines Glasstabs geklebten) Absorber (^{57}Fe) in die Nähe der Quelle. Rhode führte den Glasstab über die Skala tympani ein. Beachten Sie als nächstes, dass das Prinzip der Messung der Linienbreite Γ der γ -Emission der Quelle darin besteht, die Zählrate der γ -Absorption des Absorbers als Funktion der Geschwindigkeit der Quelle zu bestimmen. Im Experiment erfolgte die Erregung periodisch über das Trommelfell, wodurch die Relativgeschwindigkeit zwischen Quelle und Absorber sich periodisch ändert. Zeigen Sie nun, dass bei einer periodischen Erregung der Basilarmembran der Form $z = z_0 \cos \nu t$ die Zählrate als Funktion der Frequenz ν aus zwei Lorentz-Linien der Form

$$g(\nu) = 1 - \frac{\text{konst}}{1 + (2\nu/\Gamma)^2}$$

besteht. Zur Bestimmung der Amplitude z_0 der Auslenkung der BM müssen Sie noch den Zusammenhang zwischen der Amplitude der Auslenkung und der Geschwindigkeit beachten. *Hilfe*: [62].

32.4 Dynamische Heterodyn-Interferometrie mit Laserdioden: eine elegante Methode zur Messung der Resonanzkurven der BM. Skizzieren Sie die physikalischen Grundlagen dieser Technik auf der Basis der dynamischen Heterodyn-Lichtstreuung. Beachten Sie, dass das Heterodynverfahren auf einer Überlage-

zung der einfallenden Welle $E_e(t) \propto E_{0e} \exp\{i\omega t\}$ mit der von der BM reflektierten Lichtwelle $E_r(t, \Delta\omega) \propto E_{0r} \exp\{i(\omega t + \Delta\omega t)\}$, wobei $\Delta\omega(t)$ zeitlich fluktuiert und $\Delta\omega(t) \ll \omega$ ist. Zeigen Sie zunächst, dass die Frequenzmodulation der reflektierten Welle eine Amplitudenmodulation des auf den Detektor fallenden Lichts bewirkt. Denken Sie dann daran, dass der Detektor als Tiefpass-Filter mit einer Grenzfrequenz von einigen Megahertz fungiert und die vom Detektor registrierte Fluktuation des Stroms daher proportional zum Produkt der Amplituden der Lichtwelle ist: $i(t) \propto 2E_{0e}^* E_r(\Delta\omega t)$. Wie sieht das Fourierspektrum der Stromfluktuation aus.?

Eine Skizze der experimentellen Anordnung zeigt Abbildung 32.7. Hilfe zur detaillierten Beschreibung des Experiments: [63, 64, 65].

32.5 Zusammenhang zwischen Schalldruck und Schallintensität: Der Begriff des Schallwellenwiderstands. Zeigen Sie, erstens dass der Wellenwiderstand die Form $Z = \rho_0 c$ hat und zweitens, dass die Intensität proportional zum Quadrat der Druckamplituden p_0 ist und wie folgt dargestellt werden kann: $I = \frac{1}{2} p_0^2 / Z$.

Hilfe: Gehen Sie dabei von folgender Definition des Wellenwiderstandes aus:

$Z = p(t)/v(t)$. Begründen Sie die Definition durch Vergleich mit der Definition des elektrischen Widerstandes. Betrachten Sie als nächstes eine ebene Welle mit $p = p_0 \sin\{\omega t - kx\}$ und der Geschwindigkeit $v = v_0 \sin\{\omega t - kx\}$. Die Anwendung der Eulergleichung $\rho_0 \frac{\partial v}{\partial t} + \text{grad} p = 0$ (s. Kapitel 37) liefert die Gleichung für den Wellenwiderstand. Zur Berechnung der Intensität geht man von dessen Definition als Energiefluss pro Einheitsfläche und Sekunde aus: $I = \langle W \rangle c$. Die mittlere Energie der Welle ist $\langle W \rangle = \frac{1}{2} \rho_0 v_0^2$ und die Intensität wird $\bar{I} = \frac{1}{2} c \rho_0 v_0^2 = \frac{1}{2} \frac{p_0^2}{Z}$. Ein ausführliche Ableitung der Gleichungen findet man in den „Ergänzungen zu den Übungen“ (www.biophy.de). Man kann auch die Monografie [68] benutzen.

Kapitel 34

34.1 Zur Deformation der OHZ durch den piezoelektrischen Aktuator Prestin. Man berechne die relative laterale Dehnung der Zellmembran der OHZ wenn eine α -Helix pro Prestin-Motor (mit einem Flächenbedarf von etwa 2 nm^2) in die Membran eindringt und die Flächendichte der Prestine $6000/\mu\text{m}^2$ beträgt. Um wieviel Prozent verlängert sich die Zelle wenn die Expansion in radialer Richtung durch die kleine Kompressibilität verhindert wird. Welche Spannung würde entstehen, wenn die Zelle an beiden Enden festgehalten wird (z. B. im Ohr durch Einspannen zwischen den Deiterschen Zellen und der Basalmembran). Die Deiterschen Zellen seien inkompressibel. Der Flächen-Kompressionsmodul der Membran sei 700 mN/m .

34.2 Zur dynamischen Stabilität der Cilien der Haarzellen der Cochlea durch den Tretmühlenprozess. Beschreiben Sie die Experimente von A. Rzadzinska *et al.* [53]. Wie funktioniert dabei die Transfektion von Zellen mittels Gen-Transfer? Skizzieren Sie ein Experiment.

Kapitel 35

35.1 Welche Form würde die kristalline Schale annehmen, wenn man in Abbildung 36.3 einen Keil mit $s = +60^\circ$ einschiebt? Wie könnte man die Deformationsenergie des ebenen Kristalls durch zwei (oder viele) Disklinationen entgegengerichteter Vorzeichen (z. B. $s = +60$ und $s = -60$) stark reduzieren? An welche Ladungsverteilung in der Elektrostatik erinnert Sie eine Anordnung zweier benachbarter Defekte verschiedener Vorzeichen?

35.2 a) Man schätze die Energie der 60° -Disklination und der Stufenversetzung für ein Vesikel (Durchmesser: $\phi = 1 \mu\text{m}$, $b \sim a = 1 \text{ nm}$, $Y = 0,700 \text{ N/m}$) und für einen Virus ($\Phi \sim 100 \text{ nm}$, $b \sim 10 \text{ nm}$, $Y \sim 1 \text{ N m}^{-1}$) ab. b) Wie groß ist die freie Energie?

35.3 Zur Messung der Biegesteifigkeit der Viren-Capside mittels AFM.

Man zeige, dass die Kugelschale sich wie eine Feder der Federkonstante $k \approx E h^2/R \approx \sqrt{\kappa Y}/R$ verhält, wenn man sie mit einer lokal scharf begrenzten Punktkraft (z.B. mittels AFM) deformiert (eindellt). *Hilfe:* Die Berechnung basiert auf der zentralen Idee, dass die Biegedeformation der Eindellung nur in einem engen Streifen der Breite d entlang eines kreisförmigen Rings (mit der Kraft als Zentrum) eine Rolle spielt. Da die Kugelschale geschlossen ist, erstreckt sich die Dehnung der Schale jedoch über die gesamte deformierte Fläche. Aus der ersten Bedingung folgt, dass die lokale Biegedeformation von der Größenordnung $\partial^2 u/\partial x^2 \sim u/d^2$ ist. Die induzierte Flächenänderung ist $\Delta A/A \approx (u/R)^2$. Man zeige zunächst, dass die Dehnungs- und Biegeenergie gegeben sind durch:

$$G_b \approx d^2 \kappa (u/d^2)^2 \quad \text{und} \quad G_d \approx d^2 K (u/R)^2$$

Man benutze dann den Zusammenhang zwischen κ bzw. K und dem Young-Modul (Gl. 11.6) und zeige, dass die Gesamtenergie minimal ist, wenn der Radius d des Rings starker Biegung gegeben ist durch $d^2 = hR$. Man berechne schließlich die gesamte minimale Energie, um den gesuchten Zusammenhang zwischen der Federkonstante und dem Young-Modul zu erhalten. Empfohlene Literatur (s. [69] §15).

35.4 Feinstrukturbestimmung der Viren mit Elektronenmikroskopie und Neutronen-Kleinwinkelstreuung (*small angle neutron scattering*, SANS).

a) Welche strukturellen Eigenschaften der Viren-Capside kann man mittels Röntgen- (SAXS) oder Neutronen-Kleinwinkelstreuung (SANS) bestimmen? b) Beschreiben Sie die Experimente von D. Kuzmanovic *et al.* (in [70]) und diskutieren Sie die interessantesten Ergebnisse. c) Aufgrund welcher einfachen Beobachtung mittels Elektronenmikroskopie kamen Caspar und Klug auf die Ikosaeder-Struktur der Capside? *Hilfe:* Zur Beantwortung der ersten Frage geht man von dem Kratky-Porod-Modell der Streuung an Kugelschalen aus. Dazu beachte man, dass die Streuintensität $I(q)$ einer Kugelschale gleich der Differenz der Intensitäten zweier Schalen mit den Radien R_1 und R_2 ist, wobei die Differenz der Radien gleich der Schalendicke ist. Die Streuintensität der Kugeln wird in Aufgabe 37.4

berechnet. Die Grundlagen der Kleinwinkelstreuung werden in Anhang 37.A beschrieben (s. www.biophy.de). Eine gute Einführung in die Kryo-EM von Viren ist: [71].

Kapitel 36

36.1 Man teste das Gesetz $Lk = Wr + Tw$ experimentell mithilfe eines dünnen, flexiblen Bandes und von Zylindern verschiedener Durchmesser. Man messe die Zahl der Torsionen des Filaments unter Spannung und vergleiche diese mit der Summe der Zahlen der Torsionen des Bandes und der Superverdrillungen nach der Relaxation. Man kann die Enden des Bandes dazu zusammenkleben.

36.2 Wie groß wäre der Radius eines Knäuels einer DNA aus 10 000 bp, wenn DNA sich wie eine Flory-Kette aus Segmenten mit Kuhn-Längen von $\lambda_k = 50$ nm verhalten würde, und wie ändert sich der Wert für eine ideale Kette. Man vergleiche das Ergebnis mit AFM-Messungen des End-zu-End-Abstandes [72]. Eine andere elegante Methode zur Messung der End-zu-End-Abstände beruht auf der Anwendung der AFM-Technik. Sie wurde zur Messung an synthetischen Polymeren benutzt. [73].

36.3 a) Man begründe, weshalb die Natur zur Codierung der 20 meist benutzten Aminosäuren den Triplett-Code und keinen Dublett-Code benutzt. *Hilfe:* Man betrachte die Zahl der Möglichkeiten, mit n Buchstaben N Worte zu bilden. In welcher Weise nutzt die Natur die Redundanz des genetischen Codes aus?

b) Man diskutiere die Frage, weshalb die Redundanz der Codierung dazu benutzt wird, dieselbe Aminosäure durch mehrere Triplets zu kodieren und nicht dazu, mehr Codons für die Festlegung der Ketten-Termination zu benutzen, (was auch möglich wäre)? Was besagt die Wobble-Hypothese? *Hilfe:* [74].

36.4 Man begründe die Gleichung (36.9b) durch Anwendung des Massenwirkungsgesetzes. *Hilfe:* Bei der Komplexbildung werden Z Ionen pro Polymer freigesetzt. Die Gleichung der unspezifischen Komplexbildung (C) zwischen Repressor (R) und der DNA (D) hat daher die Form: $R + D \leftrightarrow C + Z I$.

36.5 Man skizziere ein Experiment zur Beobachtung der Kopplung zweier Operatorenstellen durch einen Repressor durch Beobachtung der Brownschen Bewegung einer kolloidalen Sonde, die an ein Ende der DNA gekoppelt ist. *Hilfe:* Man fixiert das freie Ende auf einem Substrat und beobachtet die Diffusion der Kraftsonde (s. [75]).

36.6 Man zeige, dass der Abstand a der Filamente im Capsid mit dem Radius $R = 27,5$ nm bei maximaler Packungsdichte $2,48$ nm betragen muss, wenn die DNA ein hexagonales Gitter bildet. *Hilfe:* Man zeige zunächst, dass der Volumenbruch der DNA $\varphi = \pi/\sqrt{12}$ ist, indem man die gesamte Flächen eines gleichseitigen Dreiecks des Gitters mit dem von der DNA beanspruchten vergleicht.

Kapitel 37

37.1 Zur Erinnerung an die Optik: Man zeige, dass die Amplitudenverteilung eines Spaltes der Breite $2x_0$ von folgender Form ist:

$$F(\xi) = C \frac{\sin k_x x_0}{k_x x_0}$$

Hilfe: Gehen Sie von der Gleichung (37.1).

37.2 Zur Erinnerung an die Berechnung von Beugungsbildern durch Anwendung des Konvolutions-Theorems der Fourier-Transformation (FT).

a) Wie sieht das Beugungsbild einer endlichen Reihe von δ -Funktionen (d. h. eines idealen Beugungsgitters) $\sigma(x) = \sum_{-N}^{+N} \delta(x - na)$ aus?

b) Wie ändert sich das Beugungsbild, wenn man das Gitter aus Spalten endlicher Breite b aufbaut (mit $b \ll a$).

Hilfe: Man berechne zunächst die Beugungsbilder des Gitters und eines Spaltes und wende dann das Konvolutions-Theorem der Fourier-Transformation an.

Beachten Sie, dass die elektrischen Felder der Elementarwellen, die von zwei benachbarten Gitterpunkten ausgehen, um den Winkel δ gegeneinander phasenverschoben sind, wobei $\delta = 2\pi a/\lambda$ ist. Zeigen Sie dann, dass man die resultierende Amplitude als eine geometrische Reihe darstellen kann, deren Summe folgende Form hat:

$$E = \text{konst} \frac{\sin N\delta/2}{\sin \delta/2}$$

Skizzieren Sie das Interferenzbild (Amplitudenquadrat) durch Aufsuchen der Haupt- und Nebenmaxima. Wenden Sie zur Beantwortung der zweiten Frage das Konvolutions-Theorem an.

37.3 Lichtstreuung und Kleinwinkelstreuung an einer Blende: Berechnen Sie die Amplitudenverteilung, die ein paralleler Lichtstrahl durch Beugung an einer runden Apertur wie der Linsenbegrenzung (Radius R) in der Zwischenbildebene erzeugt. Welche Form hat das Beugungsbild? Welche einfache Intensitätsverteilung erhält man, wenn der Durchmesser der Blende klein gegen die Wellenlänge λ ist. Vergleichen Sie das Ergebnis mit der Intensitätsverteilung des Airy-Beugungsscheibchens. Wie ändert sich das Beugungsbild, wenn ein rundes Loch (Apertur) durch eine runde Blende ersetzt wird? Gehen Sie von der Gleichung (37.1) für die Amplitudenverteilung aus und führen Polarkoordinaten (r, φ) ein, wobei \mathbf{r} der Radiusvektor in der Ebene der Scheibe (x, y -Ebene) sei. Zeigen Sie, dass man die Amplitudenverteilung durch die Gleichung

$$F(q) = \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^R d^3 \mathbf{r} f(\mathbf{r}) \exp\{iqr \cos(\mathbf{q} \mathbf{r})\}$$

darstellen kann und dass die Integration zu einer Funktion der Form $F(q) \propto J_1(q\rho)/q\rho$ führt, wobei J_1 die Bessel-Funktion erster Art mit Index 1 ist. Zur Beant-

wortung der zweiten Unterfrage betrachten Sie die Taylor-Entwicklung der Bessel-Funktion erster Art und vergleichen diese mit der Entwicklung der Airy-Funktion:

$$J_1(0) = \frac{\rho}{2} - \frac{1}{2} \left(\frac{\rho}{2}\right)^3 + \frac{1}{12} \left(\frac{\rho}{2}\right)^5 - \dots$$

Hilfe zur Frage nach der Blende: Beachten Sie das Babinet-Prinzip.

37.4: Man berechne das Beugungsbild einer Kugel und leite aus diesem die berühmte Guinier-Gleichung für den exponentiellen Zusammenhang zwischen der gestreuten Intensität $I(q)$ und dem Gyrationradius R_g ab: $I(q) = \exp\{-1/3 (qr)^3\}$. Hilfe findet man im Appendix A zu 37 (www.biophy.de). Zur Vereinfachung können Sie auch Normierungsfaktoren vernachlässigen. *Hilfe:* Man geht am einfachsten von der allgemeinen Gleichung für die Amplitudenverteilung der gestreuten Welle aus:

$$f(q) = \frac{\iiint_V dr^3 \Delta\rho(r) \exp\{-iqr\}}{\iiint_V dr^3}$$

Dabei ist zu beachten, dass wir nun über drei Raumrichtungen integrieren müssen: $dr^3 = r^2 \sin \vartheta d\vartheta d\varphi$. Bei der Integration über die Kugel muss man beachten, dass ϑ der Winkel zwischen der Strahlrichtung (der z-Richtung) und dem Radiusvektor zu den Volumenelementen der Kugel ist. Integration über den Winkel ϑ liefert folgende Gleichung:

$$f(q) = 4\pi \int_0^R \rho(r) \frac{\sin qr}{qr} r^2 dr$$

In der Literatur geht man häufig direkt von dieser Gleichung aus. Man zeige durch Integration über den Radius, dass für eine Kugel homogener Dichte folgt:

$$f(q) = \frac{3(\sin qr - qr \cos qr)}{(qr)^3} \approx \exp\left\{-\frac{1}{5}(qR)^2\right\}$$

Die rechte Seite erhält man durch Entwicklung von $f(q)$ bis zur fünften Ordnung. Führt man nun den Gyrationradius der Kugel ein, so folgt die Guinier-Gleichung.

37.5 Zur Erinnerung an das Auflösungsvermögen der Mikroskope: Man bestimme das Auflösungsvermögen des Mikroskops, indem man einen Doppelspalt (mit dem Blendenabstand d) als Objekt betrachtet und die Regel benutzt, dass zwei Objekte, OI und OII, dann getrennt beobachtet werden können, wenn das erste Maximum des Beugungsbildes von OI und das erste Minimum des Beugungsbildes von OII zusammenfallen (Rayleigh-Kriterium).

37.6 Zum Auftrieb: Man begründe, weshalb die Zirkulationsströmung um den Flügel zu einer Auftriebskraft führt. *Hilfe:* Denken Sie an die Bernoulli-Glei-

chung. *Bemerkung:* Vor der Entdeckung der Wirbelsätze durch Helmholtz (etwa um 1858) war Fliegen nach den damals bekannten Gesetzen der Hydrodynamik nicht möglich.

37.7 Weshalb spielt die Reynolds-Zahl eine so große Rolle für die Konstruktion von Schiffen oder Flugzeugen? Was könnte ein Zoologe tun, um das Schwimmverhalten eines Walfisches im Modell zu studieren?

37.8 Man bestimme den Wassergehalt eines Proteins mit der Dichte $\rho_1 = 1.27 \text{ g/cm}^3$ im trockenen Zustand. Im trockenen Zustand gibt man ein 1 g des Proteins zu 1 g Wasser. Man erwartet, dass das Volumen um $\Delta V_{\text{theor}} = \frac{1}{1.27} = 0.78 \text{ cm}^3$ zunehmen. Man beobachtet aber nur $\Delta V_{\text{exp}} = 0.75 \text{ cm}^3$. Man bestimme den Wassergehalt des Proteins.

37.9 Man bestimme das Dichteverhältnis des Hämoglobins am Boden eines 10 cm langen Zentrifugen-Röhrchens im Abstand $r = 9.8$ und $r = 10$ cm (Molekulargewicht $M = 65\,000$, Dichte $\rho = 1.33 \text{ g/cm}^3$, $\omega = 1000 \text{ rad/sec}$). Diskutieren Sie die Möglichkeit, mit der Sedimentationsmethode Proteine zu trennen.

37.10 Wie funktioniert die Schlierentechnik (z. B. Dunkelfeld-Beleuchtung)? Handelt es sich dabei um eine Interferenzmethode? Kann man damit Absolutwerte der Konzentration einer Lösung messen?

37.11 Man beweise (für den eindimensionalen Fall), dass die Gauß-Funktion eine Lösung der Diffusionsgleichung ist. Man berechne das mittlere Verschiebungsquadrat einer rein statistischen Bewegung durch Berechnung des Verschiebungsquadrats und beweise die Einsteinbeziehung $D = \langle x^2 \rangle / 2t$.

Wie sehen die Varianz und die Einstein-Beziehung für den dreidimensionalen Fall aus?

37.12 Zur physiologischen Rolle der Scherkräfte des Blutstroms bei der Wundheilung. Diese wird u. a. durch den Von-Willibrand-Faktor vermittelt. Dieses große globuläre Makromolekül (von etwa 225 kDa) bildet im Blutplasma Multimer. Unter der Wirkung hoher Scherkräfte, wie sie an frischen Wunden entstehen, können diese zu sehr langen Filamente gestreckt werden, die dadurch zur Bildung von Gelen aktiviert werden. Diese Erkenntnis verdankt man eleganten Experimenten mit einem neuartigen Mikrofluidik-System, das auf dem Antrieb durch oberflächenakustischen Wellen beruht, wodurch hohe Scherkräfte an Oberflächen erzeugt werden können.

Aufgabe: Beschreiben Sie die Methode und zeigen Sie, weshalb Scherkräfte Makromoleküle strecken können. Angaben zu den Experimenten finden Sie in [67] und zur Theorie in [66].

38.1

Literatur

- 1 Metropolis, N. (1953) *J. Chem. Phys.* **21**: 1087.
- 2 Dietz, H. et al. (2007) *New Journal of Physics*, **9**: 424.
- 3 Dietz, H. et al (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**: 1244.
- 4 Borschogl, T., et al. (2006) *Langmuir*, **24**: 1338
- 5 Schmidt, R. F. et al. (2000) *Physiologie des Menschen*. 28igste Auflage. Springer, Berlin.
- 6 Berg, J. M., et al. (2007) *Biochemie*. 6th ed. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- 7 Wald, G. (1968) *Science*, **162**: 230.
- 8 Alberts, B. (2008) *Molecular Biology of the Cell*. 5th ed. Taylor & Francis, New York.
- 9 Fontanilla, R. and Nuccitelli, R. (1998) *Biophysical Journal*, **75**: 2079.
- 10 Neher, E., and Augustine, G. J. (1992) *Calcium J. of Physiology*, **450**: 273.
- 11 Li, Y. X et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **91**: 58.
- 12 Hiemenz, P. C. and Rajagopalan, R. (1997) *Principles of Colloid and Surface Chemistry*. Marcel Dekker, New York, Basel
- 13 Möhwald, H. (1995) *Phospholipid Monolayers. Handbook of Biological Physics* Elsevier. Amsterdam.
- 14 Albrecht, O. et al. (1978) *Journal de Physique*, **39**: 301.
- 15 Heerklotz, H. (2004). *J. Phys. Condensed Matter*, **16**: 441.
- 16 Privalov, P. and Dragan, A. (2007) *Biophysical Chemistry*, **126**: 16.
- 17 Landau, L. D., Lifschitz, E. M. (1987) *Lehrbuch der theoretischen Physik*, Bd.5, Akademieverlag Berlin.
- 18 Safran, S. (1994) *Statistical thermodynamics of surfaces interfaces and membranes*. de Gruyter, Berlin.
- 19 Rusu, L. et al. (2004) *Biophysical Journal*, **87**: 1044.
- 20 Medina, A., Schwille, P. (2002) „Fluorescence correlation spectroscopy for the detection and study of single molecules in biology“, *BioEssays*, **24**: 758.
- 21 Bronstein, I. N. and Semendjajew, K. A. (1991) *Taschenbuch der Mathematik*, 25. Aufl., Stuttgart
- 22 Milner, S. T., Safran S. (1987) *Phys. Rev. A*, **36**: 4371.
- 23 Sackmann, E. (2006) *J. Phys.: Condens. Matter* **18**: R785.
- 24 Karatekin, E. et al. (2003) *Biophys J.*, **84**: 1734–1749.
- 25 Evans, E. and Rawicz, W. (1990) *Phys. Rev. Lett.*, **64**: 2094.
- 26 Israelachvili, J. N. (1991) *Intermolecular and Surface Forces: With Applications to Colloidal and Biological Systems*. 2nd ed. Academic Press New York
- 27 Rädler, J. et al. *Langmuir*, **11**: 4539–4548.
- 28 Landau, L. D., Lifschitz, E. M. (1991) *Lehrbuch der theoretischen Physik*, 10 Bde., Bd.7, Elastizitätstheorie: Band 7. 5te Auflage Akademie Verlag Berlin
- 29 Harmon, L. D. and Lewis E. R. (1966) *Physiol. Rev*, **46**: 513–591.
- 30 Zucker, R. *Journal of Physiology-Paris*, **87**: 25-36.
- 31 Nicholls, J., (2001) *From Neuron to Brain: A Cellular and Molecular Approach to the Function of the Nervous System*. 4th ed. Palgrave Macmillan.
- 32 Neher, E. und Marty, A. (1982). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **79**: 6712-6716
- 33 Gritsch, S. et al. (1998) *Langmuir*, **14**: 3118-3125.
- 34 Legrand, O. et al. (2006) *Phys. Rev. E* **73**: 31925
- 35 Moy, A. B., et al., (1996) *Journal of Clinical Investigation*, **97**: 1020
- 36 Hillebrandt, H. et al. (2001) *Appl. Phys. A* **73**: 539-546
- 37 Huang, G., Santos-Sacchi J. (1993) *Biophys. J.*, **65**: 2228
- 38 del Castillo J. and Katz, B. (1954) *J. Physiol.* **124**: 560
- 39 Wehner, R. und Srinivasan, M. V. (1981) *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, **142**: 315–338
- 40 Ziemann, F. et al. (1994) *Biophysical journal*, **66**: 2210–2216

- 41 Rief M. et al. (2000) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**: 9482-9486.
- 42 Tsiavaliaris G., Manstein D. J. (2003) *Biospektrum*, **9**
- 43 Yildiz, A. et al. (2003) *Science*, **300**: 2061
- 44 Thompson R. E., Larson D. R., Webb W. W., (2002) *Biophysical journal*, **82**, 2775–2783
- 45 Pollard, T. D., Earnshaw, W. C., Lippincott-Schwartz, J. (2007) *Cell Biology*. 2nd ed. Saunders.
- 46 Schmidt, R. F., Thews, G., Lang, F. (2000) *Physiologie des Menschen*. 28th ed. Springer Berlin
- 47 Berg, H. C. (2003). *Annu. Rev. Biochem*, **72**, 19-54
- 48 Turner, L., Caplan, S. R., Berg, H. C. (1996) *Biophysical journal*, **71**, 2227–2233
- 49 Doi, M., Edwards, S. F. (1988) *The Theory of Polymer Dynamics*. Reprint. Oxford University Press.
- 50 Lipowsky, R., Sackmann, E. (1996) *Architecture and Function. Handbook of Biological Physics Vol I*. Elsevier.
- 51 Dichtl, M. A., Sackmann, E. (1999) *New Journal of Physics*, **1**: 18.
- 52 Schilling, J. et al. (2004) *Phys. Rev. E*, **69**: 021901
- 53 Rzadzinska, et al. 2004 *J. Cell Biology* **164**, 887
- 54 Nachtigall, W. (1997) *Vorbild Natur: Bionik-Design für funktionelles Gestalten*. Springer.
- 55 Fung, Y. C. (1993) *Biomechanics. Mechanical Properties of Living Tissues*. 2nd ed. Springer-Verlag GmbH.
- 56 Diez, M. et al. (2004) *Nature structural & molecular biology*, **11**, 135–141
- 57 Rondelez, Y. et al. (2005). *Nature*, **433**, 773-777
- 58 Murrell, J. N. (1963) *The theory of the electronic spectra of the organic molecules*, J.Wiley, New York
- 59 Zenobi, R., Deckert, V. (2000) *Angewandte Chemie*, **112**, 1814–1825
- 60 Hartmann, K. M., Hoppe, W., Lohmann, W., Markl, H., Ziegler, H. (1982) *Biophysik-Ein Lehrbuch*
- 61 Rhode, W. S. (1971) *J. Acoust. Soc. Am*, **49**: Suppl 2:1218+.
- 62 Sellick, P. M. et al. (1983). *Hearing Research*, **10**, 93–100
- 63 Cooper, N. P., Rhode, W. S. (1992) *Hearing research*, **63**: 163–190.
- 64 Murugasu, E., Russell, I. J. (1996) *Journal of Neuroscience*, **16**: 325
- 65 Russell, I. J., Nilsen, K. E. (1997). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**: 2660-2664.
- 66 Brochard-Wyart, F. et al. (1994) *Europhys. Lett.* **26**: 511
- 66 Schneider, W., et al. (2001) *PNAS* 2007 **104**: 7899
- 67 Landau, L. D., Lifschitz, E. M. (1991) *Lehrbuch der theoretischen Physik*, 10 Bde., Bd.6, Hydrodynamik: BD 6. 5. Auflage. Akademie Verlag Berlin
- 68 siehe 53
- 69 Kuzmanovic, D. A., et al. (2006). *Journal of Molecular Biology*, **355**, 1095-1111
- 70 Baker, T. S., et al. (1999) *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **63**: 862
- 71 Witz, G., et al. (2008) *Phys. Rev. Lett.*, **101**: 148103-4
- 72 Kuhner, F., et al. (2006) *Phys. Rev. Lett.*, **97**: 218301-4
- 73 Berg, J. M., Stryer, L., Tymoczko, J. L. (2007) *Biochemie*. 6th ed. Spektrum Akademischer Verlag.
- 74 Finzi, L., Gelles, J. (1995) *Science*, **267**: 378-380
- 75 Schnitthelm, R. und Oppelt, A. (1990) *Physik in unserer Zeit* **21**: 161

Glossar

Aktionspotenzial

(engl. *action potential*) Schnelle Veränderung des elektrischen Potentials, das über der Plasmamembranen der Nervenzellen liegt und das sich längs der Nervenleiter (wie Axone) ausbreitet. Nur Zellen des Nervensystems und Muskelzellen können Aktionspotentiale ausbilden. Sie dienen im Nervensystem der Signalübertragung oder leiten die Kontraktion der Muskelzellen ein. Aktionspotentiale werden durch elektrisch oder chemisch schaltbare Änderungen der Leitfähigkeit der Ionenkanäle ausgelöst. Die chemische Schaltung erfolgt durch Neuro-Transmitter.

Aktivität, Aktivitätskoeffizient

In einer idealen Lösung ist das chemische Potenzial μ der gelösten Partikel bis auf eine additive Konstante μ_0 durch das chemische Potenzial eines idealen Gases mit derselben Teilchendichte n gegeben: $\mu = \mu_0 + k_B T \ln(\lambda_{th}^3 n)$ (λ_{th} ist die thermische Wellenlänge). Natürlich treten für reale Lösungen Abweichungen von diesem Verhalten auf. Als Aktivität a einer gelösten Substanz bezeichnet man diejenige Dichte, bei der eine ideale Lösung dasselbe chemische Potenzial hätte wie die reale Lösung. Der Aktivitätskoeffizient γ ist das Verhältnis aus Aktivität und Dichte der realen Lösung. Unter den meisten Bedingungen variiert der Aktivitätskoeffizient zwischen 0 und 1. Für kleine Dichten nähert γ sich an 1 an, d. h. verdünnte Lösungen verhalten sich ideal (Ausnahme: Lösungen geladener Teilchen). Anstelle durch Teilchendichten n kann man die Aktivität auch auf der Basis von Konzentrationen oder Molenbrüchen definieren.

Aktuator oder Aktor

(engl. *actuator*, in der Technik auch *Stellglied* genannt) Ein Begriff aus der Regel- und Steuertechnik. Aktuatoren wandeln die von Sensoren und der nachfolgenden Signalverarbeitungseinheit kommenden Signale in aktive Bewegungen um. Ein Beispiel ist die Umsetzung eines vom Auge aufgenommenen Signals in eine Muskelbewegung, wobei der Aktin-Myosin-Komplex als Motor wirkt, der auf molekularer Ebene vom Troponin-Tropomyosin-Komplex und Ca^{2+} gesteuert wird.

Aminosäure

(engl. *amino acid*) Grundbaustein der Proteine, siehe Abschnitt 6.1 und insbesondere Tabelle 6.1.

Antigene (oder antigene Determinanten)

Kleine Peptide, aber auch Kohlenhydrate oder Lipide. Diese eine Immunantwort auslösenden Peptide werden von großen Proteinen der Viren oder Bakterien abgespalten und bestehen nur aus rund 10 Aminosäuren, die man auch Epitope nennt. Sie werden häufig auf der Oberfläche infizierter Zellen (sogenannte Antigen-präsentierende Zellen, APZ) präsentiert und werden von den Antikörpern der Lymphozyten (wie den T-Zell-Rezeptoren) in der Regel nur erkannt, indem sie an große Membranproteine gebunden werden. Dazu dienen große Membranproteine, die Histokompatibilitätskomplexe (engl. *major histocompatibility complexes*, MHC) genannt werden.

Antikörper

(engl. *antibody*) Molekularer Bestandteil der Immunantwort. Antikörper haben je nach Klasse zwei bis fünf Bindungsstellen für ihre Zielmoleküle, die auch Antigen genannt werden. Antikörper erkennen ihr Zielmolekül mit hoher Selektivität. Sie werden von spezialisierten Zellen des Immunsystems, den B-Lymphozyten, gebildet. Eine mit Antikörpern markierte Zelle oder Makromolekül wird von Fresszellen des Immunsystems vernichtet. Da Antikörper mehrere Bindungsstellen für ihr Antigen besitzen, können sie zur Vernetzung der Antigenmoleküle führen, die dadurch leichter zu bekämpfen sind.

Base

Eine chemische Substanz, die Protonen aufnehmen kann. Siehe Abschnitt 4.1.

Blasen

(engl. *blebs*) Blasenartige Ausstülpungen an der Oberfläche von Zellen, die durch Entkopplung des Aktin-Kortexes von der Plasmamembran (durch Gifte wie das Pilzgift Phalloidin oder Cytochalasin) oder Sauerstoff-Mangel ausgelöst werden.

Chaperone

Allgegenwärtige Helferproteine, welche den neu synthetisierten Proteinen in der Zelle helfen, sich korrekt zu falten. Daraus resultiert auch der Name *chaperon* (engl. für Anstandsdame). Ein wichtiges Beispiel ist das Hitzeschockprotein Hsp60. Es bildet fassartige Strukturen mit hydrophoben Innenwänden, in denen sich die jungen Proteine verstecken und gefahrlos reifen können. Da frisch gebildete Proteine noch nicht richtig gefaltet sind, werden sie schnell von aggressiven Proteinen (Proteasen) abgebaut oder aggregieren irreversibel. Man kann aber auch Helferproteine, welche Proteine in kontrollierter Weise entfalten, zu den Chaperonen zählen. Diese spielen für den Transfer der Proteine in Mitochondrien eine zentrale Rolle. Die Funktion der Chaperone erfordert einen hohen Energie-Umsatz durch ATP-Spaltung.

Chelat

Komplexe zwischen mehrfach positiv geladenen Metallionen, vor allem solchen mit nur teilweise gefüllten inneren Schalen (Fe^{3+} , Cu^{2+}), und organischen Molekülen (Liganden). Die Bindung erfolgt durch eine *Koordinationsbindung* zwischen dem Zentralion und dem Liganden. Bei diesen wird die Bindung allein durch die freien Elektronenpaare des Ions vermittelt, wobei meist ein partieller Elektronentransfer zum organischen Partner stattfindet. Ein wichtiger natürlicher Ligand ist Porphyrin. Es bindet Eisen-Ionen in Hämoglobin und Magnesium-Ionen in Chlorophyll. Ein praktisch wichtiger, künstlicher Chelator ist EDTA (Ethylendiamin-tetraacetat), das zum Einfangen von Metallionen oder Ca^{2+} eingesetzt wird um den Ca^{++} -Spiegel in Zellen einzustellen.

Dalton oder Da

In der Biochemie übliche Einheit des Molekulargewichts. $1 \text{ Da} = 1 \text{ g mol}^{-1}$. Häufig sind Angaben in $\text{kDa} = 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ und $\text{MDa} = 10^6 \text{ g mol}^{-1}$.

Debye

Dipolmomente von Molekülen werden oft in der Einheit Debye angegeben. Sie ist nach dem bedeutenden Physikochemiker Peter Debye (1884–1966) benannt. Ein Debye entspricht $3,336 \cdot 10^{-30} \text{ Cm}$ bzw. $20,1 \text{ pm } \epsilon_0$.

Deterministisches Chaos

Darunter versteht man die komplexen aperiodischen Ausgangssignale deterministischer nichtlinearer Oszillatoren (wie des van der Pol- oder des Duffing-Oszillators), welche durch externe Kräfte oder Kopplung an andere Oszillatoren getrieben werden. Der Ausdruck deterministisch unterstreicht die Tatsache, dass das chaotische Verhalten nicht durch stochastische Kräfte vermittelt wird, wie bei normalem chaotischem Verhalten, sondern durch die nichtlinearen dynamischen Eigenschaften des Systems. Solche Systeme können insbesondere auch bei periodischer Anregung zwischen phasenstabilem und chaotischem Verhalten wechseln. Der van der Pol-Oszillator ist ein Paradigma solcher Systeme aus der Elektrotechnik und der Duffing-Oszillator aus der technischen Mechanik.

Differenzierung

Die Fähigkeit von Zellen, durch bevorzugte Synthese spezifischer Proteine besondere Fähigkeiten zu entwickeln. Beispiele sind die Bildung elektrisch erregbarer Nervenzellen durch Expression spannungsabhängiger Ionenkanäle oder von Muskelzellen durch Synthese eines hohen Anteils an Muskelmyosin. Differenzierung bestimmt die Entwicklung des befruchteten Eizells zum Embryo. Sie findet aber auch während des ganzen Lebens ausgewachsener Säugetiere statt. Ein wichtiges Beispiel ist die Erzeugung der verschiedenen Blutzellen durch Differenzierung von *pluripotenten Stammzellen* im Knochenmark.

Donnan Gleichgewicht

(engl. *Donnan equilibrium*) Entstehen eines elektrischen Potentials und eines osmotischen Drucks zwischen zwei durch eine semipermeable Membran getrennten Räumen, die für kleine Ionen permeabel ist, aber nicht für geladene Makromoleküle. Sind die Konzentrationen der Polyelektrolyten in den beiden Räumen unterschiedlich, so entsteht ein zusätzliches elektrisches Potential (das Donnan Potential). Der Grund ist die Bedingung der Elektroneutralität, welche eine ungleiche Verteilung der kleinen Ionen in den beiden Räumen erzwingt. Hinzu kommt ein durch diese Bedingung induzierter osmotischer Druck.

Duty Cycle (Tastgrad)

(engl. *duty cycle*) Zyklische Prozesse sind durch die Dauer des eingeschalteten Zustands und der Periodendauer (der Zykluszeit) bestimmt. Man bezeichnet das Verhältnis der Dauer des eingeschalteten Zustands zur Periode als Aussteuerungsgrad oder Arbeitsverhältnis.

Endothelium

Eine Monolage aus Endothelzellen (EZ), welche die Innenwände der Blutgefäße, der Lymphgefäße und des Herzens auskleiden und als selektives Filter für den geregelten Stoffaustausch zwischen Blutbahn und Gewebe (einschließlich des Zentralnervensystems) dienen.

Enthalpie

Das thermodynamische Potenzial mit den natürlichen Variablen Entropie und Druck. Siehe Kapitel 3.

Entropie

Eine thermodynamische Zustandsfunktion, im Allgemeinen mit S abgekürzt. Sie wird makroskopisch durch Integration über $\delta Q/T$ (δQ : zugeführte Wärme, T : absolute Temperatur) definiert. Statistisch kann die Entropie als der thermische Erwartungswert des Logarithmus der Besetzungszahl der Quantenzustände multipliziert mit der Konstante $-k_B$ (Boltzmannsche Konstante) berechnet werden. Boltzmann konnte zeigen, dass, falls N mikroskopische Zustände mit gleicher Wahrscheinlichkeit bevölkert werden können, gilt: $S = k_B \ln N$. Die Erkenntnis, dass k_B eine universelle Konstante ist, die nicht vom speziellen System abhängt, geht auf Max Planck zurück. Der Begriff der Entropie ist eng mit dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik verknüpft. In einem abgeschlossenen System kann die Entropie nur zunehmen (irreversible Prozesse) oder konstant bleiben (reversible Prozesse), aber nicht abnehmen. Siehe Kapitel 3, Gleichungen (3.3), (3.32).

Erythropoietin

Hormon, welches im Knochenmark die Bildung von Erythrozyten aktiviert, das aber selbst von Nierenzellen produziert wird. Unter dem Namen „Epo“ wird dieses Hormon auch zum Doping im Leistungssport eingesetzt.

Erythrozyten

Mit Hämoglobin gefüllte Zellen des Bluts der Wirbeltiere, welche dem Transport von Sauerstoff dienen. Sie können kernlos sein (wie beim Menschen) oder einen Zellkern enthalten (wie bei Vögeln).

Extensive Größe

Begriff aus der Thermodynamik. Ein physikalischer Parameter, der nicht von der Größe des Systems oder der Menge an Material abhängt (V, S, H).

FERM-Protein

Eine Gruppe von Proteinen, welche an der Bindung des Aktin-Zytoskeletts an die Membran involviert sind. Dabei steht ERM für Ezrin, Radixin, Moesin. Zu dieser Gruppe gehört aber auch der Aktin-Membran-Koppler Bande IV.1 der Erythrozyten (für den das „F“ in der Abkürzung steht). Früher wurde die Gruppe daher als Bande IV-Familie bezeichnet. Die Proteine besitzen eine Bindungsstelle für Aktin (am C-terminalen Ende) und für intrazelluläre Domänen (am N-terminalen Ende). Sie existieren häufig in einer ruhenden und in einer aktiven Konformation und werden durch GDP→GTP-Austausch aktiviert.

Filopodien (Philipodien)

Schlauch- oder fingerartige Auswüchse von eukaryontischen Zellen (Durchmesser ~ 100 nm, $L \sim 5$ μ m), die mehrere Aufgaben erfüllen. Sie fungieren als Fühler zum Abtasten der Umgebung (wie bei wachsenden Axonen), zum Suchen und Einfangen von Beute z. B. durch Makrophagen und *Dictyostelium*-Zellen.

Flagellen (Geißeln)

Lange Auswüchse der Zellen, die der Fortbewegung dienen. Bei den Prokaryonten handelt es sich um schraubenförmige Gebilde aus Proteinen, die durch Rotationsmotoren angetrieben werden. Bei den Eukaryonten (Einzeller, Spermien oder Algen, wie *Chlamydomonas reinhardtii*) bestehen sie aus Mikrotubuli-Bündeln, welche von der Zellmembran eingehüllt werden. Ihre Bewegung wird von Dynein-Motorproteinen angetrieben, welche die Mikrotubuli gegeneinander verschieben und so zur lokalen Biegung der Filamente führen.

Fokale Adhäsionskomplexe

(engl. *focal adhesion complexes*, FAC) FAC vermittelt in adhätierenden tierischen Zellen die Kopplung des Aktin-Zytoskeletts an die Adhäsionsdomänen. Diese sind Proteinaggregate mit einer Größe von bis zu 10 μ m. An diesem Ort werden Aktin-Filamente über viele zwischengeschaltete Proteine an die Integrine gekoppelt, welche als Transmembran-Proteine die letztendliche Kopplung an die extrazelluläre Matrix vermitteln. Sie ermöglichen starke Adhäsion der Zellen durch wenige Punktkontakte. Die Kopplung wird vor allem durch die Aktin-Membran-Kopplungsproteine Talin, Vinculin und α -Aktinin vermittelt. Siehe Kapitel 13.

Freie Energie

(auch Helmholtzsche Freie Energie genannt) Ein thermodynamisches Potenzial, das angibt, welche Arbeit das System bei konstanter Temperatur maximal leisten kann. Die natürlichen Variablen der Freien Energie sind Temperatur und Volumen. Siehe Kapitel 3, Gleichungen (3.5), (3.6).

Freie Enthalpie

(auch Gibbssche Freie Energie genannt) Das thermodynamische Potenzial mit den natürlichen Variablen Temperatur und Druck. In der physikochemischen und biochemischen Praxis das wichtigste Potenzial. Siehe Kapitel 3, Gleichungen (3.8), (3.9).

Genom

Die gesamte, in der DNA der Chromosomen gespeicherte Information, die für jedes Lebewesen spezifisch ist.

Glykosidische Bindung

Bei der chemischen Verknüpfung zwischen einer Hydroxyl- (OH-)Gruppe eines Zuckers und einer weiteren Hydroxyl-Gruppe aus einem Zucker oder Alkohol wird ein Molekül Wasser frei und die beiden Rumpfmoleküle werden in einer glykosidischen Bindung über ein Sauerstoff-Atom verbunden. Siehe Abschnitt 6.3.

GTPasen

GTP bindende Proteine, welche im isolierten Zustand langsam GTP (Guanosin-triphosphat) zu GDP (Guanosin-diphosphat) hydrolysieren. Sie werden durch Austausch von GDP durch GTP aktiviert und wirken häufig als molekulare Schalter in intrazellulären Signalwegen. Es gibt zwei wichtige Gruppen: große trimere $G_{\alpha\beta\gamma}$ -Komplexe und kleine monomere Vertreter, wie die GTPasen der Ras-Superfamilie. Erstere spielen eine zentrale Rolle bei der Verstärkung der Hormonsignale oder der Photonenverstärkung beim Sehvorgang (s. Kapitel 9, Hormonverstärker). Letztere dienen häufig zur Signalübertragung durch Wachstumsfaktoren und spielen eine zentrale Rolle bei der Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts. Zur Superfamilie gehören die Untergruppen Rho, Rac, Cdc42.

Hauptsatz

Erster Hauptsatz der Thermodynamik: Eine Formulierung des allgemeineren Energieerhaltungssatzes, welche Wärmeflüsse berücksichtigt. Siehe Kapitel 3, Gleichung (3.2).

Hauptsatz

Zweiter Hauptsatz der Thermodynamik: Dieser Hauptsatz der Thermodynamik hat sehr viele Formulierungen. Die wichtigsten sind: $\frac{\delta Q}{T}$ bildet ein vollständiges Differenzial (und zwar der Entropie) sowie: „Es ist unmöglich, eine periodisch arbeitende Maschine zu konstruieren, bei welcher nach einem Umlauf die einzigen Änderungen in der umgebenden Welt darin bestehen, dass Arbeit geleistet und

nur ein Temperaturreervoir abgekühlt wurde.“ Siehe Kapitel 3, Gleichungen (3.3), (3.4).

Herzrhythmusstörung (Herz-Block)

Darunter versteht man generell Abweichungen von der normalen Herzschlagfolge. Sie werden durch Störungen der Fortpflanzung der Erregung des Herzmuskels vom Taktgeber (den Muskelzellen des Sinus-Knotens) zu den Muskelbündel der Herzkammern verursacht. Zwei hier betrachtete Beispiele sind der S-A-Block und der A-V-Block.

Histamin

Ein kleines Molekül mit zahlreichen Wirkungen. Es fungiert bei Säugetieren als Hormon und Neurotransmitter und ist an der Regulation der Immunabwehr beteiligt. Es wird bei Entzündungen freigesetzt und erweitert die kleinen Blutgefäße, während es die großen kontrahiert.

Hitzeschock-Proteine

(engl. *heat shock proteins*, HSP, s. auch Chaperone) Eine spezifische Gruppe von intrazellulären Proteinen, welche eine wichtige Rolle als Reparatursysteme zur korrekten Faltung von Proteinen spielen. Sie helfen insbesondere Proteinen, welche durch Hitze, UV-Strahlung oder Alkohol denaturiert wurden, sich wieder richtig zu falten und werden daher bei Verbrennungen in großen Mengen synthetisiert. Es gibt verschiedene Klassen solcher Reparatur-Proteine. Eine verwandte Gruppe (wie HSP 70 mit einem Molekulargewicht von 70 kDa) gehört zur Familie der Chaperone.

Hormon

Signalmolekül, welches von spezifischen Zellen (den Endokrinzellen) meist direkt in den Blutstrom abgegeben wird und von dort zu anderen Zellen des Körpers gelangt. Der Begriff ist nicht klar definiert, denn man zählt dazu auch Wachstumsfaktoren, die von anderen Zellen, wie den durch Immunreaktionen aktivierten T-Lymphozyten, ausgeschieden werden.

Immunantwort

(engl. *immune response*) Siehe Lymphozyten.

In vitro

Experimente, vor allem an Zellen, die außerhalb des Organismus stattfinden. Oft wird der Begriff auch verwendet, um zellfreie Experimente zu beschreiben.

In vivo

Experimente in Organismen. Manchmal auch auf Experimente an isolierten lebenden Zellen angewandt.

Innere Energie

Eine thermodynamisches Potenzial, das die Gesamtenergie aller Bestandteile des Systems angibt. Die natürlichen Variablen der Inneren Energie sind Volumen und Entropie. Bei einem idealen Gas ist die Innere Energie zum Beispiel die Summe der kinetischen Energien aller Teilchen, bei realen, mehratomigen Gasen kommen noch die Rotations- und Schwingungs-Energien der Moleküle sowie ihre Wechselwirkungsenergien dazu. Siehe Kapitel 3, Gleichungen (3.2), (3.4).

Integrine

Eine Gruppe von dimeren Zelladhäsionsmolekülen (ZAM) aus membranständigen Monomeren α_i und β_j . Es gibt im Menschen rund 20 Kombinationen $\alpha_i\beta_j$, die verschiedene Liganden des Bindegewebes erkennen. Unter *in vivo*-Bedingungen können die Integrine in einer nichtbindenden Ruheform und einer bindenden, aktiven Form existieren. Die Aktivierung schlafender Rezeptoren erfolgt durch Bindung des Talins an die intrazelluläre Domäne der β -Kette.

Intensive Größen

Begriff aus der Thermodynamik. Physikalische Parameter, die nicht von der Größe des Systems oder der Menge an Material abhängen. Sie sind skaleninvariant. Beispiele sind: p, T, Dichte, chemisches Potenzial.

Intrinsisch ungeordnete Proteine

Proteine, die unter physiologischen Bedingungen entweder in mehreren alternativen Konformationen vorliegen können, oder sogar in ganzen Bereichen gar keine gefaltete Struktur aufweisen.

Kinasen

Enzyme, die Phosphatgruppen von ATP auf andere Moleküle übertragen. Die Gruppen werden vorwiegend an OH-Gruppen der Aminosäuren (Serin, Threonin und Tyrosin) und der Zuckermoleküle gekoppelt. In der Regel gibt es zu jeder Kinase eine antagonistisch wirkende *Phosphatase*, welche Phosphatgruppen wieder entfernt. Von den rund 2000 bekannten Kinasen gehört der Großteil zu den Tyrosin phosphorylierenden Kinasen. Viele dieser wirken zusammen mit den Tyrosinkinase-Rezeptoren (s. Kapitel 9). Eine andere große Gruppe sind die MAP-Kinasen (von engl. *mitogen-activated protein*). Sie bilden ein oder mehrere Glieder in den intrazellulären Signalkaskaden, die an der Regulierung der embryonalen Entwicklung und der Zelldifferenzierung beteiligt sind.

Konformation

Eine bestimmte räumliche Struktur eines Moleküls, im engen Sinn die Koordinaten jedes Atoms in dieser Anordnung. Da Biomoleküle flexibel sind, fluktuiert jedes Molekül ständig. Oft wird deswegen unter einer Konformation auch eine lokale Gleichgewichtsgeometrie mitsamt allen Fluktuationen um diese herum, also eine Familie von Geometrien, verstanden.

Lamellipodien

Flächige, dünne Ausstülpungen an der Vorderfront von auf Oberflächen kriechenden tierischen Zellen oder Amöben. Eine charakteristische Eigenschaft sind lokale lappenartige Ausstülpungen an der Oberseite, die meistens zum Zellkörper transportiert werden (sog. *ruffles*). In vielen Zellen ragen die Filopodien fingerartig aus dem Lamellipodium heraus. Beide Strukturen werden im Wesentlichen durch Polymerisation des Aktin-Zytoskeletts der Zelle gebildet.

Leistungsspektrum

(engl. *power spectrum*) Die Energie eines (in der Regel statistischen) Signals in einem Frequenzintervall (auch Frequenzband genannt) zwischen ν und $\nu + \Delta\nu$. Auftragung der Signale als Funktion der Frequenz liefert das Leistungsdichtespektrum. Es hat die Dimension [Energie/Frequenz]. Integriert man das Spektrum über die Frequenz, so erhält man die gesamte Leistung des Signals.

Lymphozyten

Lymphozyten gehören zur Klasse der weißen Blutkörperchen (Leukozyten). Sie spielen eine zentrale Rolle für die Immunantwort. Sie entstehen im Knochenmark durch Differenzierung von multipotenten Stammzellen und umfassen vor allem zwei Gruppen: *B-Zellen* und *T-Zellen*. B-Lymphozyten befinden sich im Blut und sind die einzigen Antikörper bildenden Zellen. Die Aufgabe der von ihnen produzierten Antikörper ist die Vernichtung von pathogenen Eindringlingen (Viren und Bakterien), die sie aufgrund der spezifischen Antikörper-Antigen-Wechselwirkung erkennen (s. Kapitel 13). Ein mit Antikörpern dekoriertes Eindringling wird von T-Lymphozyten erkannt und zerstört. Die T-Lymphozyten sind für die zelluläre Immunantwort zuständig. Sie reifen im Thymus (daher der Buchstabe T) und produzieren T-Zell-Rezeptoren (TZR). Diese erkennen spezifische Antigene, aber nur in Kombination mit MHC-Komplexen (engl. *major histocompatibility complex*). Es gibt zwei wichtige Gruppen von T-Zellen: *Killerzellen* und *Helferzellen*. Erstere produzieren toxische Substanzen, welche die Pathogene direkt abtöten. Helferzellen regen andere Zellen des Immunsystems, welche spezifische Antikörper produzieren, zur Vermehrung (bzw. Produktion von Klonen) an, oder sie bringen B-Zellen dazu, Antikörper zu produzieren, welche aus zwei (IgA) bzw fünf (IgM) Antikörpern bestehen und damit die Agglutination der Pathogene vermitteln können. T-Lymphozyten leben oft nur einige Stunden, während die B-Zellen über Jahre im Körper leben können. Daher nennt man sie auch Gedächtniszellen.

Massenwirkungsgesetz

Das MWG verknüpft die Konzentrationen der an einer chemischen Reaktion beteiligten Moleküle im thermodynamischen Gleichgewicht. Die sich hierbei ergebende Dissoziationskonstante K_D errechnet sich aus den Freien Enthalpien der beteiligten Moleküle unter Standardbedingungen. Praktische Probleme ergeben sich oft aus der Verwendung der Einheit mol/l anstelle der Molenbrüche sowie aus den verschiedenen möglichen Definitionen des Standardzustands. Siehe Ab-

schnitt 3.2, Gleichung (3.46) sowie die Abschnitte über das chemische Potenzial in verdünnten Lösungen und über chemische Reaktionen.

Native Konformation

Jedes flexible Makromolekül (DNA, Protein, Lipid, Polysaccharid) kann in vielen räumlichen Geometrien vorliegen. Als native Konformation bezeichnet man diejenige Geometrie, die bei physiologischen Bedingungen bevorzugt wird. Die meisten, aber nicht alle Proteine weisen eine wohldefinierte native Konformation auf. Normalerweise ist das Molekül nur in seiner nativen Konformation biologisch aktiv. Siehe die Kapitel 7 und 8.

Natürliche Variable

Siehe Thermodynamisches Potenzial.

Nernst-Potenzial

Das elektrische Potenzial an einer elektrochemischen Zelle, das sich im thermodynamischen Gleichgewicht einstellt (siehe Abschnitt 4.2, Gleichung 4.14). Nernst-Potentiale entstehen auch zwischen Zellen (oder Vesikeln), wenn die Ionenkonzentrationen zwischen Innen- und Außenraum verschieden sind (s. Kapitel 14).

Neurotransmitter

Hormonartige Substanzen, welche die Signalübertragung an Synapsen der Nervenzellen vermitteln. Sie sind in Vesikel verpackt und werden meist – ausgelöst durch ein Aktionspotenzial – durch Exozytose in die synaptischen Spalte ausgeschüttet. Die Bindung der Neurotransmitter an die Rezeptoren der post-synaptischen Membran moduliert das Membranpotenzial der Zielzelle durch Depolarisation (exzitatorische Synapse) oder Hyperpolarisation (inhibitorische Synapse).

Nukleosid

Grundbaustein der DNA und RNA. Nukleoside sind prinzipiell aus zwei Teilen aufgebaut: einer Purin- oder Pyrimidin-Base und der Zuckergruppe (Ribose oder Desoxyribose). Siehe Abschnitt 6.2.

Nukleotid

Grundbaustein der DNA und RNA. Nukleotide sind prinzipiell aus drei Teilen aufgebaut: einer Purin- oder Pyrimidin-Base, der Zuckergruppe (Ribose oder Desoxyribose) und den Phosphatgruppen. Die Nukleotide können als energiereiche Triphosphate (wie ATP, GTP) oder als energiearme Mono- und Diphosphate vorliegen. Siehe Abschnitt 6.2.

Oberflächenspannung (Grenzflächenspannung)

(engl. *osmotic or interfacial pressure*) Eine Größe (σ , der Dimension Nm^{-1}) zur Charakterisierung der thermodynamischen Eigenschaften einer Grenzfläche (z. B. zwischen Wasser und Öl). Sie ist ein Maß für die Arbeit δG (d. h. die

Gibbs Freie Energie) die man leisten muss, um die Oberfläche um das Inkrement δO zu verändern: $\delta G = \sigma \delta O$. Eine Krümmung der Oberfläche (Krümmungsradius ρ) erzeugt einen hydrostatischen Druck p der Größe $p = \sigma/2\rho$ (LaPlace-Young Gleichung). Siehe Kapitel 3 und Kapitel 11.5.2.

Ordnungsparameter

In der Theorie der Phasenumwandlungen beschreibt ein Ordnungsparameter quantitativ, zu welchem Bruchteil die Umwandlung bereits stattgefunden hat bzw. wie weit das System von der Umwandlung entfernt ist. Ordnungsparameter können auch gemessen werden.

Osmotischer Druck

(engl. *osmotic pressure*) Entsteht, falls zwei Lösungen durch eine semipermeable Membran getrennt werden, die nur das Lösungsmittel, aber nicht die gelösten Substanzen passieren lässt. Es entsteht ein hydrostatischer Druckunterschied, der den Fluss des Lösungsmittels durch die Membran zum Verschwinden bringt. Der osmotische Druck, oft mit π bezeichnet, wird in sehr guter Näherung durch das van't Hoff'sche Gesetz beschrieben, falls die gelösten Moleküle klein sind (s. Kapitel 3). Für Polymerlösungen gelten andere Gesetze (s. Kapitel 24).

Osteoblasten

An der Knochenbildung beteiligte Zellen. Sie entwickeln sich durch Differenzierung von im Knochenmark residierenden, teilungsfähigen Stammzellen (die man auch Mesenchymzellen nennt). Die Zellen adhären auf Knochen und bilden ständig neue Knochensubstanz. Dazu synthetisieren sie das Glykoprotein Osteopontin sowie Kollagen-1, an denen sich die Biomineralien Hydroxylapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ und Calciumphosphat (CaPO_4) abscheiden (s. auch Kapitel 1). Vorhandenes Knochenmaterial wird durch die *Osteoklasten* abgebaut, sodass das Knochenmaterial ständig erneuert wird und an die Belastung des Körpers angepasst werden kann.

Oxidationsmittel

Ein Stoff, der in einer chemischen Reaktion Elektronen abgibt. Das Oxidationsmittel selbst wird bei dieser Reaktion reduziert. Je nach Reaktionspartner kann ein und derselbe Stoff Oxidations- oder Reduktionsmittel sein. Siehe Abschnitt 4.2.

Oxonium-Ion

In flüssigem Wasser liegen Protonen niemals frei, sondern immer in verschiedenen komplexen Strukturen an Wasser-Moleküle gebunden vor. Die einfachste dieser Strukturen ist das Oxonium-Ion H_3O^+ , das in chemischen Formeln oft stellvertretend für an Wasser gebundene Protonen verwendet wird. Siehe Abbildung 4.1.

Phasen-Stabilisierung

(engl. *phase-locking*) Stabilisierung der Phasendifferenz zwischen einem Oszillator (z. B. ein elektronisches Kontrollsystem) und einem periodischen Eingangssignal. Phasenstabilisierte Signale folgen der Frequenz und der Phase eines Eingangssignals. Das Verfahren spielt eine zentrale Rolle in der Telekommunikation, aber auch in der Biologie, wie bei der Steuerung des Herzmuskels oder unseres Nervensystems.

Phospholipasen

Eine Familie von Enzymen, welche die Abspaltung verschiedener chemischer Gruppen von Phospholipid-Molekülen katalysieren. Phospholipasen A spalten Fettsäuren ab und bilden *Lyso-Phospholipide*. Phospholipase C spaltet die Kopfgruppen (an der Bindung der Phosphatgruppe an das Rückgrat des Lipids) und erzeugt so zwei wichtige Botenmoleküle der intrazellulären Signalkaskaden: IP3 (Inositol-triphosphat) und Diacylglycerid.

Phosphorylierung

Darunter versteht man die Ankopplung von Phosphatgruppen an Biomoleküle wie Proteine und Zucker. An Proteine werden Phosphatgruppen vorwiegend an Aminosäuren mit OH-Gruppen wie Serin, Tyrosin und Threonin gekoppelt. Die Phosphorylierung spielt eine zentrale Rolle für die Kontrolle der Aktivität von Proteinen. Sie wird durch Enzyme vermittelt, die man allgemein *Kinasen* nennt, die aber für jedes Protein spezifisch sind. In der Regel gibt es zu jeder Kinase eine antagonistisch wirkende *Phosphatase*, welche die Phosphatgruppen wieder entfernt. Die beiden Enzyme treten bei zellulären Regelprozessen oft als antagonistisch wirkendes Tandem auf.

Photosynthetische Bakterien

Mehrere Klassen von Bakterien, die wie Pflanzen in der Lage sind, Licht als Energiequelle für ihren Metabolismus zu nutzen. Schwefelbakterien nutzen die durch Licht-getriebene (photolytische) H_2S -Spaltung gewonnene Energie zur Synthese von Biomasse aus. Purpurbakterien sind zur Photosynthese fähig, aber nicht zur Erzeugung von Sauerstoff durch Wasserspaltung. Sie sind daher auf andere Elektronenquellen wie Schwefelwasserstoff angewiesen. Cyanobakterien (früher auch Blaualgen genannt) hingegen besitzen zwei Photosysteme und sind dadurch zur Photosynthese durch Wasserspaltung fähig. Sie können wie Pflanzen Sauerstoff erzeugen. Man nimmt an, dass wir den meisten Sauerstoff auf der Erde diesen Bakterien verdanken.

pH-Wert

Der negative dekadische Logarithmus der Protonenkonzentration in einer wässrigen Lösung. Siehe Abschnitt 4.1, Gleichung (4.7).

pK_A-Wert

Dieser Wert ergibt sich aus dem Massenwirkungsgesetz für die Dissoziation einer Säure. Siehe Abschnitt 4.1, Gleichungen (4.4) und (4.9). Eine Säure liegt genau halb dissoziiert vor in einer Lösung, deren pH-Wert mit dem pK_A-Wert der Säure übereinstimmt.

Plateau-Rayleigh-Instabilität oder Rayleigh-Instabilität

Zerfall eines dünnen Flüssigkeitsstrahls in periodisch verdickte und verdünnte Bereiche, die man an fließenden Wasserhähnen sehr gut beobachten kann. Ursache ist die Oberflächenspannung, welche zylindrische Strahlen in Tropfen umzuformen versucht, um die Oberflächenenergie zu erniedrigen. Dabei können metastabile Zustände entstehen, wie periodische Verdickungen, oder der Strahl kann instabil werden und in kleine Tropfen zerfallen. Die verwandte Rayleigh-Taylor-Instabilität tritt auf, wenn eine dichtere Flüssigkeit eine leichtere beschleunigt. Auch hier kommt es bei unmischbaren Flüssigkeiten zu einem Zerfall ursprünglich glatter Flüssigkeitsfilme in viele kleine Bereiche.

Pleckstrin- oder PH-Domäne

Diese rund 120 Aminosäuren umfassende Domäne findet man bei vielen Proteinen, welche an der Signalübertragung beteiligt sind. Sie bindet insbesondere spezifisch an Phosphatidyl-inositol mit mehreren freien Phosphatgruppen wie Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PI-4,5-P2) oder Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PI-4,5-P2) und kann auf diese Weise Proteine (insbesondere Kinasen und Phosphatasen) an die Membran ankoppeln. Diese Art der Kopplung spielt vor allem für die Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts eine zentrale Rolle.

Polysaccharid (Oligosaccharid)

Ein Polymer, dessen Monomereinheiten aus Zuckern bestehen (s. Abschnitt 6.3). Dagegen bezeichnet man Moleküle aus wenigen Zuckern als Oligosaccharide.

Positronen-Emission-Tomografie (PET)

Kernphysikalische Methode zur Ganzkörper-Diagnose von Krankheiten und zur Beobachtung enzymatischer Prozesse in Organen. PET basiert auf der Anwendung von Positronen aussendenden Radionukliden. Am häufigsten wird das Isotop ¹⁸F verwendet. Man detektiert die γ -Strahlung, die durch Vernichtung von Elektron-Positron-Paaren entsteht. Bei dieser Reaktion entstehen gleichzeitig zwei γ -Quanten, die in entgegengesetzte Richtung ausgesandt werden. Man registriert die emittierten Lichtquanten mit ringförmig um den Patienten angeordneten Detektoren. Gemessen wird die Koinzidenz der Photonen, die auf entgegengesetzte Detektoren fallen. Da die Positronenquelle auf der Verbindungslinie der beiden Detektoren liegen muss, kann man sie nach der Detektion vieler Ereignisse im Überschneidungsbereich der jeweiligen Verbindungslinien detektieren. Zusätzlich kann man den Laufzeitunterschied der zwei γ -Quanten nutzen, um in jedem Ereignis die Lage der Positronenquelle auf der Verbindungslinie auf ca. 10 cm genau zu bestimmen. Verwendet wird PET zum Beispiel zur Messung

der lokalen Verteilung Isotopen-markierter Glucose im ZNS. So wird beobachtet, welche Regionen des Gehirns besonders aktiv sind. Dabei macht man sich die Tatsache zunutze, dass aktive Nervenzellen besonders viel Glucose aufnehmen. In der medizinischen Diagnostik wird PET hauptsächlich zur Tumordiagnose verwendet.

Proteasen

Enzyme, welche Proteine spalten können, indem sie Peptidbindungen lösen, weshalb sie auch Peptidasen genannt werden. Sie dienen unter anderem dem Abbau der mit der Nahrung aufgenommenen Proteine in einzelne Aminosäuren. Proteasen spielen auch eine wichtige Rolle bei der Umwandlung physiologisch unwirksamer in wirksame Proteine, wie im Fall der Bildung von Insulin aus Proinsulin im Golgi-Apparat. Ebenso wichtig sind Proteasen beim Abbau überflüssiger oder defekter Proteine der Zelle. Die Sondergruppe der *Signal-Proteasen* spaltet Signalpeptide, welche dazu dienen, dass Proteine an bestimmte Zielorte transportiert werden (z. B. in den Zellkern), nach Erreichen des Zielorts wieder ab. Auch dies dient der korrekten Funktion der prozessierten Proteine.

Protein Data Base oder Protein Data Bank

Oft nur PDB genannt. Eine öffentlich und frei zugängliche Sammlung der meisten bekannten dreidimensionalen Strukturen von Proteinen. Siehe den Anhang zu Kapitel 8.

Protein-Domäne

Große Proteine bestehen oft aus Untereinheiten, die auch in isolierter Form (z. B. nach Verdauung der verbindenden Stücke mit Proteasen oder gentechnisch isoliert hergestellt) in ihre native Konformation falten. Diese Untereinheiten heißen „Domänen“. Sehr oft führt jede Domäne bestimmte biologische Funktionen, wie enzymatische Aktivität oder molekulare Erkennung, aus. Sie sind daher Funktionsmodule. Kleine Proteine bestehen aus einer einzigen Domäne.

Protein

Auch Eiweiß genannt. Eine der wesentlichen Substanzklassen in der Biologie. Siehe die Abschnitte 6.1, 7, 8 und 9.

Protein Homologie-Domänen

(engl. *protein homology domain*) Unter Homologie-Domänen versteht man spezifische Regionen in verschiedenen Familien von Proteinen, welche eine gemeinsame genetische Signatur haben und möglicherweise auch eine gemeinsame Wurzel in der Evolution. Die Domänen fungieren oft als Bindungsstellen für kleine Peptidsequenzen mit weniger als 10 Aminosäuren. Häufig auftretende Beispiele sind: Erstens die oben erwähnten Pleckstrin-Domänen (PH domain), welche die Signal-Lipide PI-4,5 P3 und PI-3,4,5 P3 erkennen und zweitens die Src Homologie-Domänen (SH 2 und SH3). SH2 erkennt insbesondere andere Proteine mit phosphorylierten Tyrosin-Resten. Sie spielt daher eine wichtige

Rolle für die durch Tyrosin-Rezeptor-Kinase vermittelte Signalübertragung, indem sie an aktivierte Rezeptoren bindet und dadurch selbst aktiviert wird.

Proteom, Proteomik

(engl. *proteomics*) Die Gesamtheit aller in einer Zelle oder einem Lebewesen vorhandenen Proteine. Sie ist durch das Genom bestimmt. Während die genetische Information der Zellen festgelegt (und damit nahezu statisch ist), ist das Proteom eine dynamische Größe. Die relative Menge eines Proteins in einer Zelle hängt von vielen äußeren Bedingungen ab, wie Temperatur, Gesundheitszustand oder äußere mechanische Kräfte. Innere Bedingungen, wie der Zellzyklus, spielen ebenfalls eine sehr große Rolle. Abhängig von diesen Kontrollparametern wird die Proteinbiosynthese und Degradation kontrolliert, was Anpassungen des Proteoms ermöglicht. Hinzu kommt, dass viele Proteine nach der Biosynthese (z. B. im Golgi-Apparat) modifiziert werden. Unter Proteomik versteht man die Untersuchung des Proteoms einer Zelle meistens mit automatisierten Hoch-Durchsatzverfahren der biochemischen Analytik.

Protozoen

Eukaryotische Einzeller (oft auch Urtierchen genannt), welche im Unterschied zu Körperzellen selbständige Lebewesen sind. Sie sind ca. 50 µm groß, besitzen keine Zellwand und können als Einzeller oder im Verband leben. Der Begriff der Protozoen beruht auf der Lebensweise eines Organismus und wird in der modernen Systematik durch Verwandtschaftsbeziehungen ersetzt, da diese durch moderne genetische Analysen wesentlich genauer sind.

Pseudopodien (Pseudofüßchen)

Breite, spontan entstehende Ausstülpungen amöbenartiger Zellen, die vorwiegend der Fortbewegung der Zellen dienen. Sie können durch Spreiten auf der Oberfläche (analog zu Lamellipodien) entstehen oder erst in die dritte Dimension ausweichen und dann adhären.

Puffer

Eine wässrige Lösung, die (oft neben anderen Stoffen) eine Säure und eines ihrer Salze enthält. Die Säure kann auch durch eine Base ersetzt sein. Ein Puffer kann durch chemische Reaktionen entstehende Protonen aufnehmen, bzw. Protonen liefern, ohne seinen pH-Wert stark zu ändern. Siehe Abschnitt 4.1.

Punktmutation

(engl. *point mutation*) Änderung der genetischen Information, die auf der Veränderung nur eines Codons (ein Triplet aus Nukleotiden, das genau eine Aminosäure kodiert) beruht. Meist wird nur ein einziges Nukleotid ersetzt. Die durch das Triplet mit dem geänderten Nukleotid kodierte Aminosäure kann damit geändert werden. Ein fatales Beispiel der Wirkung einer Punktmutation ist die *Sichelzellenanämie*, die auf der Aggregation des geänderten Hämoglobins bei Sauerstoffmangel führt und bizarre Formen der Erythrozyten hervorruft.

Quantenausbeute

(engl. *quantum yield*) Ein Maß zur Charakterisierung der Effizienz photophysikalischer oder photochemischer Prozesse. Die Quantenausbeute ist der Bruchteil der von den Molekülen absorbierten Photonen, der zu einer erfolgreichen Reaktion führt. Im Fall der Fluoreszenz ist die *Fluoreszenz-Quantenausbeute* gleich dem Bruchteil absorbierten Photonen, die wiederum zur Fluoreszenzemission führen.

Quartärstruktur

Der Aufbau von großen Proteinen aus einzelnen, meist locker verbundenen Domänen. Der Begriff wird auch auf den Aufbau von Proteinkomplexen aus Domänen angewandt. Siehe die Kapitel 7 und 8.

Rab-Proteine

Rab sind periphere Membranproteine, die für die Beschleunigung der Fusion kleiner Vesikel mit der Plasmamembran verantwortlich sind. Sie gehören zur Superfamilie der Ras-GTPasen. Sie ragen aus der Oberfläche der intrazellulären Vesikel in das Zytosol und sind über einen spezifischen Lipidanker in der Membran der Vesikel verankert. Die Rab-Proteine werden wie alle Ras-Proteine durch GDP \rightarrow GTP aktiviert. GTP-Rab wirkt, in noch unbekannter Weise, mit Adaptor-Proteinen zusammen und koppelt die Vesikel an die Innenseite der Plasmamembran an.

Rayleigh-Instabilität

Siehe Plateau-Rayleigh-Instabilität.

Reaktionspfad, Reaktionskoordinate

Eine chemische Reaktion wird mikroskopisch als Bewegung eines thermodynamischen Mikrozustands im Phasenraum beschrieben. Die entscheidende Größe für eine chemische Reaktion ist die Freie Enthalpie des Gesamtsystems bei festgehaltenen Koordinaten der Reaktionspartner, d. h. die Freie Enthalpie an jedem Punkt des Phasenraums. Ausgangs- und Endzustand der chemischen Reaktion sind lokale Minima der Freien Enthalpie. Da die Besetzungswahrscheinlichkeit eines Zustands proportional zu $\exp\left(-\frac{G}{k_B T}\right)$ ist, verlaufen die allermeisten Reaktionen entlang des Pfades der geringsten Freien Enthalpie, der beide Zustände verbindet. Dies ist der Reaktionspfad. Als Reaktionskoordinate bezeichnet man die Bogenlänge entlang dieses Pfades.

Redoxpotenzial

Das Redoxpotenzial misst die Neigung eines Stoffs, in einer Redoxreaktion Elektronen aufzunehmen. Es ist definiert als die Freie Enthalpie eines Moleküls der Substanz geteilt durch die Ladung des Elektrons. In chemischen Reaktionen fließen Elektronen immer von niedrigerem zu höherem Redoxpotenzial. Allerdings ist zu beachten, dass auch hier das Massenwirkungsgesetz gilt, d. h. das Redoxpotenzial unter Standardbedingungen (berechnet aus der Freien Enthalpie unter Standardbedingungen) ist zu unterscheiden vom tatsächlichen Redoxpotenzial

einer Substanz. Letzteres hängt sowohl von Konzentration der Substanz als auch der Temperatur ab. Siehe Abschnitt 4.2.

Redoxreaktion

Eine chemische Reaktion, bei der Elektronen übertragen werden. Siehe Abschnitt 4.2.

Reduktionsmittel

Ein Stoff, der in einer chemischen Reaktion Elektronen abgibt. Das Reduktionsmittel selbst wird bei dieser Reaktion oxidiert. Je nach Reaktionspartner kann ein und derselbe Stoff Reduktions- oder Oxidationsmittel sein. Siehe Abschnitt 4.2.

Reverse Transkriptase

(engl. *reverse transcriptase*) Ein Enzym, das in der Lage ist, RNA in DNA umzuschreiben. Dabei wird zuerst ein Hybrid aus DNA und RNA erstellt, wobei ein RNA-Strang als Vorlage dient. Dieser Schritt erfolgt durch eine durch RNA-gesteuerte DNA-Polymerase. Der RNA-Bestandteil wird anschließend wieder abgebaut. Am Ende wird die einzelsträngige DNA zu einem DNA-Doppelstrang mit einer DNA-abhängigen Polymerase ergänzt. Alle genannten Enzyme sind Bestandteile der Reversen Transkriptase. Der Namensbestandteil „revers“ beschreibt die Tatsache, dass Reverse Transkriptase genetische Information von der RNA zur DNA transportiert, während sonst die genetische Information immer von DNA zur RNA fließt.

RNA

Ribonukleinsäure (engl. *ribonucleic acid*). Die genetische Information wird zu Verarbeitungszwecken in RNA umgeschrieben. Außerdem sind manche RNA-Moleküle (Ribozyme genannt) biochemisch aktiv. Siehe Abschnitt 6.2, Abbildung 6.8.

Saccharid

Alternativer Name für Zucker. Siehe Abschnitt 6.3.

Säure

Eine chemische Substanz, die Protonen abgeben kann. Siehe Abschnitt 4.1.

Sekundärstruktur

Bei Proteinen die räumliche Geometrie auf Längenskalen von wenigen Peptidbindungen. Beispiele sind die α -Helix und das β -Faltblatt. Siehe die Kapitel 7 und 8.

Sequenz

In den linearen Biomakromolekülen (Proteine, DNA, RNA) wird die Abfolge der Grundbausteine (Aminosäuren bzw. Nukleinsäuren) als Sequenz, oder auch Primärsequenz, bezeichnet. Die Sequenz von Proteinen wird immer in der Reihenfolge von der terminalen Aminogruppe zur terminalen Säuregruppe angegeben. Die Sequenz von Polynukleinsäuren wird vom 5'- zum 3'-Ende geschrieben.

Skalengesetze

Potenzgesetze zwischen einer physikalischen Größe $g(x)$ und einem Parameter x der Form $g(x) \propto x^t$. Vergrößert man x um den Faktor b so wird aus $g(x)$ die Funktion $g(bx) = b^t x^t \propto x^t$, d. h. nur der Vorfaktor ändert sich dabei. Häufig sind die Exponenten praktisch unabhängig von der Struktur des Systems.

Somatische Zellen

(engl. *somatic cells*) Alle Zellen der Pflanzen oder Tiere, außer Keimzellen. Die Erbinformation von somatischen Zellen wird nicht an Nachkommen weitergegeben.

Stammzellen

(engl. *stem cells*) Nicht oder wenig differenzierte Zellen, welche die Fähigkeit besitzen sich dauernd zu teilen und Tochterzellen zu produzieren. Es gibt mehrere Arten von Stammzellen. Pluripotente (oder omnipotente) Stammzellen besitzen die Fähigkeit durch Differenzierung fast alle Arten von Zellen zu bilden (wie Nervenzellen, Muskelzellen oder Endothelzellen). Sie benötigen dazu aber in der Regel das Gewebe als Matrix, um in die richtige Art von Zelle zu differenzieren. Multipotente Stammzellen (auch Progenitorzellen genannt) besitzen dagegen nur die Fähigkeit spezifische Zellen (wie Muskelzellen oder Endothelzellen) zu bilden. Sie entstehen aus pluripotenten Zellen und befinden sich im Gewebe, um ständig abgestorbenen Zellen oder durch Verletzung entfernte Zellen zu ersetzen. Ein besonders wichtiges Beispiel ist die in Kapitel 2 beschriebene Erneuerung der Blutzellen.

Stereovili

Haarartige Auswüchse auf Sinneszellen des Hörorgans auf den Haarzellen des Cortischen Organs. Sie werden durch stark vernetzte Bündel aus Aktin stabilisiert.

Sterische Wechselwirkung oder sterische Abstoßung

Das Wechselwirkungspotenzial, das die gegenseitige Undurchdringlichkeit der Atome und Moleküle beschreibt. Es wird oft durch Näherung der Atome als harte Kugeln oder durch ein sehr steil anwachsendes Potenzial (r^{-12}) (wie in Lennard-Jones-Potenzial) angenähert.

Tertiärstruktur

Bei Proteinen die Faltung zu meist wenige Nanometer großen Domänen. Siehe die Kapitel 7 und 8.

Thalamus

Teil des Gehirns, der für die Kopplung zwischen der Großhirnrinde (Kortex) und den Sinnesorganen oder Tastorganen verantwortlich ist. Er fungiert insbesondere als Schaltstelle zwischen Sinnesorganen und Großhirnrinde, wobei er insbesondere für das Herausfiltern der für den Organismus gerade wichtigen Informationen entscheidend ist.

Thermische Energie

(engl. *thermal energy*) In vielen grundlegenden thermodynamischen Beziehungen ist das Produkt aus Boltzmannscher Konstante k_B und Temperatur die natürliche Einheit der Energie. Meistens bezieht sich der Begriff „thermische Energie“ auf den Wert von $k_B T$ bei 300 K ($4,14 \cdot 10^{-21}$ J oder 0,025 eV).

Thermodynamisches Potenzial

Eine der Größen Innere Energie $U(S,V)$, Freie Energie $F(T,V)$, Enthalpie $H(S,p)$ und Freie Enthalpie $G(T,p)$. Angegeben sind jeweils die „natürlichen Variablen“ (Temperatur T , Druck p , Entropie S , Volumen V). In jedem thermodynamischen System nimmt dasjenige thermodynamische Potenzial, dessen natürliche Variablen vorgegeben sind, einen Extremalwert an.

Thrombozyten (= Blutplättchen)

Kernlose Zellen des Blutzellsystems, die in großer Zahl im Blutstrom schwimmen und der Wundheilung dienen. Sie entstehen durch Abspaltung von Riesenzellen (= Megakaryozyten) im Knochenmark.

Tight cell junctions

Linienartige Anordnungen von engen Kontakten zwischen Zellen (vermittelt durch Zelladhäsionsproteine der Cadherin-Familie). Sie verhindern den Materialtransfer durch Monolagen aus Endothel- und Epithelzellen.

Tonische und phasische Antworten

Unter tonischer Antwort versteht man das dauernde Feuern der Neuronen, das mindestens so lange anhält, wie der äußere Reiz besteht. Bei dem phasischen Reizmuster feuern die Neuronen nur einige Impulse (zwischen 1–10) und werden dann langfristig abgeschaltet, indem die jeweilige Zelle permanent depolarisiert wird.

Tunneldioden

Sie bestehen aus p-n-Übergängen hoch dotierter p- und n-Halbleiter. Durch die hohe Ladungsdichte wird der Übergangsbereich sehr eng (~ 10 nm) und die Elektronen und Defektelektronen können zwischen den Halbleitern tunneln. Bei sehr kleinen und sehr großen elektrischen Spannungen V zwischen den Leitern verhält sich der p-n-Übergang wie eine normale Diode, d. h. der Strom steigt mit der Spannung monoton an. In einem Zwischenbereich der Spannung wird der Strom jedoch durch die, durch die Barriere tunnelnden, Elektronen bestimmt. Da mit zunehmender Spannung immer mehr Elektronen durch die Barriere tunneln, nimmt der Widerstand der Diode mit der Spannung ab, d. h. man erhält eine negative Kennlinie.

Unvollständiges Differenzial

Begriff aus der Thermodynamik. Siehe Vollständiges Differenzial.

Van der Waals-Radius

Bei der Annäherung zweier Atome (oder Ionen) tritt aufgrund der Überlappung der Elektronenwolken ab einem gewissen Abstand eine extrem starke Abstoßungskraft auf. Die Atome verhalten sich daher in erster Näherung wie harte Kugeln, deren Radius als van der Waals-Radius bezeichnet wird.

Vesikel

(engl. *vesicle*) Kleine Bläschen, insbesondere solche aus (ca. 4 nm dicken) Lipid-Doppelschichten oder aus biologischer Membran. Beispiele für letztere sind Transportvesikel in Zellen oder Bruchstücke aus dem Endoplasmatischen Retikulum, die man auch *Mikrosomen* nennt.

Vollständiges Differenzial

In der Thermodynamik wird das Differenzial einer Zustandsfunktion als vollständiges Differenzial bezeichnet. Da sich bei Integration über ein solches Differenzial unabhängig vom Integrationsweg derselbe Wert ergibt, können die thermodynamischen Potentiale und andere Zustandsfunktionen durch Integration über ihre Differenziale bestimmt werden. Größen, die von der Vorgeschichte des Systems abhängen, wie die am System geleistete Arbeit A , bilden so genannte unvollständige Differenziale, bei denen der Wert des Integrals vom Integrationsweg abhängt.

Wiener-Chintschin-Theorem oder Wiener-Khinchin-Theorem

Fundamentales Theorem der statistischen Mechanik. Es besagt, dass die Fourier-Transformierte der Korrelationsfunktion einer statistischen Größe (in Raum oder Zeit) gleich der spektralen Leistungsdichte (bzw. des Leistungsspektrums) der (räumlichen oder zeitlichen) Fluktuation ist.

Zustandsfunktion

Eine thermodynamische Größe, die wie eine Zustandsvariable nur vom momentanen Zustand des Systems abhängt.

Zustandsgleichung

Ein physikalisches Gesetz, das verschiedene Zustandsvariable eines thermodynamischen Systems verknüpft. Das wohl bekannteste Beispiel ist die Zustandsgleichung des idealen Gases $p = \frac{N}{V} k_B T$, die Druck p , Teilchenzahl N , Volumen V und Temperatur T verknüpft. In diesem Fall können von den vier Zustandsvariablen nur drei voneinander unabhängig gewählt werden.

Zustandsvariable

Eine Zustandsvariable ist eine thermodynamische Größe, die ausschließlich vom momentanen Zustand des Systems bestimmt ist und nicht von der Vorgeschichte abhängt. Beispiele sind Temperatur, Druck, Volumen und chemisches Potenzial. Normalerweise wählt man das Wort Zustandsvariable für Größen, die von außen vorgegeben werden können (Druck, Volumen, Temperatur) und Zustandsfunk-

tion für Größen, die sich abhängig von den Randbedingungen einstellen (Entropie sowie alle thermodynamischen Potenziale). Als extensive Größen oder Zustandsvariablen bezeichnet man Zustandsvariablen, deren Wert mit der Größe des Systems skaliert (z. B. Volumen, Innere Energie und Entropie). Im Gegensatz dazu sind intensive Zustandsvariable unabhängig von der Systemgröße (z. B. Druck, Temperatur, chemisches Potenzial).

Zytokine

(engl. *cytokine*) Eine Klasse von extrazellulären Proteinen (Molekulargewicht typischerweise 10–20 kDa) welche, wie Hormone oder Neurotransmitter, der Kommunikation zwischen Zellen dienen und vor allem Zellteilung und Zelldifferenzierung anregen. Sie spielen z. B. eine zentrale Rolle bei der Stimulation des Immunsystems durch T-Lymphozyten. Eine Gruppe von Zytokinen (*Interleukine*) wird z. B. von Lymphozyten (der B-Klasse) aufgrund einer Immunreaktion produziert und stimuliert die Granulozyten der Blutbahn zum Durchtritt durch das Endothelium.

Zytoplasma oder Zytosol

Der den zytoplasmatischen Raum der Zellen ausfüllende Elektrolyt mit gelösten Proteinen, in welchen die Kompartimente der Zelle (d. h. die Organellen) suspendiert sind.

Zytoskelett

(engl. *cytoskeleton*) Gesamtheit des intrazellulären Netzwerke, bestehend aus drei Subsystemen, dem Aktin-Netzwerk, dem System der Intermediärfilamente (IMF) und der sternartigen Anordnung der Mikrotubuli (MT).

Stichwortverzeichnis

a

- Abbesche Theorie des Mikroskops 848
 ABC-Transporter 269
 absolute Refraktärzeit 443
 Acetylcholin (ACh) 419, 451
 Acetylcholin-Rezeptor 452
 α -Actinin 638
 Actin-Myosin Bündel 666
 Actuator 523
 Adaption 289, 791
 Adaptor 565
 Adducin 260
 Adenin 96
 Adeno Virus 801
 Adenosintriphosphat 29, 104, 700
 Adhäsionsdomänen 391, 395
 Aequorin 728
 afferente Nerven 757
 Affinität 220
 AIOS-virus s. Retroviren
 α -Aktinin 517, 545
 Aktin-Bindeproteine 516, 518
 Aktin-Dynamik 611f
 Aktin-Kortex 31, 393, 508
 Aktin-Viskoelastizität 628
 Aktinnetzwerk 501
 Aktionspotenzial 435
 Aktivator 773
 Aktivitäten 124
 Aktivitätskoeffizienten 124, 145
 Aktuatoren 773
 Allosterie 223
 amakrine Zellen 455
 Aminosäuren 92
 amphipatische Helizes 267, 268
 Amylose 103
 anaerobe Photosynthese 673
 anaerobe Glykolyse 551
 Anaphase 35
 Anfinzen-Hypothese 157
 Ankyrin 259, 779
 Anregungszustand π^* 713, 721
 Ansprechzeit 619
 anterograder Transport 417
 antigen präsentierende Zellen (APZ) 394
 Antikörper 848
 antiplectische Wellen 575
 Antwortfunktionen 246, 623
 Apex 765
 Aquaporin 270
 Arbeitsverhältnis 560
 Arp2/3 Komplex 517
 Arrhenius-Gleichung 159
 ATP 104
 ATPase 271, 384
 ATP-Synthase 693
 Atrioventrikularknoten des Herzens 490
 auditiver Kortex 758
 Auge 284
 Auge Glaskörper 585
 Außenohr 751
 äußere Haarzellen 757
 Austauschproteine für Lipide 373
 autokatalytische Prozesse 5
 Auto-Radiografie 860
 A-V-Bündel (Herz) 490
 Avidin 223
 Avidin-Biotin-Bindung 224
 Axon 416
 Axonhügel 453
 Axonmodelle 471
 Aziditätskonstante 79

b

- Bakterien 25, 553f
 Bakterio-Chlorophyll *a* 681, 704
 Bakteriophagen 800, 838
 Bakterio-Pheophytin 682
 Bakterio-Rhodopsin 675
 Bande IV 259

- Basalmembran 581, 655, 664
 Basalmembran 755
 – charakteristische Frequenz 761
 basische Myelin-Proteine 418, 476
 behinderte Rotation 114, 310
 Benetzungübergang 399
 Beweglichkeit 424
 biegeelastische Energie 342
 Biegefluktuationen von Membranen 317
 Biegung von Platten und Schalen 336
 Bildverarbeitungsmethoden 853
 binäre Mischung 362
 Bindegewebe 638
 Bindungswinkel 113
 Binodale 387
 biochemischer Schalter 563
 Biochip 221
 biologische Adaption 563
 Biolumineszenz 728
 Biomineralisierung 16, 666
 Biosynthese 273
 Biotin 223
 bipolare Zellen 454
 Blutgefäße 391
 Blutplättchen 34, 514
 Bornsche Selbstenergie 119
 Botenmoleküle 282
 Botenstoff c-GMP 286
 Bragg-Williams-Modell 598
 Brenztraubensäure 698
 Brownscher Oszillator 242
 Brownsches Flügelrad-Modell 277, 539
 buckling force (Knickkraft) 616
 buckling transition 810, 812
 Burgers-Vektor der Versetzung 812
- c**
- C3-Fixierungsprozess 677
 Cadherine 409, 699
 Calmodulin 653, 654, 657
 Calvin Zyklus 676
 Capside 799
 Capsomere 808
 Cardiolipin 263
 Carotinoid (C) 681, 703
 β -Catenin 655
 Caveoli (caveola) 377
 Caveolin 377
 Cdc42 524
 Chaperone 276
 Charge-Transfer-Komplex 723
 Chelat 692
 Chelatbildung 456
 chemische Reaktionen 68
 chemische Synapsen 419
 chemisches Potenzial 45
 chemo-osmotische Hypothese 693
 Chemorezeptoren 565
 chemotaktisches Sensorsystem 554
 Chemotaxis 562
 Chlorophylle 678, 705
 Chloroplasten 679
 Cholchicin 507
 cholesterische Phasen 298
 Chondroitinsulfat 583
 Chondrozyten 583
 Chromatin 28, 820
 Chromophoren 682, 684, 704
 Chromosomen 847
 Cilien 571
 cis-trans-Isomerisierungen 723
 Clathrate 137
 Clathrin 280, 377
 Clathrin-Mantel 281
 Clausius-Mossotti-Beziehung 118
 CO₂-Fixierung 676
 Coatamere 377
 coated pits 280, 378
 Cochlea 751
 Cochlea-Teilung (S-T-R-cochlea partition)
 755, 767
 Cofilin 515, 517
 Cortexilin 517
 Cortisches Organ 755
 Cyanobakterien 679
 Cytochrom *b* 682, 684
 Cytochrom *c* 674, 682
 Cytokine 411
 Cytosin 96
- d**
- Deborah-Zahl 620
 Deformation der Zelle 336, 337
 Deformationsfeld-Kartierung 659
 Deformationsklammer 787, 791
 Dehydratisierungskräfte 138
 Deitersche Zellen 756, 781
 Deltaeder 805
 Denaturierung 157
 dendritische Zellen 410
 Depletion Forces (Verarmungskräfte)
 139
 Depolarisation 453
 Desmin 545, 586
 Desmosomen 586
 Desoxyribonukleinsäure (DNS) 98

- dichte Zellverbindungen (tight junction) 419
- Dichtegradientenmethode der Zentrifugation 862
- DIC-Mikroskopie 856
- Dictyostelium 511
- Differential-Kalorimetrie 302
- Differenzierung 23
- Diffusion in Membranen 317f
- Diffusion in Suspensionen 640
- Diffusion 70, 835, 836
- Diffusionsgleichung 71, 871
- Diffusionsstrom 421
- diffusive Stromdichte 423
- Dilatation 336
- dipolare Wechselwirkung 126
- Disaccharid Lactose 832
- Disklination 805
- Diskozyt 342
- Dispersionskraft 356
- Dispersions-Wechselwirkung 128
- Dissoziationsgrad 80
- DNA-Doppelhelix 835, 840
- DNA-Kondensation 828
- DNA-Replikation 835, 840
- DNA semikonservative Replikation 864
- Dolicholsulfat 275
- Donnan-Gleichgewicht 426
- Donnan-Potenzial 426
- Doppeltangentenkonstruktion 387
- duty ratio (Arbeitsverhältnis) 530, 560
- Dynactin 533
- Dynamik von Membranen 297, 315
- Dynamin 379
- dynamische Rauigkeit 351
- dynamische Sedimentationsmethode der Zentrifugation 865
- dynamische Zähigkeit 868
- Dynein 533, 571
- Dystrophin 259
- e**
- effektiver Druck 759
- Effektoren 467
- efferente Neuronen 757
- Einstein-Beziehung 71
- Einstein-Koeffizient der Absorption 715
- Einstein-Relation 871
- Elastizität homogener Gele 634
- elektrisch induzierte Deformation 775
- elektrische Synapsen 419
- elektrisches Membranpotenzial 421
- elektrochemisches Potenzial 60, 424
- Elektrodeformation 558
- Elektroenzephalografie 489
- Elektrokardiogramm (EKG) 491
- Elektromotilität 773
- Elektronentomografie 847
- Elektronentransfer-Kette 676, 687, 698, 699
- Elektronen-Zwischenspeicher 85, 675
- Elektron-Loch-Paar 723
- Elektrorotation 558
- Elektrostatische Wechselwirkungen von Proteinen 118
- Endolymphe 794
- Endophilin 379
- Endoplasmatisches Retikulum ER 29–32, 276
- Endosome 281
- Endothelium 391, 404, 648
- Endothelzellen 391, 647
- Endozytose 277, 280
- energetische Barrieren 159
- Entbindungsdruck 352
- Enthalpie 44
- Entmischung 362, 387
- Entnetzung 399
- Entropie 41, 57, 352, 600
- Entropiefedern 260, 592
- entropischer Entbindungsdruck 352
- Ephrine 292
- Epidermis 392
- Epitaxie 15
- Epithelzellen 757
- Epsin 379
- Erholungsphase (Refraktärphase) 443
- ERM-Domäne 785
- Erregung der Cochlea 765
- Erythroblasten 33
- Erythropoietin 33
- Erythrozyten 33, 257
- Escherichia coli (E.coli) 553
- Espin 784
- Eukaryonten 23, 91
- Eukaryontische Zellen 24
- Eulergleichung der Polyeder 806
- Eustachische Röhre 751
- Eutektikum 364
- Exozytose 277
- extensive Größe 46
- extrazelluläre Matrix 31, 581
- Exzessgrößen 361
- Exziplexe, Exzimere 722
- exzitatorische Synapsen 419

f

β -Faltblatt 177
 Faltungstrichter 171
 Farbstoffaggregate 730
 Fascin 513
 faserverstärkte Polymere 589
 Federbalken 228
 Ferredoxin
 Fibronektin 404
 Ficksche Gesetze 70, 870
 Filamin 517
 Filipodien 513
 Fimbrin 515, 517
 Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS) 318, 324, 329
 Flagellin 567
 Flagellum 555, 571
 Flecken-Klemmtechnik (Patch-Clamp) Technik 436, 441, 442
 Flexibilität semiflexibler makromolekularer Ketten 594
 Flory-Parameter 594
 Flory-Radius 594
 Fluid-Mosaik-Modell 359
 fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) 317
 Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FKS) 318, 324, 329
 Fluoreszenzsonde 859
 flüssigkristalline Ordnung 312
 flüssigkristalline Phasen der Lipide 299
 Fodrin 259, 517
 Fokalkontakte 395, 665
 Föppl-von Karman-Schalentheorie, FvK-Theorie 809
 Föppl-von Karman-Zahl 810
 formale Stabilitätsanalyse 480
 Formin (Aktin-Bindeprotein) 515
 Formumwandlung der Flagellen 567
 Franck Condon-Prinzip 723
 Franck-Condon Faktor 725
 FRAP 317
 freie Energie 42
 freie Energiedichte der Adhäsion 398
 Freie Enthalpie 44
 Freie Mischungsenthalpie 361
 Freies Elektronengas-Modell (FE-Modell) 706
 Freie Volumen-Effekte 141
 Freies Volumen-Modell 323
 Fusionsproteine 381, 848

g

GABA 419
 β -Galactoxidase 832
 Gamma-Amino-Buttersäure (GABA) 451
 Ganglioside 284
 Ganglioside 261
 Gaußsche Ketten 591
 Gaußsche Krümmung 338
 gehindertes Gleichgewicht 65
 Geißel 553
 geladene Grenzflächen 307
 Gelbildung 638
 Gele 304, 517, 641
 Gelfraktion 639
 Gelpermeationschromatografie 143, 861
 Gel-Phase 585, 637
 generische Grenzflächenkräfte 391
 Genexpression 829, 843
 Gerüstproteine (Viren) 802
 Gesetz von E. Weber und G. Fechner 758
 grün fluoreszierendes Protein GFP 848
 GFP-Proteine 706
 Gibbs free energy 361
 Gibbs-Duhem-Beziehung 74, 385
 Gibbssche Phasenregel 364
 Gitter-Defekte 305, 805
 Glaskörper, Auge 585
 glatte Muskulatur 543, 654
 glattes endoplasmatisches Retikulum 29, 273
 Gleichverteilungssatz 53
 Gleitmodell der Cilien 572
 globale Wechselwirkungen 168
 Glycerophospholipide 360
 Glykane 584
 Glykogen 101
 Glykokalix 31, 32, 257, 392
 Glykolipide 103, 263
 Glykolyse 33
 Glykoprotein gp120 801, 803
 Glykoproteine 103
 Goldmann-Gleichung 422
 Goldmann-Potenzial 430
 Golgi-Apparat 29, 279, 860
 Golgi, cis, trans, mediale Fraktion 30
 Gouy-Chapman Schicht 126
 Gouy-Chapman-Debye-Theorie 308
 Gramnegativ 24
 Grana 679
 Gravitationsenergie 400
 green fluorescent protein (GFP) 728
 Grenzyklus 481, 489, 788
 großkanonisches Ensemble 58
 großkanonisches Potenzial 59

Grünalgen 575
 gtg-Klinke 311
 GTPase 523
 GTPasen der Rho-Familie 530
 Guanin 96
 Guanosin-Zyklase (GZ) 289
 Gyrasen 824
 Gyrationenradien 603

h

Haarzellen 773, 783
 Haltekraft 549
 Hämagglutinin 801
 Hamakerkonstante 353
 Hämoglobin 191, 705
 Hauptsätze der Thermodynamik 39
 Heaviside-Funktion 619
 Hebelarm Modell 539
 Helferzellen (siehe auch Lymphocyten) 411
 Helfrich-Gleichung 338
 Helfrich Modell der Zellformen 338
 Helicotrema 765
 α -Helix 176
 Helmholtz-Schicht 126
 Hemifusion 381, 801
 Hemizellulose 584
 Henderson-Hasselbalch-Gleichung 80
 Herpes-Viren 800
 Hertzsche Dipole 733
 Herzblock 492
 Herzmuskeln 490, 491
 Herzrhythmusstörungen 492, 493, 495
 heterogene GTPase 282, 511
 Hill-Gleichung 546
 Hill-Koeffizient 189, 564
 His-Bündel 490
 Histamin 651
 Histone 28, 820, 864
 – Acetylierung 820
 – Deacetylierung 821
 HIV-Viren 800, 809
 homophile Adhäsionsmoleküle 649
 Hookescher Körper 787
 Hooksches Gesetz 338
 Hopf-Bifurkationen 791
 Hörbarkeitsschwelle 759
 Hörempfinden 758, 759
 Hörgrenze 762
 Hormon 283
 Hormon Rezeptor 2, 293
 Hörsinn der Fledermäuse 766
 Huxley-Hodgkin-Gleichungen 444f
 Hyaluronsäure 581, 584, 585

Hydrodynamik 868
 hydrodynamischer Radius 866
 Hydrolyse 697
 hydrophobe Wechselwirkung 7, 133
 hydrophober Effekt 137, 301
 hydrophober Effekt 780
 Hydrophobizitäts-Kartierung 267
 Hyperpolarisation 453

i

Immunglobulin-Superfamilie 410
 immunologischer Synapsen 407
 Impedanzspektrum mechanische Hormon-
 Verstärker 283
 induzierte Krümmungen 342
 Influenza-Viren 800
 inhibitorische Synapsen 419
 inkohärente Streuung 326, 327
 Innenohr 751, 755
 innere Haarzellen 757
 Insulin 30
 integrale Membranproteine 29
 Integrase 800
 Integrine 410
 intensive Größe 46
 Interkombinationsübergang 722
 Interleukin 411
 interne Konversion 722
 intersystem crossing 722
 intrinsisch ungeordnete Proteine 111, 174
 Invasin 514, 662
 Ionenkanäle 270, 460
 Ionenprodukt 80
 Ionenpumpen ATP-asen 271
 Ionophor 456
 Isomerie 105
 isometrischer Zustand 547
 isomorpher Ersatz 850
 isotonischer Zustand 547

j

Jablonsky-Schema 721

k

Kabelgleichung 473–474
 Kalium-Kanal 449
 Kapillarlänge 353
 Kationen-Kanäle 448
 Keimbildungsenergie 180
 Kelvin-Körper 787, 790
 Keratansulfat 583
 Kernprotein 583
 Kernspin-Tomografie 489

- kinematische Zähigkeit 868
 Kinesin 533
 Kinetik der Phasenumwandlungen 376
 kinetische Fallen 174
 Kinocilium 784
 Klone 411
 Knickkraft (buckling force) 616
 Knick-Übergang (buckling transition) 812
 Knitter-Übergänge 810
 Knochenbildung 666
 Koexistenzbereich 363
 Kollagen IV 638
 Kollagen 404, 583
 kolloidale Sonden 627
 Kompartimente 24
 komplexe Materialien 626
 Kompressibilität der Membranen 347
 Kondensation von Gegenionen 605
 kondensierte Phase 365
 Kondensator 853
 konfluente Zell-Monoschicht 648
 konfokale Mikroskopie 329
 konjugierte Liganden 393
 konjugierte Moleküle 704
 konstitutive Gleichungen 626
 Kontaktwinkel 399
 Kontinuitätsgleichung 870
 Kontraktion des Herzens 490
 Kooperativität von Umwandlungen 187, 467
 Kopplungsproteine (Rab) 384
 kovalente Bindungen 112
 Kraft-Dehnungs-Kennlinie der IHZ 789
 Kraftfeldmikroskopie 664
 Kraftschlag-Modell 531
 Kramers Theorie 162
 Kreisprozesse 72
 Kriech-Experiment 786
 kritischer Punkt 363
 Krümmungselastizität 339
 Kryo-Elektronenmikroskopie 452
 Kryofixierung 848
 Kurzzeitspektroskopie 685
 Kuticularplatte 783, 785
- I**
- L(beta)-Zustand 304
 lac-Operon 833
 Ladungselokalisation 829
 ladungsinduzierte Phasenumwandlung 307
 Ladungskondensation 605, 826
 Ladungsumkehr 830
 Lamellipodium 509
 Laminin 404
 Lamm-Gleichung 866
 Landau-Theorie der Phasenumwandlung 313
 Längenadaptation der Lipide 367
 Langevin-Gleichung 244
 Laplace-Druck 48
 Laplace-Gleichung 49
 laterale Diffusion in Membranen 316
 laterale Inhibition 763
 laterale Phasentrennung 263, 364
 Lautstärke 759
 Lecithin 261
 Leistungsspektren 460
 Lennard-Jones-Potential 130
 Leuchtelektron 716
 Leuchtkäfer 728
 Leuchtproteine 728
 Levinthal-Paradox 167
 LewisX Oligozucker 410
 LewisX-Faktoren 400, 650
 Lichtsammler-Komplexe 679, 680, 681, 682
 Light Harvesting Complex, LHC 679, 682
 lineare Viskoelastizität 619, 790
 Linearmotoren 527
 Lipid-Doppelschicht 258, 301
 Lipide 30, 262
 Lipid-Flippasen 307
 Lipidom 261
 Lipid Legierung 360f
 Lipid-Protein-Doppelschicht (Plasmamembran) 31
 Lipidzusammensetzung 264
 Lipopolysaccharide 261
 lokale Wechselwirkungen 168
 London-Wechselwirkung 128
 Löschung 726
 Luciferase 728
 Lumen 679, 681, 682, 685, 688, 689
 Lymphe 751, 755
 Lymphozyten 410
 lyotrope Flüssigkristalle 298
 lyotroper Polymorphismus der Lipide 298
 lysieren 803
 Lysosome 31, 280
- m**
- Magnetische Pinzette 661
 Makrophagen 410
 Makrozustand 50, 170
 MALDI-Massenspektrometrie 862
 Mangan- Protein 679
 Mantelprotein Clathrin 377
 mikrotubuli-assoziierte Proteine (MAP) 506

MAP-Kinasen 293
 Markscheide 417
 Maschenweite ξ 596
 Massenspektrometrie 862
 Massenwirkungsgesetz der Chemie 69
 Matrixproteine 802
 Maxwell Modell 622
 mechanische Impedanz 621f
 mechanische Signalübertragung 766
 Meerschweinchen 775
 Megakaryozyten 34
 Membranflackern 349
 Membranfusion 383, 802
 Membran Phasenumwandlung 303
 Membranpotenzial stationäres 286, 794
 Membranpotenzial 556
 Membranproteine 30, 266
 Meromyosin 529
 mesenchymale Zelle 32
 Mesoderm 392
 mesomere Grenzstrukturen 115
 Metabolismus 697
 metachronale Wellen 574, 578
 Metaphase 35
 Methylesterase 565
 Methyltransferase 565
 MHC-Komplexe 407
 Mikrodomänen 360
 Mikrokalorimetrie 362
 Mikropipetten-Aspirations-Technik 230
 Mikrorheometrie 626f
 Mikroskopie 848
 Mikroskopie, optische 853f
 mikroskopische freie Enthalpie 170
 mikroskopischer Reaktionspfad 170
 Mikrotubuli 504, 669
 Mikrotubuli-assoziierte Proteine (MAP) 506
 Mikrozustand 169
 Mikrozustände 50
 Minimalflächen der Biegeelastizität 338
 Mischungsentropie 361, 600
 Mischungslücke 363
 Mitochondrien 29, 276, 698
 Mitose 28, 847
 Mittelohr 751
 mittlere Krümmung 338
 Molbrüche 599
 Molecular Crowding 141
 Molekulare Erkennung 219
 Molekularstatistische Modelle der
 Phasenumwandlungen 314
 Moleküldynamik 196, 314
 Molekül-Dynamik (MD)-Simulationen 315

Molekülorbital (MO)-Methode 706
 Motoren 528, 530, 571
 motorische Nervenleiter 416
 Muskel-Endplatte 418, 419
 Muskelfasern 543
 MWC-Modell 192
 Myelinhülle 417
 Myofibrillen 543
 Myoglobin 191
 Myosin II 529
 Myosin V 530
 Myosin 528, 783
 Myristinsäure 377

n

Nagumo Modell 484
 naive Lymphozyten 411
 Nano-Fluoreszenz M 860
 Nanopartikel 626
 native Konformation 95, 107, 157
 Natrium-, Kalium-ATPasen 271
 Natrium Kanal 448
 natürliche Konformation 95
 Navier-Stokes Gleichung 868
 Nebulin 545
 nematische Phase 298, 598
 Nernst-Gleichung 422
 Nernst-Potenzial 87
 Nervenimpulse 287
 Neuralplatte 392
 Neurotransmitter 419
 neutrale Fläche 337
 Neutronen-Streulänge 326
 nichtlineare Verstärkung 780
 nicking 824
 N-Kopplung 278
 Normalton Hören 759
 NSF 384
 Nukleasen 831
 Nukleolus 28
 Nukleoside 97
 Nukleosomen 28, 818
 Nukleotide 97

o

Oberflächenrauigkeit Membranen 349
 Ochsenfrosch 785
 Ohrmuschel als Signalverdoppler 753
 O-Kopplung 278
 oktoakustische Emission der Hörorgane 782,
 785
 Oligomere 458, 463
 Oligozucker LewisX 405

- Ondulationskräfte 352, 393, 832
 Operator, Operon 833
 optische Falle 230
 Ordnungsgrad 312
 Ordnungsparameter 187
 Organellen 24
 Osmolarität 66
 osmotische Kräfte der Polymerlösungen 601
 osmotischer Druck 64
 osmotisches Gleichgewicht (Zellen) 272
 Osteoplasten 666
 Oszillator selbsterregter 489f, 788
 Oszillatorenstärke 716
 otoakustische Emission 782
 oxidative Phosphorylierung 255
 oxidative Phosphorylierung 698
- P**
- P(beta)-Zustand 304
 partielle Größe 46
 Pauli-Prinzip 712
 PCR 186
 PECAM 649
 Peptidbindung 95, 115
 Peptidoglykane 24
 Perilymphe 794
 Peritektikum 364
 Perkolation 638
 Perkolationsschwelle 639
 Permeabilität der Na⁺-Ionenkanäle 467
 Persistenzlänge 353, 594, 595, 605, 606, 608
 pflanzliche Zelle 24
 Phasendiagramme 385
 Phasenkontrastmikroskopie 847, 853
 Phasenporträt 494, 495
 phasenstabil 788
 phasenstabile Verstärkung 788
 Phasenstabilisierung 496
 Phasen-Transformationsfunktion 496
 Phasenumwandlung von Membranen 302
 Phasenumwandlung 466, 596, 598
 Phosphatidyläthanolamin 262
 Phosphatidylcholin 262
 Phosphatidylglycerol (PG) 262
 Phosphatidylinositol (PI) 262
 Phosphatidylserin (PS) 262
 Phospholipasen 263
 Phosphoreszenz 722, 728
 Photobleich-Experiment 687
 Photonenverstärkung beim Schvorgang 256
 Photophysikalischer Primärprozess 683
 Photosynthese der Schwefelbakterien 675
 photosynthetische Membranen 673, 675
 photosynthetische Reaktionszentren 368
 Photosystem 689
 pH-Wert 79
 Phytochrome 721
 piezoelektrische Aktuatoren 778, 795
 Pili 553
 Pinozytose 277
 Planck-Nernst-Gleichung (Diffusionspotential) 428
 Plancksches Diffusionspotenzial 422, 425
 Plasmamembran 32, 258
 Plastin 517
 Plastochinon 678
 Plateau-Modul 630
 plektonemische Bänder 823
 pluripotente Stammzellen 74
 Poincare-Phasenporträt 495
 Poisson-Boltzmann-Gleichung 121
 Polarisierbarkeit 128
 Polyacrylamid 638
 Polyaminosäure 95
 Polyeder 804
 Polyelektrolyte 502, 830
 Polyene 286, 705
 polymerase chain reaction (PCR) 186
 Polymerisationsgrad 599
 Poly-Nukleotide 98
 Populationsinhomogenität 205
 Poren 28
 Poren in Lipidmembranen 381, 384
 Porosität 642
 Positronen-Emissions-Tomografie (PET) 489
 postsynaptische Membran 419
 Potenzgesetze 594
 Prä-Capside (Viren) 809
 präsynaptische Membran 419
 Prestin 778, 779
 Primärprozess der Zelladhäsion 391
 Primärprozess des Schvorgangs 286
 Primärstruktur 109
 Prinzip der Längenadaption 367
 Pro-Capsid (Viren) 802
 Profilin 515
 Prokaryonten, prokaryontische Zellen 23, 91
 Proliferation 32, 282, 292, 648
 Promotor 833
 Prophase 35
 Proteine 95
 Proteinfaltung 155
 Proteoglykane 31, 383

- Protofilamente 507, 567
 Protomere 463
 protomotorische Kraft 556
 Protonen Antrieb 561
 Pseudopodium 509
 Pufferwirkung 81
 pulse chase-Experimente 860
 Punktpreizfunktion
 (point spread function) 852, 854
 Purinbasen 96
 Purkinje Fasern 490
 Purkinje-Bündel 492
 Pyren 705, 717
 Pyrimidinbasen 96
 Pyruvat 674, 698
- q**
- QENS 324
 Quartärstruktur 110
 quasielastische Neutronenstreuung (QENS)
 324
 quasiklassische Näherung 53
 quergestreifter Skelettmuskel 543
- r**
- Rac 524
 Radikal 678
 Rafts (Mikrodomänen) 360, 409
 Ramachandran Diagramm 117
 Ranvierscher Schnürring 418, 476
 Raoult'sches Gesetz 603
 Ras-Superfamilie GTPasen 523
 Ratschen-Modell 539
 raues endoplasmatisches Retikulum 29
 Rauigkeitsfaktor 355, 614
 räumliche Spannungsklammer 437
 Rauschen 794
 Reaktionskoordinate 159
 Reaktionspfad 159
 Reaktionswärme 829
 Reaktionszentren 676, 679
 Redoxpotenzial 85, 88, 678
 Redoxreaktionen 84–85, 677
 Reflektions-Interferenz-Kontrastmikroskopie
 (RIKM) 857
 Refraktärzeit 443
 reguläre Lösung 362
 regulärer Polyeder 806
 Regulator-Gen 833
 Reibungskoeffizienten von Membran-
 proteinen 320
 reine Scherung 337
 Reissnersche Membran 755
- Reißverschluss-Modell 178
 Rekonstitutionsexperimente 267
 Relaxationszeit 621
 Reptation 612, 630
 Reptationsröhre 630
 Retardationsmodulus 621
 Retikular Lamina 780
 Retina 284
 retrograder Transport 417
 Retroviren (AIDS) 800
 reverse Transkriptase 800
 reverse Transkription 803
 Reynoldszahl 591f, 869
 Rezeptor 34, 281, 451
 Rezeptor-Tyrosin-Kinase 648
 rheologische Relaxationszeiten 621
 Rhodospseudomonas sphaeroide 681
 Rhodospseudomonas viridis 681
 Rhodopsin 275
 Rho-GTPasen 523, 654
 Ribose-Abkömmlinge 98
 Ribosomen 29
 Ribulosebiphosphat-Carboxylase 677
 RIKM, RICM 857
 Ribonukleinsäure RNS 98
 röhrenförmige Mizellen 299
 Röhrenmodell der Polymernetzwerke 629
 Rotationsmotor 555, 694
 Ruhepotenzial der Nerven 421
- s**
- Salmonellen (Salmonella) 553f
 saltatorischer Transport 477
 Sarkomere 15, 543
 sarkoplasmatisches Retikulum 269, 543
 Säure/Base-Gleichgewicht 77
 Scala Media 755
 Scala Tympani 755
 Scala Vestibuli 755
 Schalldruckpegel 760
 Schallwellenwiderstand 751
 scheinbare Gleichgewichtskonstante 147
 Scherdeformation 336
 Schermodul der Erythrozyten 661
 Schloss-Schlüssel-Kräfte 392
 Schloss-Schlüssel-Prinzip 15, 223
 Schneckengehäuse (der Cochlea) 751, 755
 Schrödinger-Gleichung des Rotators 709
 Schwannsche Zelle 417
 schwarze Membranen 300, 455
 Schwingungsbanden 705
 Sedimentationsmethode der Zentrifugation
 862

- Sekretion 277
 SEK-Rezeptor 273
 Sekundärstruktur 109
 Sekundärstruktur-Elemente 176
 selbsterregender Oszillator 478
 Selbstkorrelationsfunktion 325
 selbstlaufende (prozessive) Motoren 533
 Selbstorganisation von Membranen 297
 Selektine 410
 Semi-Desmosomen 587
 semikonservative Replikation, Experiment 864
 sensorische Nervenleiter 416
 Shaker Mutanten (Haarzellen) 785
 Sialinsäure 801
 Signal-Erkennungskomplex (SEK) 273
 Signalmoleküle 283, 419
 Simulation von Proteinstrukturen 196
 Sinus-Knoten des Herzens 490
 Skalengesetze 41, 594
 smektische Phasen 298
 Smoluchowski-Gleichung 164
 SNAPS 382
 Solfraktion 639, 640
 Sol-Phase 637
 Solvathülle 450
 Solvatisierung 84
 somatisches Nervensystem 416
 Speichermodul 624
 Spektrin 517
 Spermien Flagellen 574
 Spermin 779, 829
 spezielles Paar 682
 spezifische Bindung 219
 Spezifität 220
 Sphingolipide 261
 Sphingomyeline 263, 360
 Spin-Bahn-Kopplung 726
 Spindel 35
 Spinodale 387
 spontane Emission 715
 spontane Krümmung 338
 spontane und induzierte Übergänge 714
 Spreitdruck (Adhäsionsenergie) 398, 651
 src-Kinasen 656
 Stäbchen-Zellen 284
 stäbchenförmige Polyelektrolyte 826
 Stammzelle 32
 Stärke 103
 stationärer Zustand 48
 stationäres Potenzial 421, 427
 statistische Thermodynamik 50
 Stellglieder (Aktuatoren) 523, 524, 655
 Stereovili 757, 783
 Sterische Abstoßung 114
 Stern-Schicht 126
 Stomatozyt 342
 Stopped flow-Technik 535
 Stroma und Grana 679, 682
 Strukturformel 105
 Strukturgen 833
 Stützzellen 757
 subdiffusiv 613
 Superverdrillung 822, 823
 Svedberg-Konstante 865
 symplectisch 575
 Synapse 416, 419, 758
 synaptischer Spalt 419
 Synchronisation des van der Pol Generators 498
- t**
- T4-Virus 804
 Talin oder Bande IV 656, 785
 Tartini Effekt 755
 TATA-Box 843
 Tau-Protein 506
 Taxol 507
 Technik der schwarzen Membranen 455
 Tektorialmembran 756, 781
 Teleophase 35
 Temperatur 39
 Terminator 833
 Tertiärstruktur 109
 Tetanus 547
 Tetraethylammonium (TEA) 441
 Tetrodotoxin (TTX) 441
 thermische de Broglie-Wellenlänge 53
 thermodynamische Gleichgewichts-konstante 147
 thermodynamische Potenziale 44
 Thermodynamisches Gleichgewicht 46
 Thermomechanik der Membranen 359
 Thermotrope Phasenumwandlung 302
 Thrombin 651
 Thrombozyt (s. Blutplättchen) 34
 Thylakoiden 679
 Thymin 96
 Titin 236, 410
 Titrationskurve 83
 Topoisomere 824
 Torsionen 823
 Trajektorien im 2D-Phasenraum 483
 Transducin 286
 Transfektion 784

Transferrin 281
 Transkription 819
 Transkriptionsfaktoren 820, 843
 Translokasen für Proteine 275
 Transmittermoleküle 419
 Transportgeschwindigkeit 475
 Tretmühlenprozess (treadmilling) 784
 Triangulationszahl 808
 Triggerfedermodell der Haarzellen
 787, 790
 Triggerkanäle 443, 450, 787
 Triplett- und Singulett-Zustände 712f, 721
 Triplett-Charakter von O_2 728
 Tropomyosin-Troponin 551
 t-SNARES 382
 Tubulin 504
 Tyrosin-Kinase-Rezeptoren 282, 293
 Tyrosin-Kinasen 370, 648
 T-Zell-Rezeptoren 410

u

Übergangsmoment 708, 715
 Ultrazentrifuge 861f
 ummantelte Grübchen (engl. coated pits)
 377
 Umwandlungstemperatur 307–308
 ungeordnete Proteine (IUP) 174
 ungesättigte Kohlenwasserstoffe 704
 Uracil 96

v

van der Pol-Generator 478, 482
 van der Pol-Oszillator 482
 van der Waals-Gleichung 55–56
 van der Waals-Radius 115
 van der Waals-Wechselwirkungen 126
 van Hove-Streutheorie 327
 van't Hoff'sches Gesetz 66
 VE-Cadherine 649
 vegetative Phase 511
 vegetatives Nervensystem 416
 Verarmungskräfte 370, 829
 Verbund-Membran 258
 Verhedderungslänge 636
 Verlustmodul 624
 Verlustwinkel 624
 Verschiebungsstrom 443, 776, 778
 Verstärkerfunktion der IHZ 786
 Verteilungskoeffizient 67
 Viren 799f, 838
 Viren-Präköpfe 811
 Virialkoeffizienten der Polymerlösung
 600, 608

viskoelastische Eigenschaften 598
 viskoelastische Impedanz 624
 viskoelastische Module 659
 Viskoelastizität makromolekularer
 Netzwerke 617
 Viskoelastizität 786
 Voigt-Element 623
 Volumenbrüche 599
 v-SNARES 382

w

Wachstumsfaktoren 32, 293
 Wanderwellenhypothese 765
 Wasserspaltung 673
 Wasserstoffbrücken-Bindungen 14, 131
 Wasserstoffbrücken-Netzwerk 136
 Weber-Fechnersches Gesetz 759
 weiche Materie 3
 weißes Rauschen 245
 Wenckebach-Phänomen 492, 493, 495, 496
 Windungszahl 498
 Wirkung von Pharmaka 273
 wurmartige Ketten (worm like chain) 595

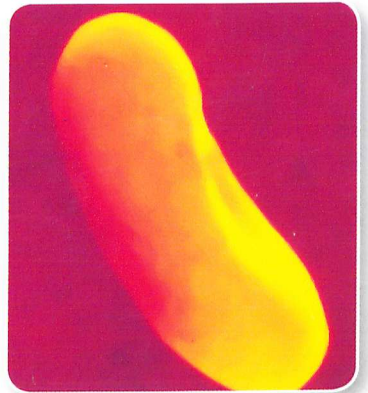
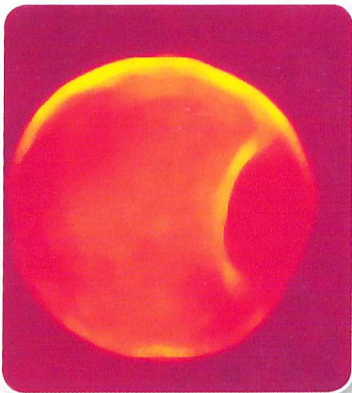
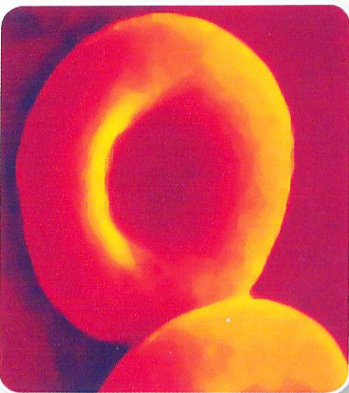
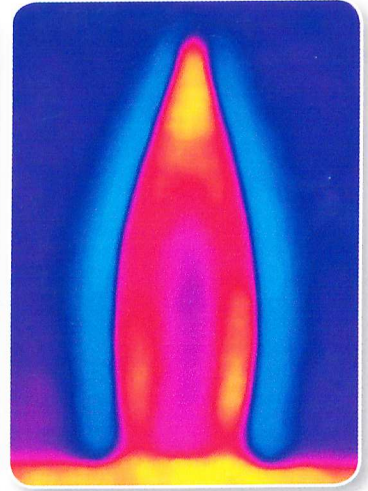
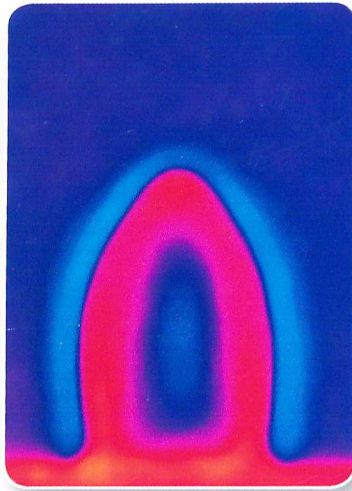
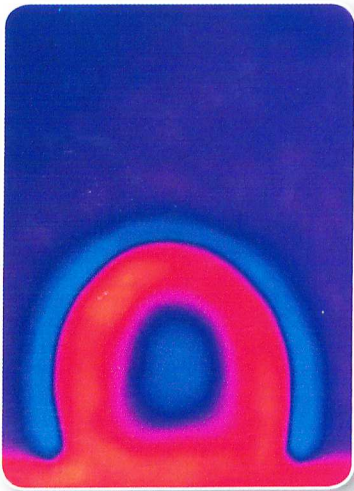
z

Zäpfchen-Zellen 284
 zeitabhängige Reibungskoeffizienten 627
 Zellbewegung (Locomotion) 510
 Zellzyklus 35
 Zelladhäsion 391
 Zelladhäsionsmoleküle (ZAM) 392, 409f,
 649
 Zellen als Mechanosensoren 647
 Zellflackern 349
 Zellhülle 32
 Zellkern 28, 660
 Zellorganellen 27, 278
 Zellteilung 14
 Zell-Zell-Adhäsion 292
 Zellzytoskelett 502
 Zentralnervensystem (ZNS) 287, 416
 Zentrifuge 863
 Zentrifuge analytische 861
 Zentrosomen 643
 Zitterbewegungen 316
 Z-Scheiben 543
 Zustandsgleichungen 38
 Zustandsintegral 53
 Zustandssumme 51
 Zustandsvariablen 38
 zweite Filterung 763
 Zweiter Hauptsatz der Thermodynamik 41
 Zweizustandsmodelle 464

- Zweizustandssysteme 562
- Zytokine 32, 650
- Zytoplasma 25
- Zytosol 29

Erich Sackmann
Rudolf Merkel

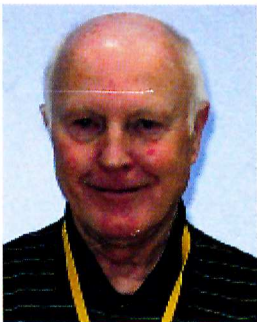
Lehrbuch der Biophysik



Biophysik ist eine junge und sich stürmisch entwickelnde Disziplin, die Physik, Chemie und Lebenswissenschaften verknüpft. Zum Verständnis der lebenden Systeme bedient man sich auch der Konzepte der Ingenieurwissenschaften. Die biologische Physik bringt etwas vom Geiste des achtzehnten und neunzehnten Jahrhunderts zurück, als Naturforscher wie Thomas Young oder Hermann von Helmholtz die Physiologie begründeten und der Naturwissenschaft völlig neue Gebiete eröffneten.

Im vorliegenden Lehrbuch behandeln die renommierten Wissenschaftler Erich Sackmann und Rudolf Merkel ausführlich wichtige Themen wie Zellstruktur, neuronale Signalübertragung, biologische Membranen, Evolution, Photosynthese und Immunologie. Zur Vertiefung der Kapitelinhalte werden zahlreiche Übungsaufgaben zur Verfügung gestellt. Das Buch wendet sich an Studenten der Naturwissenschaften im Haupt- und Masterstudium wie auch an Diplomanden und Doktoranden.

- Die Zelle
- Membranen
- Nervenleitung
- Zellbiophysik
- Photophysik
- Hören
- Viren und Methodik



Erich Sackmann studierte Physik an der Technischen Universität Stuttgart. Nach Tätigkeiten als Wissenschaftler an den Bell Telephone Laboratories in USA und am MPI für Biophysikalische Chemie in Göttingen arbeitete er als Ordinarius für Experimentalphysik an der Universität Ulm und der Technischen Universität München. Er war Vorsitzender der Deutschen Gesellschaft für Biophysik und des Arbeitskreises für Biologische Physik der DPB. Seine Arbeitsgebiete umfassen die Physik der Flüssigkristalle und biomimetischer Systeme sowie die Mikromechanik der Zelle. Für seine bahnbrechenden Arbeiten zum Verständnis der Physik biologischer Materialien erhielt Professor Sackmann 2006 den Stern-Gerlach-Preis der Deutschen Physikalischen Gesellschaft.



Rudolf Merkel studierte Physik an der Technischen Universität München. Nach wissenschaftlicher Tätigkeit in München und Vancouver, Kanada, habilitierte er sich 2000 an der Technischen Universität in München und ist seit 2001 Institutsleiter am Institut für Bio- und Nanosysteme des Forschungszentrums Jülich. Seine Forschung befasst sich mit mechanischen Eigenschaften und Prozessen lebender Zellen sowie mit biomimetischen Modellsystemen dafür.

