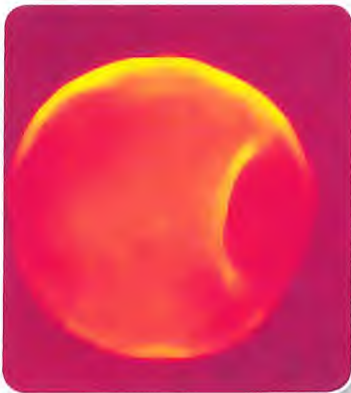
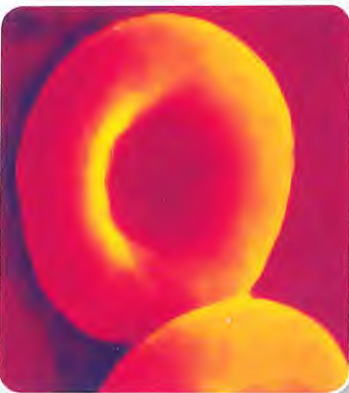
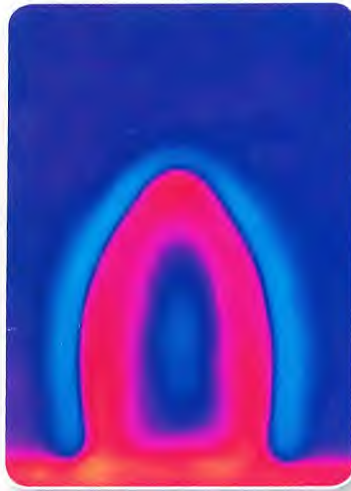
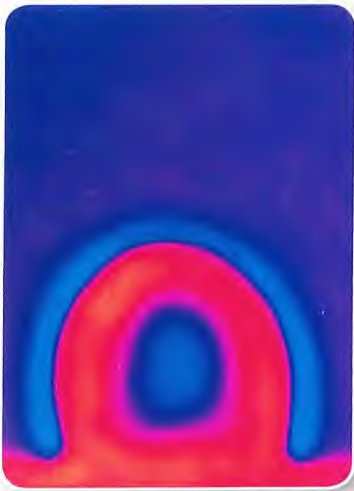


Erich Sackmann
Rudolf Merkel

Lehrbuch der Biophysik





Erich Sackmann und Rudolf Merkel
Lehrbuch der Biophysik

*Beachten Sie bitte auch
weitere interessante Titel
zu diesem Thema*

D. Sheehan

Physical Biochemistry

Principles and Applications

ISBN: 978-0-470-85603-1

R. Cotterill

Biophysik

Eine Einführung

2008

ISBN: 978-3-527-40686-9

M. Helm, S. Wöfl

Lehrbuch der Biophysik

Einführung für Biologen, Biochemiker,
Biotechnologen und Pharmazeuten

2007

ISBN: 978-3-527-31413-3

Jeromin, G. E., Bertau, M.

Bioorganikum

Praktikum der Biokatalyse

2005

ISBN: 978-3-527-31245-0

LN-T1-15694



Erich Sackmann und Rudolf Merkel

Lehrbuch der Biophysik



WILEY-
VCH

WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

Autoren

Prof. Dr. Erich Sackmann

TU München
Physik-Department, E22
Institut für Biophysik
Garching, Deutschland
sackmann@ph.tum.de

Prof. Dr. Rudolf Merkel

Forschungszentrum Jülich
Institut für Schichten und Grenzflächen
Jülich, Deutschland
r.merkel@fz-juelich.de

Umschlagbild

Spieszdesign, Neu-Ulm, Deutschland

I. Nachdruck 2010

Alle Bücher von Wiley-VCH werden sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren, Herausgeber und Verlag in keinem Fall, einschließlich des vorliegenden Werkes, für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler irgendeine Haftung.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

© 2010 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Photokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

Printed in the United Kingdom
Gedruckt auf säurefreiem Papier

Satz Hagedorn Kommunikation GmbH,
Viernheim

Druck und Bindung Strauss GmbH, Mörlenbach
ISBN: 978-3-527-40535-0

Inhaltsverzeichnis

Vorwort *XXIII*

Einleitung

- 1 Eine Einführung in das Studium der Biophysik 3**
- 1.1 Woher kommt und wozu treiben wir Biophysik 3
- 1.2 Eine kurze Geschichte der Biologischen Physik 6
- 1.3 Leben als Zusammenspiel von Genetik und Physik 11
- 1.3.1 Die Erfindung der molekularen Elektronenspeicher 12
- 1.3.2 Selbstorganisation smarterer Moleküle durch formabhängige zwischenmolekulare Kräfte 13
- 1.3.3 Der Muskel als Musterbeispiel der hierarchischen Struktur biologischer Materie 14
- 1.3.4 Biomineralisierung als Prototyp der Selbstorganisation biologischer Materie 15
- 1.3.5 Skalengesetze der Physik als Konstruktionsprinzip 16
- 1.3.6 Die Natur als Konstrukteur 17
- 1.4 Literatur 20

Einführung in die Zellbiophysik 21

- 2 Die Zelle 23**
- 2.1 Die Zelle als dicht gepacktes, kolloidales System aus funktionellen Untereinheiten 23
- 2.2 Die funktionellen Kompartimente (Organellen) der Zelle 27
- 2.3 Wie neue Zellen entstehen 32
- 2.4 Die Zellteilung 34
- 2.5 Literatur 36
- 2.6 Weiterführende Literatur 36

- 3 Einführung in die Thermodynamik 37**
- 3.1 Phänomenologische Thermodynamik 38

3.1.1	Thermodynamische Potenziale	42
3.1.2	Thermodynamische Gleichgewichte	46
3.2	Statistischer Zugang zur Wärmelehre	50
3.2.1	Unterscheidung zwischen Mikro- und Makrozuständen	50
3.2.2	Abgeschlossene Systeme ohne Materialaustausch: die kanonische Gesamtheit	51
3.2.3	Reale Gase: die van der Waals-Gleichung	55
3.2.4	Der Entropiebegriff für Mikrozustände	57
3.2.5	Systeme mit Teilchenaustausch: die großkanonische Gesamtheit	58
3.2.6	Chemische Potenziale in verdünnten Lösungen	60
3.2.7	Der osmotische Druck	64
3.2.8	Verteilung einer Substanz zwischen zwei Phasen	66
3.2.9	Chemische Reaktionen	68
3.2.10	Diffusion	70
3.3	Methode der Kreisprozesse zur Herleitung der Entropie	71
3.4	Herleitung der Zustandsgleichung eines idealen Gases im Rahmen der statistischen Mechanik	72
3.5	Herleitung der Gibbs-Duhem-Beziehung	74
3.6	Weiterführende Literatur	75
4	Biologisch essenzielle physikochemische Reaktionen	77
4.1	Das Säure/Base-Gleichgewicht	77
4.1.1	Die Stärke von Säuren und Basen: der pH-Wert wässriger Lösungen	79
4.1.2	Das Säure/Base-Gleichgewicht in Gegenwart von Salzen (Pufferwirkung)	81
4.2	Reaktionen mit Elektronentransfer (Redoxreaktionen)	84
4.2.1	Zwischenspeicherung freier Elektronen	84
4.2.2	Redoxreaktionen	85
4.2.3	Das Redoxpotenzial	85
4.2.4	Literatur	89
4.2.5	Weiterführende Literatur	89
5	Wichtige Bausteine lebender Systeme und deren Polymerisation	91
5.1	Die Aminosäuren und ihre Polymere	92
5.1.1	Die Polyaminosäuren (Proteine)	95
5.2	Die Purin- und Pyrimidinbasen	96
5.2.1	Nukleoside und Nukleotide	97
5.2.2	Polynukleotide	98
5.3	Zucker spielen eine vielfältige Rolle als Energiespeicher, Strukturelement und molekulare Erkennungsgruppe	99
5.4	Der Träger der biologischen Energie (biologisches Energiequant): ATP (Adenosin-triphosphat)	104
5.5	Die Topologie der Moleküle bestimmt die Funktion	105
5.6	Chemische Strukturformeln	105

- 5.7 Literatur 106
- 5.8 Weiterführende Literatur 106

- 6 Physikalische Eigenschaften von Proteinen 107**
 - 6.1 Grundlegendes zur Struktur der Proteine 107
 - 6.2 Physikalische Wechselwirkungen in und zwischen Proteinen 112
 - 6.2.1 Kovalente Bindungen 112
 - 6.2.2 Veränderung der Bindungswinkel 113
 - 6.2.3 Drehungen von kovalenten Bindungen 113
 - 6.2.4 Sterische Abstoßung 114
 - 6.2.5 Ramachandran-Diagramm und Geometrie der Peptid-Bindung 115
 - 6.3 Elektrostatische Wechselwirkungen 118
 - 6.3.1 Punktladungen in Dielektrika 118
 - 6.3.2 Bornsche Selbstenergie 119
 - 6.3.3 Punktladungen in Elektrolyt-Lösungen 120
 - 6.3.4 Dipolare oder van der Waals-Wechselwirkungen 126
 - 6.4 Wasserstoffbrücken-Bindungen 131
 - 6.5 Hydrophobe Wechselwirkung 133
 - 6.6 Dehydratisierungskräfte 138
 - 6.7 Depletion forces, eine durch Makromoleküle vermittelte Wechselwirkung 139
 - 6.8 Freie Volumen-Effekte in Lösungen vieler Komponenten (molecular crowding) 141
 - 6.8.1 Gelpermeationschromatografie als Bewegung in einem „gefüllten“ Volumen 143
 - 6.8.2 Chemische Reaktionen und Aktivitätskoeffizienten in Lösungen mit geringem freiem Volumen 145
 - 6.9 Visualisieren von Molekülstrukturen 148
 - 6.10 Die Theorie der skalierten Partikel – ein analytisches Modell zur Berechnung des zugänglichen Volumens in gefüllten Lösungen 149
 - 6.11 Literatur 151
 - 6.12 Weiterführende Literatur 152

- 7 Proteinfaltung, Konformations-Umwandlungen und -Fluktuationen 155**
 - 7.1 Proteinfaltung 155
 - 7.1.1 Der Phasenraum der Proteinfaltung 158
 - 7.1.2 Thermisch getriebene Passage über energetische Barrieren 159
 - 7.1.3 Theorie des Übergangszustands 160
 - 7.1.4 Theorie von Kramers 162
 - 7.1.5 Die Proteinfaltung wird durch lokale und nichtlokale Wechselwirkungen bestimmt 167
 - 7.1.6 Mehrere kinetisch verknüpfte Minima im Trichter 173
 - 7.1.7 Tiefe kinetische Fallen 174
 - 7.2 Sekundärstruktur-Elemente, Faltung aufgrund lokaler Wechselwirkungen und Konformationsumwandlungen 176

7.2.1	Kooperative Konformationsumwandlungen: das Reißverschlussmodell	178
7.2.2	Schmelzen von DNA	183
7.2.3	Kooperativität von Umwandlungen im Bild eines chemischen Gleichgewichts	187
7.2.4	Kooperativität bei der Ligandenbindung: der Hill-Koeffizient	189
7.2.4.1	Kooperativität bei Ligandenbindung: das Modell von Monod, Wyman und Changeux am Beispiel des Hämoglobins	191
7.2.5	Vorhersage von Protein-Sekundärstrukturen	195
7.3	Dynamik von Biomakromolekülen	196
7.3.1	Simulation von Proteinstrukturen	196
7.3.2	Dynamik von Proteinen bei tiefen Temperaturen	203
7.4	Genauere Betrachtung der Theorie des Übergangszustands	208
7.5	Ergänzung zur Kramersschen Theorie der Reaktionsrate	212
7.6	Der Verlet-Algorithmus zur Integration der Zeitschritte in klassischen Molekulardynamik-Simulationen	213
7.7	Literatur	214
7.8	Weiterführende Literatur	215
8	Molekulare Erkennung	219
8.1	Das Konzept der spezifischen Bindung	219
8.1.1	Strategien zur Erzielung hoher Spezifität	221
8.1.2	Beispiele für spezifische Bindungen	223
8.2	Mechanisches Brechen spezifischer Bindungen	227
8.2.1	Exkurs über die mechanische Stabilität der Proteinfaltung	236
8.2.2	Mechanisches Brechen der Basenpaarung in DNA	240
8.3	Thermisch fluktuierende Federn: der Brownsche Oszillator	242
8.4	Literatur	250
8.5	Weiterführende Literatur	250
	Biologische Membranen	253
9	Molekulare Architektur und Funktionen biologischer Membranen	255
9.1	Weshalb sollen sich Physiker für biologische Membranen interessieren?	255
9.2	Mikroanatomie biologischer Verbundmembranen: Erythrozyten als Paradigma	257
9.3	Molekulare Architektur biologischer Membranen	261
9.3.1	Membranen als Multikomponenten-Lipidlegierungen: das Lipidom	261
9.3.1.1	Über die Verteilung der Lipide zwischen den Kompartimenten: ein erster Weg zur Spezialisierung der Membranen	263
9.3.1.2	Die vier Hauptklassen der Membranproteine: ein Überblick	266
9.4	Aufbau elektrischer Potenziale durch molekulare Pumpen und Ionen-Transporter	269

- 9.4.1 Mechanismus des Ionen-Transports durch P-Typ-ATPasen 271
- 9.4.2 Zur Energetik der Pumpen 272
- 9.5 Ein kurzes Intermezzo über die Biosynthese der Membranen 273
- 9.5.1 Proteintransfer in Mitochondrien 276
- 9.6 Intrazellulärer Transport durch Vesikel schafft Ordnung in den Zellen 277
- 9.6.1 Konditionierung der Proteine: eine Aufgabe des Golgi-Apparats 279
- 9.7 Eisen-Import durch Clathrin-ummantelte Vesikel 280
- 9.8 Signalübertragung und Signalverstärkung an Membranen 282
- 9.9 Photonenempfänger der Augen funktionieren nach dem Prinzip der Hormonverstärker 284
- 9.10 Balance zwischen Universalität und Spezifität der Signal-Übertragung an Membranen 290
- 9.11 Enzymgekoppelte Hormonverstärker (Rezeptor-Tyrosinkinasen) 292
- 9.12 Literatur 294
- 9.13 Weiterführende Literatur 295

- 10 Selbstorganisation, Phasenumwandlungen und Dynamik biologischer Membranen 297**
- 10.1 Selbstorganisation und lyotroper Polymorphismus der Lipide in Wasser: einschalige Vesikel als Null-Modell biologischer Membranen 298
- 10.1.1 Der hydrophobe Effekt bestimmt die Selbstorganisation und Stabilität der Zellmembranen 301
- 10.2 Thermisch und elektrisch induzierte strukturelle Phasenumwandlungen der Membranen 302
- 10.2.1 Thermotrope Phasenumwandlung 302
- 10.2.2 Zur Kontrolle der Phasenumwandlung und deren Bedeutung für das Überleben der Zellen 306
- 10.2.3 Membranen als geladene Grenzflächen: ladungsinduzierte Phasenumwandlungen und Modifikation lokaler pH-Werte an Oberflächen 307
- 10.3 Molekular-statistisches Modell der Phasenumwandlung 310
- 10.3.1 Charakterisierung der flüssigkristallinen Ordnung 310
- 10.3.2 Theoretische Modelle der Phasenumwandlung 312
- 10.4 Hierarchie dynamische Membranprozesse 314
- 10.5 Membranen als Flüssigkeiten zwischen zwei und drei Dimensionen 316
- 10.6 Messung hydrodynamischer Radien und Reibungskoeffizienten von Membranproteinen 319
- 10.7 Die effektive Reibung durch molekulare Entbindungsprozesse 321
- 10.8 Das Freie-Volumen-Modell: die Beweglichkeit hängt von der Packungsdichte der Lipide ab 322
- 10.9 Beobachtung der molekularen Dynamik durch quasielastische Neutronenstreuung (QENS) und Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS) 323

10.9.1	Die Verteilungsfunktionen molekularer Sonden bilden die gemeinsames Basis der Methoden	323
10.9.2	Quasielastische Neutronenbeugung	324
10.9.3	Fluoreszenzkorrelations-Spektroskopie FCS	328
10.9.4	Literatur	332
11	Membranen als semiflexible elastische Schalen	335
11.1	Einführung in die Grundlagen der Elastizität weicher Schalen	335
11.1.1	Methoden der Messung elastischer Konstanten	340
11.2	Formenvielfalt biologischer Schalen als Minimalflächen der elastischen Energie	342
11.3	Lokale Modulation und Stabilisierung der Formen durch Zytoskelett-Membran-Kopplung	345
11.4	Erythrozyten sind Wunderwerke der mechanischen Konstruktion	347
11.5	Membranen als statistische Flächen, Membranflackern und Ondulationskräfte	349
11.5.1	Fourier-Spektroskopie der dynamischen Rauigkeit von Vesikeln und Zellen	349
11.5.2	Konsequenzen und hilfreiche Anwendungen: entropische Spannungen und Ondulationskräfte	351
11.5.3	Die Peristenzlänge semiflexibler Membranen	355
11.5.4	Die biologische Bedeutung der Ondulationen	356
11.5.5	Literatur	357
12	Thermomechanische Prinzipien der Feinstruktur und Funktion biologischer Membranen	359
12.1	Warum sollen wir uns mit Phasendiagrammen von Lipid-Legierungen befassen?	359
12.2	Thermodynamik der Lipidmischungen	360
12.3	Selektive Lipid-Protein-Wechselwirkung und Proteinsortierung	368
12.3.1	Sortierung von Lipiden und Proteinen durch das Prinzip der Längenadaptation	368
12.3.2	Durch Lipide vermittelte Protein-Protein Wechselwirkung	370
12.3.3	Entropiegetriebene Proteinaggregation	371
12.3.4	Optimierung von Membranprozessen durch das Prinzip der Längenadaptation	371
12.3.5	Membran-Defekte als Modulatoren der Enzymaktivität	373
12.4	Globale Formenvielfalt durch laterale Phasentrennung und metastabile Domänenbildung	374
12.4.1	Phasentrennung führt zur Bildung metastabiler Domänen	375
12.5	Krümmungselastische Prinzipien des intrazellulären Transports	377
12.5.1	Lokale Invaginationen als Speicher und Initiatoren des Vesikeltransports	377
12.5.2	Das Problem der Vesikelabspaltung	380

- 12.6 Membranfusion als Zusammenspiel zwischen spezifischen und generischen Prozessen 381
- 12.6.1 Energetik der Porenbildung 385
- 12.7 Geometrische Konstruktion der Phasendiagramme 385
- 12.8 Literatur 388
- 12.9 Weiterführende Literatur 390

- 13 Zelladhäsion als Wechselspiel spezifischer, universeller und elastischer Kräfte 391**
- 13.1 Einleitung 391
- 13.2 Modellsysteme liefern Einblick in die Physik der Adhäsion 395
- 13.3 Zelladhäsion als Streitprozess 398
- 13.4 Die Zelladhäsion als Benetzungsübergang 399
- 13.4.1 Hebekräfte stabilisieren die Adhäsion durch Domänenwachstum 403
- 13.5 Eine Zwischenbilanz 403
- 13.5.1 Bioadhäsion und Gewebebildung 404
- 13.5.2 Adaption der Zelladhäsion 406
- 13.6 Adhäsionsdomänen sind Aktivatoren der Immunantwort 407
- 13.7 Zusammenfassung 408
- 13.8 Klassifizierung der Zellrezeptoren 409
- 13.9 Zur Stimulation der T-Lymphozyten durch Antigen präsentierende Zellen (APZ) 410
- 13.10 Literatur 411

- Biophysik der Nervenleitung 413**

- 14 Physiologie und Elektrostatik der Nervenleitung 415**
- 14.1 Das Nervensystem und Phänomenologie der Nervenleitung 416
- 14.1.1 Signalübertragung an den Synapsen durch Signalsubstanzen 419
- 14.2 Elektrostatik der Nervenleitung 421
- 14.2.1 Das elektrische Membranpotenzial: Ein Überblick 421
- 14.2.2 Wie elektrochemische Potenziale Ionenströme durch passive Membranen treiben 423
- 14.2.3 Das Plancksche Diffusionspotenzial 425
- 14.2.4 Das Donnan-Potenzial 426
- 14.2.5 Die Goldman-Gleichung des stationären Membranpotenzials (Ruhepotenzials) 427
- 14.2.6 Das stationäre Potenzial V_{SS} 429
- 14.2.7 Das Ruhepotenzial und die Strombilanz des Tintenfisch-Axons bestätigt die Goldman-Gleichung 430
- 14.2.8 Zur Strombilanz: Balance zwischen aktiven und passiven Strömen 432
- 14.2.9 Literatur 433
- 14.2.10 Weiterführende Literatur 433

15	Elektrodynamik der Nervenerregung	435
15.1	Erregung der Nervenmembran: das Aktionspotenzial	435
15.1.1	Beobachtung der Aktionspotenziale mit Fluoreszenzsonden und Transistoren	437
15.2	Der elektrische Äquivalenzkreis erregbarer Membranen	438
15.3	Fundamentale Experimente der Neurophysik	439
15.3.1	Analyse der Ionenströme durch Variation der Elektrolyt-Konzentration	439
15.3.2	Trennung der Ströme durch Anwendung von Kanal-Blockern	441
15.3.3	Wie viele Ionen fließen beim Aktionspotenzial?	441
15.3.4	Einzelkanalmessungen mit Flecken-Klemm-Technik (patch-clamp technique)	441
15.3.5	Zellen benötigen eine Erholungsphase (Refraktärphase)	443
15.3.6	Das Aktionspotenzial muss durch einen Verschiebungsstrom eingeschaltet werden	443
15.4	Die Huxley-Hodgkin-Gleichungen	444
15.5	Molekulare Mechanismen des Ionentransports durch Kationen-Kanäle	448
15.6	Der molekulare Mechanismus der Signalübertragung an den Synapsen	451
15.7	Kinetik und Statistik des Ionentransports durch Membranen	455
15.7.1	Ionentransport durch Ionophore und Antibiotika	455
15.7.2	Analyse der Kinetik der Porenbildung durch Spannungssprung-Experimente	458
15.7.3	Fourier-Spektroskopie der Stromfluktuationen	460
15.8	Ein thermodynamisches Modell elektrisch und chemisch gesteuerter kooperativer Prozesse	463
15.9	Kooperative Modelle der Nervenerregung	466
15.10	Zusammenfassung	468
15.11	Literatur	469
16	Die Signalfortpflanzung in Axonen und Axon-Modelle	471
16.1	Nervenleiter als Koaxial-Kabel mit diffusivem Signaltransport	471
16.2	Die Huxley-Hodgkin-Gleichung und die Ausbreitung aktiver Aktionspotenziale	474
16.3	Zur Beschleunigung der Signalfortpflanzung erfand die Natur die Myelinhülle	475
16.4	Das Fitzhugh-Nagumo-Modell der Nervenerregung	478
16.5	Bezug der Nervenleitung zum van der Pol-Oszillator	482
16.6	Die Nervenfaser als aktives Impuls-Übertragungssystem: ein elektrisches Modell	484
16.6.1	Realisierung des Fitzhugh-Modells durch Tunnelioden	484
16.6.2	Literatur	488

- 17 Biorhythmik durch Synchronisation selbsterregender Oszillatoren 489**
- 17.1 Kontrolle der Herzkontraktion: ein lebenswichtiges Beispiel 490
- 17.2 Abnormale Rhythmen: der Herzblock 492
- 17.3 Zellkulturen als Herz-Modell 494
- 17.4 Zur Theorie der externen Stimulation selbsterregender Oszillatoren:
Herzflimmern als Problem der Phasenstabilisierung 496
- 17.5 Zusammenfassung: Deterministisches Chaos 497
- 17.6 Periodische Erregung und Synchronisation des van der
Pol Generators 498
- 17.7 Literatur 500

- 18 Mikroanatomie und Funktion des Zytoskeletts 501**
- 18.1 Zur Struktur und Biochemie der Bausteine 501
- 18.1.1 Aktin-Filamente sind reversibel polymerisierbare Polymere 502
- 18.1.2 Mikrotubuli als lebende Nano-Röhren 504
- 18.1.3 Die Intermediär-Filamente 507
- 18.2 Der Aktin-Kortex als Vielzweckmaschine: Manipulation der
Struktur der Aktin-Netzwerke in der Zelle 508
- 18.2.1 Pseudopodienbildung: Solitäre Aktin-Polymerisationswellen
treiben die Zellbewegung an 509
- 18.2.2 Filopodien als Fühler und Beutefänger der Zellen 513
- 18.3 Aktin-Bindungsproteine als Regulatoren des Aktin-basierten
Zytoskeletts 514
- 18.4 Molekulares Modell der Pseudopodienbildung durch
„Wanderdünen-Mechanismus“ 519
- 18.5 Molekulare Modelle der Pseudopodienbildung 521
- 18.6 Externe Signale kontrollieren die Aktivität der Aktin-
Bindeproteine über biochemische Schalter 523
- 18.7 Literatur 525
- 18.8 Weiterführende Literatur 526

- 19 Molekulare Linearmotoren der Zellen 527**
- 19.1 Aktin-Polymerisation als Antriebssystem 527
- 19.2 Die Motoren der Myosin-Familie 528
- 19.3 Der molekulare Mechanismus der Krafterzeugung 530
- 19.3.1 Prozessivität und Kinetik der Motoren 532
- 19.4 Mikrotubuli-assoziierte Motoren der Kinesin- und
Dynein-Familien 533
- 19.5 Kraftspektroskopie der Myosin-Motoren mit optischen Pinzetten 535
- 19.5.1 Der Dynein-Motor hat eine Gangschaltung 538
- 19.6 Theorien der Linearmotoren 539
- 19.7 Literatur 541

- 20 Der Muskel: Anatomie und Phänomenologie der Funktion 543**
- 20.1 Morphologie des Muskels: der Muskel als Anordnung parallel geschalteter Linearmotoren 543
 - 20.2 Das Querbrücken-Modell der Muskelkontraktion 545
 - 20.3 Thermomechanik der Muskelkontraktion: die Hill-Gleichung 546
 - 20.4 Zur Energieversorgung und Kontrolle der Stimulation der Muskeln 550
 - 20.4.1 Muskeln nutzen verschiedene Quellen von ATP 550
 - 20.4.2 Ca^{2+} -Impulse triggern die Muskelkontraktion 551
 - 20.4.3 Literatur 553
- 21 Protonen-getriebene Rotationsmotoren 555**
- 21.1 Mikroanatomie des Rotationsmotors 557
 - 21.2 Phänomenologie des Protonen-getriebenen Motors 558
 - 21.2.1 Experiment zur Aufklärung der Struktur des Motors 560
 - 21.2.2 Experiment zur Messung der Drehmomente 560
 - 21.2.3 Experiment zur Messung des Arbeitsverhältnisses 562
 - 21.3 Molekulare Modelle des bakteriellen Rotationsmotors 563
 - 21.4 Bakterien navigieren durch Analyse der Gradienten der Lockstoffe und besitzen die Fähigkeit zur Adaption (Chemotaxis) 564
 - 21.5 Umschlag der Drehrichtung als Festkörperumwandlung der Flagellenwand 569
 - 21.6 Literatur 572
- 22 Leben bei kleinen Reynoldszahlen: Krafterzeugung durch Flagellen und Cilien 573**
- 22.1 Die Flagellen und Cilien der Spermien und Einzeller: Analogien der Feinstruktur 573
 - 22.2 Das Gleitmodell der Cilien-Biegung 574
 - 22.3 Die Bewegungsmoden der Flagellen und Cilien bestimmen die Funktion der Antriebselemente 575
 - 22.4 Wie Bakterien und Spermien sich durchs Wasser schrauben und Cilien ihre Bewegung koordinieren 578
 - 22.4.1 Was synchronisierte Schlagbewegungen der Cilien bewegen können 580
 - 22.4.2 Literatur 582
- 23 Makromoleküle des extrazellulären Raums 583**
- 23.1 Gewebe als Verbundmaterial aus Zellen und Makromolekülen 583
 - 23.2 Zellulose als Schutzhülle der Pflanzenzellen 586
 - 23.3 Der Glaskörper des Auges als lebenswichtiges Beispiel einer Gel-Sol-Koexistenz 587
 - 23.4 Das Zytoskelet als Stabilisator lateraler Verbindungen zwischen Epithelzellen oder Endothelzellen 588
 - 23.5 Literatur 590

- 24 Physik flexibler Makromoleküle: vom Einzelmolekül zur Lösung 591**
- 24.1 Von Gaußschen Kette zu wurmartigen Polymeren oder von universellen zu spezifischen Eigenschaften 592
- 24.2 Das Flory-Modell des ausgeschlossenen Volumens (self-avoiding-walk-Modell) 595
- 24.3 Persistenzlänge als Maß der Kettensteifigkeit semiflexibler Polymere 597
- 24.4 Charakterisierung der Struktur makromolekularer Lösungen 598
- 24.5 Eine kurze Bemerkung zu nematisch flüssigkristallinen Zuständen steifer Stäbchen 600
- 24.6 Thermodynamik makromolekularer Lösungen und Polyelektrolyte 601
- 24.7 Phasentrennung in Polymerlösungen 604
- 24.8 Besonderheiten makromolekularer Lösungen und Anwendungen in Natur und Technik 606
- 24.8.1 Der osmotische Druck und der Dampfdruck 606
- 24.9 Modifikation der Skalengesetze und Eigenschaften durch Aufladung der Makromoleküle: die Ladungskondensation 608
- 24.10 Der elektro-osmotische Zusatzdruck von geladenen Polymeren 609
- 24.11 Der elektrostatische Beitrag zum Virialkoeffizienten geladener Makromoleküle 611
- 24.12 Häufig benutzte Bezeichnungen des Kapitels 24 611
- 24.13 Literatur 612
- 24.14 Weiterführende Literatur 612
- 25 Molekulare Dynamik und Elastizität semiflexibler Filamente 613**
- 25.1 Einzelfilamentdynamik und Elastizität semiflexibler Filamente 614
- 25.2 Messung der Biegesteifigkeit, der Rauigkeit und der Verhedderungslänge semiflexibler Filamente 615
- 25.3 Die anisotrope Federkonstante semiflexibler Filamente 617
- 25.4 Relaxationszeiten der thermischen Anregungen 618
- 25.5 Zusammenfassung 619
- 25.6 Literatur 620
- 26 Viskoelastizität homogener Netzwerke und Gele 621**
- 26.1 Das Prinzip der Viskoelastizität und was wir daraus lernen können 621
- 26.1.1 Kontinuumsmechanische Konzepte und Methoden der Rheometrie 623
- 26.1.2 Grundlagen der Relaxationsexperimente 624
- 26.1.3 Grundlagen der Impedanzspektroskopie 626
- 26.2 Konzepte und Methoden der Nanorheometrie 628
- 26.3 Viskoelastische Impedanz verschlauerter und schwach verknoteter Netzwerke des Aktins 630
- 26.4 Zusammenfassung 633

26.5	Literatur	634
26.6	Weiterführende Literatur	634
27	Physik und Funktion der Gele: Zustände zwischen Festkörper und Flüssigkeit	635
27.1	Die Elastizität homogener Gele gleicht der Gummi-Elastizität idealer Netzwerke	636
27.2	Die Gummi-Elastizität verknoteter semiflexibler Netzwerke	637
27.3	Kontrolle der Filamentsteifigkeit durch Bündelbildung	639
27.4	Gelbildung als Perkulationsprozess	640
27.5	Perkulationsübergänge des Aktin-Netzwerks	642
27.6	Nichtlineares mechanisches Verhalten und Grenzen der Stabilität der Aktin-Gele	644
27.7	Selbstorganisation des Zytoskeletts in Riesenvesikel – auf dem Weg zu mechanischen Zellmodellen	645
27.8	Stabilisierung der Pflanzen und Bäume durch Fasersysteme	646
27.9	Literatur	648
28	Zellen als Mechanosensoren	649
28.1	Das Endothelium als semipermeable Barriere und Mechanosensor	650
28.2	Hormon-induzierte Reorganisation des Aktin-Kortexes und Kontraktion der Zellen	653
28.3	Generische Mechanismen der Zytoskelett-Reorganisation durch intrazelluläre Signale	654
28.3.1	Die Aktivierung der glatten Muskulatur folgt demselben Schema	657
28.4	Spannungssensoren kontrollieren die Adhäsionsstärke der Endothelzellen	657
28.4.1	Warum benutzen Zellen verschieden schnelle Signalwege?	660
28.5	Zusammenfassung	660
28.6	Literatur	661
29	Mikromechanik der Zelle	663
29.1	Mikromechanische Methoden zur Kartierung von Deformations- oder Kraftfeldern	663
29.1.1	Methode der Kraftfeld-Kartierung	664
29.2	Messung der Zell-Substrat-Wechselwirkung durch Kraftfeld-Mikroskopie	667
29.3	Globale mechanische Stabilisierung der Zellen: ein Epilog	671
29.4	Literatur	674
	Photosynthese	677
30	Primärprozesse der Photosynthese	679
30.1	Bemerkungen zur Evolution der Photosynthese und Bioenergetik	680

- 30.2 Die zwei Prozesse der Photosynthese der Pflanzen und die Rolle der Elektronen-Zwischenspeicher 681
- 30.2.1 Die Dunkelreaktionen 683
- 30.2.2 Elektronen-Zwischenspeicher sorgen für die Stöchiometrie der photochemischen Reaktionen 683
- 30.3 Die molekulare Architektur des Photosyntheseapparats der Pflanzen und Algen 685
- 30.4 Das bakterielle Reaktionszentrum: eine zyklisch arbeitende, ATP produzierende Maschine 687
- 30.4.1 Optimierung des Lichteinfangs durch Lichtsammler-Komplexe 688
- 30.4.2 Phänomenologie und Dynamik der Ladungstrennung in photosynthetischen Bakterien 689
- 30.4.3 Photobleich-Experimente als Werkzeuge zum Nachweis der Spezies und der Kinetik der Elementarschritte der Elektronentransfer-Kette 693
- 30.5 Aufklärung der Dynamik der Ladungsdelokalisierung mittels Femtosekunden-Spektroskopie 693
- 30.6 Simultane Bildung von Protonen-Gradienten und Wasserspaltung in Pflanzen und Algen: Ein Beweis der chemo-osmotischen-Hypothese 694
- 30.7 Experimentelle Beweise der Parallelschaltung der Photosysteme und des sukzessiven Elektronentransfers von Wasser auf P680 696
- 30.7.1 Messung der Fluoreszenz-Quantenausbeute des Protonen-Transfers 696
- 30.7.2 Nachweis der Serienschaltung der Reaktionszentren mit molekularen Voltmetern 696
- 30.7.3 Der sukzessive Elektronen-Transfer auf dem Weg zur Wasserspaltung 698
- 30.7.4 Ein einfacher Beweis des chemo-osmotischen Paradigmas 699
- 30.8 Die duale Rolle der F_1F_0 -ATPase als ATP- Synthesemaschine und Rotationsmotor 700
- 30.8.1 Ein Modell des Rotationsmotors 702
- 30.8.2 Zwei elegante Experimente 703
- 30.9 Die oxidative Phosphorylierung (Atmungskette) von der Nahrung zu NADH 704
- 30.10 Die oxidative Phosphorylierung (Atmungskette): Die Elektronentransfer-Kette der Mitochondrien 705
- 30.11 Literatur 707
- 31 Physikalische Grundlagen photobiologischer Prozesse 709**
- 31.1 Die elektronischen Zustände von π -Elektronensystemen 710
- 31.2 Quantenmechanische Grundlagen der Photophysik organischer π -Elektronensysteme 712
- 31.3 Das Molekülorbital- oder Freie-Elektronengas-Modell 714
- 31.3.1 Energiezustände linear und zyklisch konjugierter Moleküle 714

31.3.2	Singulett- und Triplettzustände	717
31.4	Photophysik angeregter Moleküle	720
31.4.1	Absorption und Emission des Lichts	720
31.4.2	Schwingungen bestimmen die Feinstruktur der Spektren: das Franck-Condon-Prinzip	723
31.4.3	Das Jablonski-Termschema der π -Elektronensysteme	727
31.4.4	Physikalische und chemische Reaktionen angeregter Moleküle	728
31.4.5	Konkurrenz zwischen radiativen und strahlungslosen Übergängen	730
31.4.6	Messung der lichtinduzierten Membranpotenziale mittels Stark-Effekt (molekulare Voltmeter)	733
31.4.7	Photophysik der Grün fluoreszierenden Proteine	734
31.5	Bandenverschiebung durch Komplex-Bildung: die Rotverschiebung des speziellen Paares	737
31.5.1	Bemerkung zur Rolle der Austausch-Wechselwirkung	739
31.6	Zur Energiewanderung im Photosyntheseapparat	739
31.6.1	Der Förster-Mechanismus im klassischen Bild	740
31.6.2	Messung des Energietransfers: ein klassisches Experiment	744
31.6.3	Der Austauschmechanismus	745
31.7	Wege und Kinetik des Elektronen-Transfers in bakteriellen Reaktionszentren	746
31.8	Zusammenfassung	751
31.9	Die Richtungscharakteristik der Atomorbitale durch Hybridisierung	753
31.10	Literatur	754
31.11	Allgemeine Literatur	755

Biologische Membranen 757

32	Anatomie und Physiologie des Hörsinns	759
32.1	Stationen der akustischen Informationsverarbeitung	759
32.1.1	Das Mittelohr als Impedanzwandler	759
32.1.2	Die Ohrmuschel als erstes Element der Informations- verarbeitung	761
32.1.3	Das Ohr ist ein aktiver Schallsender	762
32.2	Struktur und Funktion des Innenohres	763
32.3	Zur neuronalen Organisation und Verarbeitung des Hörens	765
32.4	Über den dynamischen Bereich und die Frequenzcharakteristik des Hörsinns	766
32.5	Optimierung des Hörsinns: Resonanzüberhöhung und zweite Filterung	768
32.6	Zusammenfassung	772
32.7	Literatur	772

- 33 Mechanik und Hydrodynamik der Cochlea-Erregung:
das Békésy-Wanderwellen-Modell 773**
- 33.1 Die Experimente von George von Békésy und der Weg zur
Wanderwellen-Hypothese 773
- 33.2 Zur Theorie der Wanderwellen-Ausbreitung in der Cochlea 775
- 33.3 Zusammenfassung: Fledermäuse können mit den Ohren sehen 779
- 33.4 Literatur 780
- 34 Haarzellen als akusto-elektrische Signaltransformatoren 781**
- 34.1 Haarzellen als nichtlineare Verstärker der mechanischen
Basilarmembran-Schwingungen 781
- 34.1.1 Modell des molekularen Motors der OHZ als piezoelektrischer
Aktuator 786
- 34.1.2 Die hebelartige Verstärkung der BM-Deformation durch die OHZ 788
- 34.2 Innere Haarzellen als passive und aktive mechano-elektrische
Transformatoren 790
- 34.2.1 Zur Mikroanatomie und Funktion der inneren Haarzellen 791
- 34.2.2 Stereocilien (Stereovili) sind dynamische Strukturen erstaunlicher
Komplexität 792
- 34.3 Mikroviskoelastische Experimente entlarven Stereovili als
frequenzselektive nichtlineare Verstärker und aktive mechanische
Oszillatoren 793
- 34.3.1 Modell der aktiven Bewegung der inneren Haarzellen 798
- 34.4 Innere Haarzellen besitzen die Fähigkeit zur biphasischen Adaption
der Empfindlichkeit 799
- 34.4.1 Zwei molekulare Modelle der Adaption 800
- 34.5 Wie die Natur den Hörsinn vor Rauschen durch den Blutstrom
schützt 802
- 34.6 Zusammenfassung 803
- 34.7 Literatur 804
- Viren und DNA 807**
- 35 Physik der Viren 809**
- 35.1 Über die Biologie von Viren 810
- 35.2 Bildung kristalliner Schalen aus asymmetrischen Bausteinen: das
Konzept der Quasiäquivalenz 814
- 35.3 Die Elastizität der 2D-Proteinkristalle bestimmt die Formenvielfalt
und Stabilität der Viren-Capside 818
- 35.3.1 Zur Energetik der Selbstorganisation der Capside 824
- 35.3.2 Zusammenfassung 825
- 35.3.3 Literatur 826

36	Die Physik der Selbstorganisation und Verarbeitung des Genoms	827
36.1	Die molekularen Organisationsformen des Genoms in Viren und Eukaryonten	829
36.1.1	Nukleosomen als Speicherform der genetischen Information	830
36.2	Mechanische und elektrostatische Basis der DNA-Verarbeitung	831
36.2.1	Die topologischen Verwicklungen und die Topoisomerie der DNA	832
36.2.2	Elektrostatik und Thermodynamik der DNA-Kondensation	836
36.2.3	Attraktion gleichnamig geladener Stäbchen (elektrisch induzierte DNA-Kondensation)	838
36.2.4	Attraktion geladener Makromoleküle durch Ladungsdelokalisation (Verarmungskräfte)	839
36.2.5	Die elektrische Umladung der Komplexe verhindert die Assoziation	840
36.2.6	Thermische Fluktuationen lockern die DNA-Histon-Bindung	841
36.3	Die Regulation der Genexpression in Prokaryonten	842
36.4	Die DNA-Kondensation in Bakteriophagen erfordert Megapascal-Drucke	847
36.5	Replikation und Translation: eine Zusammenfassung	850
36.6	Polymerasen als molekulare Motoren vermitteln die Transkription	852
36.7	Besonderheiten der Regulation der Genexpression in Eukaryonten	853
36.8	Literatur	856
37	Methoden der Biophysik	859
37.1	Wie beobachtet man die Feinstruktur von Zellen?	859
37.2	Die Abbesche Theorie der Mikroskopie	861
37.3	Methoden der optischen Mikroskopie	864
37.3.1	Phasenkontrastmikroskopie	865
37.3.2	Die Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskopie (DIK)	867
37.3.3	Die Reflektions-Interferenz-Kontrastmikroskopie (RIKM)	869
37.3.4	Das konfokale Raster-Mikroskop	870
37.3.5	Nano-Fluoreszenzmikroskopie	871
37.4	Untersuchung intrazellulärer biochemischer Prozesse durch die Auto-Radiografie	873
37.5	Die Ultrazentrifuge: eine hydrodynamische Methode zur Isolation und Charakterisierung biologischer Makromoleküle	874
37.5.1	Zwei Methoden der analytischen Ultrazentrifugation	874
37.5.2	Die Sedimentations- und Dichtegradientenmethode	876
37.5.3	Die dynamische Sedimentationsmethode	879
37.5.4	Zur Beobachtung der Konzentrationsverteilung	881
37.6	Grundbegriffe der Hydrodynamik	882
37.7	Die Fickschen Gesetze der Diffusion	884
37.8	Literatur	886

	Anhang	887
38	Übungsaufgaben	889
38.1	Literatur	923
	Glossar	925
	Stichwortverzeichnis	947



Vorwort

Für unsere Familien und Studenten

Das Lehrbuch basiert auf einer zweisemestrigen Vorlesung über Biologische Physik, die als Wahlpflichtfach für Physiker an der Universität Ulm und der Technischen Universität München angeboten wurde. Die Vorlesung begann vor fast 35 Jahren, als es an Physikfakultäten noch keine Vorlesung über Biophysik gab und Physikstudenten die Biologie eher skeptisch. Dadurch entstand ein heilsamer Zwang, nach biologischen Prozessen zu suchen, die durch universelle Prinzipien der Physik bestimmt sind. Erst als die Studenten davon überzeugt werden konnten, dass es wenige Prinzipien der Physik gibt, welche die Natur nicht auf dem Weg zur Evolution des Lebens in seiner heutigen Form ausnutzte, wurde die Biophysik zu einem Erfolg an den physikalischen Fakultäten. Daher haben wir an erster Stelle den Studenten zu danken, die durch ihre kritische Einstellung den Weg wiesen, wie man Biophysik lehren sollte, um Physiker für das Gebiet zu gewinnen.

Zu danken haben wir aber vor allem auch den Studenten und Nachwuchswissenschaftlern des Lehrstuhls, die viel Zeit für die Ausarbeitung und Verbesserung des handgeschriebenen Vorlesungsmanuskripts geopfert haben, das die Basis für dieses Buch bildet. Viele der Helfer haben heute wichtige Lehrstühle inne oder sind Direktoren an Forschungsinstituten (wie R.M.).

Einer der Autoren (E.S.) möchte insbesondere seinen Kollegen am Physik-Department für ihre zunächst wohlwollende Unterstützung der Biophysik und ihre später mit Enthusiasmus betriebene Aufnahme als Spezialfach in das Curriculum für Physiker danken. Da man Physik biologischer Materie in Forschung und Lehre nicht ohne enge Zusammenarbeit mit den Chemikern und Biologen betreiben kann, sind wir den Kollegen der Fakultäten für Chemie und des Max-Planck-Instituts für Biochemie für ihre großzügige Unterstützung der Biophysik zu Dank verpflichtet. Dadurch konnten Physiker, Biologen und Chemiker an der Vorlesung teilnehmen. Auch die über 12 Jahre laufende erfreuliche Zusammenarbeit im Sonderforschungsbereich 266 hat der Lehre stark geholfen.

Die konkrete Abfassung eines Lehrbuchs ist natürlich stets mit technischen Problemen behaftet, wie die Formatierung, die Organisation der Literaturlisten usw. Bei der konkreten Abfassung des Manuskripts während der letzten drei Jahre hat einer der Autoren (E.S.) viel technische Hilfe und moralische Unterstützung bei seinen Münchner Kollegen erhalten. Ein besonderer Dank gilt schließ-

lich Herrn Dipl. Phys. Shoh Asano, der die Literaturliste koordinierte, das Manuskript verbesserte und die Grundlagen dafür schuf, dass die farbigen Bilder, Ergänzungen über Methoden und die Hilfe für die Übungsaufgaben aus dem Netz heruntergeladen werden können. Frau Anke Schmolle danken wir für die Erstellung einiger der komplizierten anatomischen Zeichnungen.

Einer der Autoren (E.S.) hat einen Teil des Buches während seines Aufenthalts an der ETH Lausanne geschrieben, und möchte seinen Kollegen für die Gastfreundschaft und Hilfe danken. R.M. möchte seinen Mitarbeitern für ihre Geduld danken, die sie ihrem, während des Schreibens des Buches oft zerstreuten, Institutsleiter entgegenbrachten.

Ein herzlicher Dank geht schließlich an das Institute for Advanced Studies (IAS) der TUM für die materielle Unterstützung, die für die Durchführung des Vorhabens besonders wichtig war. Das IAS finanzierte das Projekt durch Hilfskräfte und durch die Unterstützung einer Graphikerin (Frau Anke Schmolle, Frankfurt).

Zum Schluss kommt das Wichtigste: Der Dank an unsere Frauen (Dorothea Sackmann und Carla Merkel) für ihr Verständnis dafür, dass wir bei der Abfassung komplizierter Kapitel oft kaum ansprechbar waren, aber auch für die Aufmunterung in depressiven Phasen, die wohl jeden Autor bei der Abfassung eines Lehrbuchs von Zeit zu Zeit befallen.

München und Jülich, September 2009

*Erich Sackmann
Rudolf Merkel*

Das Buchprojekt wurde gefördert durch IAS und CeNS.



Häufig verwendete Symbole

A	mechanische Arbeit (Thermodynamik: die am System geleistete Arbeit)
Cb	Coulomb
E	Young-Modul
e_0	Elementarladung, $e_0 = 1,6 \cdot 10^{-19}$ Cb
F	Freie Energie (Helmholtzsche Freie Energie)
G	Freie Enthalpie (Gibbssche Freie Energie)
G_0', G_0''	Speichermodul und Verlustmodul viskoelastischer Körper
H	Enthalpie
k_B	Boltzmannsche Konstante, $k_B = 1,38065 \cdot 10^{-23}$ J K ⁻¹
K_A	Assoziationskonstante
K_D	Dissoziationskonstante
k_W	Ionenprodukt des Wassers
m	Masse
N	(Teilchen-)Zahl
N_A	Avogadro'sche Konstante (früher: Lohschmidtsche Zahl)
n	Dichte
O	Oberfläche
p	Druck
Q	Wärme
R	Radius
R	el. Widerstand
S	Entropie
T	Temperatur
U	Innere Energie
U	elektrisches Potenzial
V	Volt
V	Volumen
ϵ_0	Dielektrizitätszahl oder relative Permittivität eines Mediums
ϵ_0	Elektrische Feldkonstante, $\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12}$ C V ⁻¹ m ⁻¹
η	Viskosität (in Nsm ⁻²)
κ	Elastizitätstheorie

xxvi | Häufig verwendete Symbole

κ	reziproke Debye-Länge
μ	chemisches Potenzial
π	Kreiszahl, $\pi = 3,1415\dots$
π	osmotischer Druck
ρ	Massendichte
σ	Oberflächenspannung
ν	Frequenz (in Hz)
ρ	Massendichte
ω	Kreisfrequenz (in Radian s^{-1})

Abkürzungen

[]	Konzentration (in mol l ⁻¹)
[X]	Dimension einer Größe X
1D-, 2D-, 3D-	ein-, zwei-, dreidimensional
ABP	Aktin-Bindungsprotein
ACh	Acetylcholin
ADP	Adenosin-diphosphat
AFM	Atom-Kraftmikroskop
AMP	Adenosin-monophosphat
APZ	Antigen präsentierende Zelle
ATP	Adenosin-triphosphat
ATPase	Adenosin-Triphosphatase
B-Chl	Bakterio-Chlorophyll
cAMP	zyklisches Adenosin-monophosphat
CCD-Kamera	<i>charged coupled device</i> -Kamera
cGMP	zyklisches Guanosin-monophosphat
Chl <i>a</i> , <i>b</i>	Chlorophylle <i>a</i> und <i>b</i> der Pflanzen
Da	Dalton, Einheit des Molekulargewichts, 1 Da = 1 g mol ⁻¹
DAPC	Diarachidyl-phosphatidylcholin
DE	Dielektrizitätskonstante
DE	Permittivität
DIK	Differenzial-Interferenz-Kontrastmikroskopie
DMPC	Dimyristoyl-phosphatidylcholin
DNA	Poly-Desoxyribonukleinsäure
DPPC	Dipalmitoyl-phosphatidylcholin
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> -Bakterien
EM	Elektronenmikroskopie
EM	Extrazelluläre Matrix
ER	Endoplasmatisches Retikulum
ERM-Domäne	Domäne der Eryn-Radixin-Moesin-Proteinfamilie
ET-Kette	Elektronentransfer-Kette
EZ	Endothelzelle

FAC	fokale Adhäsionskomplexe
F-Aktin	filamentöses Aktin
FCS	<i>fluorescence correlation spectroscopy</i>
FE-Modell	Freies-Elektronengas-Modell
FRAP	<i>fluorescence recovery after photobleaching</i>
FRET	<i>fluorescence resonance energy transfer</i>
FTIR	<i>Fourier transform infrared spectroscopy</i>
G-Aktin	globuläres Aktin (Aktin-Monomer)
GDP	Guanosin-diphosphat
GFP	Grün fluoreszierendes Protein
GMP	Guanosin-monophosphat
GTP	Guanosin-triphosphat
GUZ	Gegen-Uhrzeigersinn
HA	Hyaluronsäure
ICAM 1	<i>inter-cellular adhesion molecule 1</i>
IgG	Immunglobulin G
IHZ	innere Haarzelle
IMF	Intermediärfilamente
IP3	Inositiol-triphosphat
LFA	<i>lymphocyte function-associated antigen 1</i>
LHS	Lichtsammler-Komplexe
MAP	Mikrotubuli-assoziiertes Protein
MC	Monte Carlo-Methode
MD	Moleküldynamik
MLCK	<i>myosin light-chain kinase</i>
MT	Mikrotubuli
Myo X	Myosin X
NAD ⁺	Nicotinamid-adenin-dinukleotid
NADH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinukleotid
NADP ⁺	Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat
NADPH	reduziertes Nicotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat
NMR	<i>nuclear magnetic resonance spectroscopy</i>
NO	Stickstoff-monoxid
OHZ	äußere Haarzelle
PC	Phosphatidyl-cholin
PCT	<i>patch clamp</i> -Technik
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
PE	Phosphatidyl-ethanolamin
P _i	Phosphat
PI	Phosphatidyl-inositol
PI-3-K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PI-3,4,5-P3	Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat
PI-4,5-P2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PIP2	Phosphatidylinositol-diphosphat
PM	Plasmamembran

POPC	Dioleyl-phosphatidylcholin
PS	Phosphatidyl-serin
Q	Quantenausbeute
QENS	<i>quasielastic neutron scattering</i>
RIKM	Reflexions-Interferenzkontrast-Mikroskopie
RNA	Poly-Ribonukleinsäure
RZI, RZ II	Reaktionszentren der Chloroplasten
SANS	<i>small angle neutron scattering</i>
SOPC	Stearoyl-oleyl-phosphatidylcholin
SPHM	Sphingomyelin
TZR	T-Zell-Rezeptor
ZU	Uhrzeigersinn

Einleitung

Zu diesem Buch

Obwohl biologische Fragestellungen die Entwicklung der Physik häufig befruchtet haben, ist die Biophysik ein junger Zweig der universitären Lehre, der erst seit einigen Jahren als Spezialfach für Physiker angeboten wird. Wir hoffen, mit dem vorliegenden Lehrbuch einen Beitrag zu diesem Prozess leisten zu können. Es basiert auf dem während der letzten 35 Jahre aufgebauten Vorlesungszyklus Biologische Physik für Physiker und Biologen, der an der Technischen Universität München im fünften und sechsten Semester angeboten wurde. Um den Umfang des Textes zu beschränken, haben wir uns hier auf die den Eigenschaften biologischer Moleküle, Materialien und Systeme zugrunde liegenden physikalischen Konzepte konzentriert.

Im Spannungsfeld zwischen den Eigenschaften biologischer Materie, ihrer biologischen Funktion und deren Regulation durch biochemische Signalprozesse sind es oft physikalische Konzepte, welche uns erlauben, die vielfältigen biologischen Phänomene und Strukturen zu katalogisieren und auf einfachere Prinzipien zurückzuführen. Unser besonderes Anliegen war es, die Rolle der Physik für die Funktion und Selbstorganisation lebender Materie, vom Biomolekül bis hin zur Signalübertragung in sensorischen Organen, herauszuarbeiten. Dazu war es notwendig, ein Minimum an Grundlagen der Biochemie und der Zellbiologie darzustellen, um Studenten in die Lage zu versetzen, den Text auch ohne ausführliches Studium der sehr umfangreichen Monographien über Zellbiologie und Biochemie zu verstehen. Dabei ist es unvermeidlich, Details zu vereinfachen, sodass manche Themen den Experten zu oberflächlich erscheinen mögen. An den meisten Stellen verweisen wir deswegen auf weiterführende Literatur, die es dem Leser ermöglicht, ein Thema nach seinen Wünschen und Bedürfnissen zu vertiefen. Eine Schwierigkeit, die wir nicht umgehen konnten, ist die Verwendung der fast unendlichen Vielfalt an Namen und Abkürzungen für Proteine oder Proteindomänen. Vor allem in der Zellbiologie werden oft verschiedene Namen für Proteine mit derselben Funktion verwendet, zudem verändert sich die Nomenklatur auch noch mit der Zeit. Dies ist schade, da viele Prozesse in den verschiedenen Zellen (wie Bakterien, Hefe, tierische und pflanzliche Zellen)

oft erstaunlich universell ablaufen und auch die Struktur der beteiligten Proteine (oder deren funktionelle Domänen) im Verlauf der Evolution wenig verändert wurde. Als Hilfe haben wir ein umfangreiches Glossar der hier benutzten biologischen Begriffe zusammengestellt. Viele Begriffe der Biochemie und Zellbiologie sind auch gegenwärtig recht gut in der Internet-Enzyklopädie Wikipedia definiert.

Das vorliegende Lehrbuch unterscheidet sich auch in folgender Hinsicht von Lehrbüchern der Physik oder Biochemie. In dem noch jungen Gebiet der Biophysik sind viele Dinge im Fluss und eine Reihe der hier dargestellten Konzepte und Ergebnisse kann schnell veralten. Wir haben trotzdem versucht, auch stark im Fluss befindliche Fragestellungen (wie die Physik der Zelle) zu behandeln, von denen wir überzeugt sind, dass sie in den nächsten Jahren mehr ins Zentrum des Interesses rücken werden.

Im Anhang des Buches findet der Leser eine umfangreiche Sammlung von Aufgaben, teilweise mit Hilfe und Anleitungen zur Lösung. Ein Teil dieser Aufgaben sind, wie in der Physik üblich, durch Anwendung von im Text vorgestellten Formeln und geschickter Umformung lösbar. Andere Aufgaben sollen dazu anregen, eigene Ideen zu entwickeln und Konzepte zu hinterfragen. In diesen tritt der mathematische Teil an Bedeutung zurück, ihr besonderer Reiz liegt darin, dass es oft keine endgültige Lösung gibt. Viele der hier gestellten Aufgaben erfordern das Studium der angegebenen Literatur. Anhand dieser soll der Student lernen, die wesentlichen physikalischen Konzepte wichtiger Experimente der Biophysik herauszuarbeiten oder zu überlegen, wie er ein Experiment konzipieren würde, um physikalische Eigenschaften unter möglichst natürlichen Bedingungen zu messen oder Prozesse durch Aufbau von Modellsystemen aufzuklären. Diese Aufgaben können auch als Themen für Seminarvorträge oder für Gruppenarbeit dienen. Seminare, in denen Studenten lernen, wie man z.B. die physikalischen Eigenschaften der Zellen oder Organe unter Bedingungen *in vivo* messen kann, halten wir in den Lebenswissenschaften für besonders wichtig. Gerade ein Forschungsgebiet, das wie die Biophysik klassische Disziplinen verknüpft, erfordert einen intensiven wissenschaftlichen Dialog. Wir hoffen, dass unsere Aufgaben helfen, möglichst früh die Freude an diesem fruchtbaren Prozess zu wecken. Hilfe zur Lösung vieler Aufgaben findet man unter www.biophy.de/buch/.

Über den Inhalt

Das Buch ist in thematische Blöcke gegliedert, die zum Teil auch unabhängig vom Rest des Buchs verwendet werden können, wobei wir eine Lektüre der einleitenden Kapitel empfehlen.

Nach einer kurzen Einführung in die Geschichte der Biophysik und der Beziehung zwischen Lebenswissenschaften und der Physik beginnen wir mit einleitenden Kapiteln zu zellbiologischen (2), physikalischen (3), chemischen (4) und biochemischen Grundlagen (5). Daraufhin wenden wir uns den Proteinen und ihrer Wechselwirkung zu, die aufgrund ihrer wichtigen biologischen Rolle in drei Kapiteln (6–8) besprochen werden. Dieser Block über molekulare Biophysik wird gefolgt von einer eingehenden Diskussion der Zellmembrane (9–13), in der ein

Bogen gespannt wird von den grundlegenden physikalischen Eigenschaften der Lipiddoppelschichten bis zur Zelladhäsion, einer wesentlichen biologischen Funktion der Membrane. Einer weiteren wesentlichen Eigenschaft der Zellmembran, der elektrischen Erregbarkeit, sind die folgenden vier Kapitel (14–17) gewidmet. Nach dieser Diskussion bioelektrischer Phänomene wenden wir uns den strukturellen und physikalischen Grundlagen der Biomechanik von Zellen zu (18–20). Daran schließt sich eine Diskussion der vielfältigen Mechanismen der Fortbewegung von Bakterien und höheren Zellen durch molekulare Motoren an (21–22), gefolgt von einem Themenblock über die viskoelastischen Eigenschaften makromolekularer Netzwerke (23–27). Die Abschnitte über Biomechanik enden mit zwei Kapiteln über Zellen als mechanische Sensoren (28) und ihre außergewöhnlichen mechanischen Eigenschaften (29), in denen wir uns der aktuellen Forschung der Physik der Zelle annähern. Nach der eingehenden Behandlung der Bioelektrik und Biomechanik wird die Photobiophysik in zwei Kapiteln (30–31) behandelt, wobei wir uns aufgrund ihrer überragenden Bedeutung für die lebende Welt auf die Photosynthese beschränken. Um das komplexe Zusammenspiel von Molekülen und Zellen in höheren Organismen exemplarisch zu beleuchten, widmen wir uns in den nächsten drei Kapiteln (32–34) der Physik des Hörens. Abgeschlossen wird das Buch durch zwei Kapitel über die Selbstorganisation der Viren (35) und des Genoms (36). Im letzten Kapitel (37) behandeln wir die physikalischen Grundlagen einiger wichtiger Methoden der Biophysik. Dieses Kapitel soll auch bei der Lösung der Übungsaufgaben helfen, in denen häufig die Anwendung physikalischer Methoden im Vordergrund des Interesses steht.

Wir haben durchgängig versucht, physikalische Grundlagen und biologische Anwendungen miteinander zu verzahnen. Daher folgt zum Beispiel auf das Kapitel über Thermodynamik von Membrandomänen eine Beschreibung der Zelladhäsion. Für uns verleiht ein solches Hand-in-Hand-Gehen von biologischen und physikalischen Konzepten der Biophysik ihren besonderen Reiz.

Farbige Abbildungen im Illustrator-Format sind frei zugänglich unter www.biophy.de und www.wiley-vch.de.

1

Eine Einführung in das Studium der Biophysik

1.1

Woher kommt und wozu treiben wir Biophysik

Die Biophysik bildet die Brücke zwischen der Physik und den Lebenswissenschaften. Sie bringt etwas vom Geiste des achtzehnten und neunzehnten Jahrhunderts zurück, als Naturforscher wie Thomas Young¹⁾ oder Hermann von Helmholtz²⁾ die Physiologie begründeten und der Physik völlig neue Gebiete eröffneten. Heute ist die Biologische Physik eng mit der Physik weicher Materie und komplexer Systeme verknüpft und viele Fragestellungen sind Bestandteil der Statistischen Physik geworden. Ein völlig neuer und für Physiker ungewohnter Aspekt kommt jedoch dadurch ins Spiel, dass biologische Systeme (wie Zellen) aus modularen Untersystemen mit spezifischen Funktionen (wie z. B. den Chromosomen als Informationsspeicher) aufgebaut sind, die über biochemische Signalsysteme untereinander vernetzt sind. Die Systeme befinden sich weit außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts und verhalten sich meist nichtlinear. Eine kleine Störung der Zusammensetzung einer Zelle, wie die Änderung einer Aminosäure eines Proteins durch Mutation, kann fatale Folgen haben. Ein Beispiel, das wir weiter unten behandeln werden, ist die Sichelzellanämie, die durch eine einzige punktuelle Mutation des Hämoglobins hervorgerufen wird. Man muss auch stets bedenken, dass eine aus einem Organ isolierte Zelle (z. B. eine Blutzelle) oder ein aus der Zelle entnommenes Organell auch unter physiologischen Bedingungen (wie Blutzellen in physiologischer Kochsalzlösung) völlig andere physikalische Eigenschaften besitzen kann als in seiner natürlichen Umgebung. Mit anderen Worten: Biologische Materialien verhalten sich wie komplexe Maschinen (z. B. ein Auto), in denen jeder Bestandteil mit allen anderen wechselwirken kann. Ein Fehler in einem Bestandteil, z. B. der Zündung, kann fatale Folgen für die Funktion des Autos haben. Daher besitzen unsere Autos mehrere Zylinder. Deshalb ist es notwendig, dass Physiker, die auf einem Gebiet der Lebenswissenschaften arbeiten, etwas von der Denkweise der Ingenieure

- 1) Thomas Young (* 13. Juni 1773 in Milverton; † 10. Mai 1829 in London) war ein englischer Augenarzt und Physiker. 2) Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz (* 31. August 1821 in Potsdam; † 8. September 1894 in Berlin) war ein deutscher Physiologe und Physiker.

übernehmen, die gelernt haben, dass man bei der Untersuchung einer Maschine das Zusammenwirken aller Bauteile im Auge behalten muss.

Die Biophysik verfolgt mehrere Stoßrichtungen. Die eine befasst sich mit der Entwicklung von Methoden zur Untersuchung der Architektur biologischer Materialien von molekularen bis makroskopischen Skalen und versucht ihre physikalischen Eigenschaften unter möglichst natürlichen (*in vivo*-) Bedingungen zu messen. Hier eröffnet sich eine breite Spielwiese für junge Physiker mit Freude am Entdecken. Man kann mit einfachen Methoden (wie mit optischen und magnetische Pinzetten oder einer Glaspipette gepaart mit einem guten Mikroskop) die physikalischen Eigenschaften der Zellen studieren, vorausgesetzt, man ist bereit, sich in die Zellbiologie einzuarbeiten. Wer jedoch gerne mit großen Maschinen arbeitet, kann die Struktur und Dynamik biologischer Materialien mit Neutronen- und Röntgenbeugung erforschen. Moderne Methoden der Röntgenbeugung mit fokussierten Strahlen eröffnen völlig neue Einblicke in die molekulare Architektur von Gewebe, Knochen oder Holz [1]. Man kann mit einigem Optimismus erwarten, dass die Entwicklung der Spallations-Neutronenquellen und des Freien Elektronenlasers neue Einsichten in die Basis des molekularen Erkennens zwischen Proteinen und DNA, oder die physikalischen Grundlagen der Proteinfaltung liefern wird.

Eine zweite Forschungsrichtung ist die von der Biologie inspirierte Physik. Sie versucht, möglichst realistische Modelle lebender Materie (wie Membranen, Gewebe oder Knochen) aufzubauen, um spezifische biologische Prozesse zu imitieren. Solche Modelle spielen eine wichtige Rolle, beispielsweise um die Verlässlichkeit neuer physikalischer Methoden zu testen, oder um nach den wesentlichen physikalischen Parametern zu suchen, welche das biologische Verhalten eines Systems bestimmen. Parallele Untersuchungen natürlicher Systeme und von Modellen helfen auch, Bezüge zur Physik kondensierter Materie herzustellen. Im Hintergrund steht der Gedanke, die Strategie der biologischen Selbstorganisation zur Herstellung neuartiger smarter Materialien einzusetzen. Beispiele dieses Bionik genannten Gebietes sind Materialien, die ihre Eigenschaften an wechselnde Umgebungsbedingungen anpassen können, wie sich selbst reinigende Oberflächen³⁾ oder bruchfeste Keramiken, wie sie in Prozessen der Biomineralisierung entstehen. Im Grenzbereich zwischen Physik und Technik sind Bemühungen angesiedelt, Methoden der Navigation in der Tierwelt zu imitieren. So hat die Echoortung der Fledermaus die Radartechniker zum Bau des Zirp-Radars inspiriert. Auch beim Bau von Robotern lässt man sich gern von der Biologie inspirieren. So gibt es derzeit zahlreiche Versuche, die Fähigkeit der Insekten und Salamander, Wände hochzulaufen, zu imitieren. Man könnte auf diese Weise Roboter zum Fensterputzen bauen.

Ein anderer zukunftssträchtiger Zweig der angewandten Biologischen Physik ist der Bau von Biosensoren durch Aufbau von Enzymsystemen, Biomembranen oder Nervenzellen auf elektro-optischen Bauelementen (beispielsweise zweidimensionale Anordnungen von Punkt-Transistoren, die als Nano-Voltmeter fungie-

3) Auch „Lotus-Effekt“ genannt.

ren [2, 3]). Hier gibt es auch zahlreiche Querverbindungen zur Nanotechnik oder Mikrooptik, denn die dort entwickelten Methoden eröffnen neue Möglichkeiten zur Messung physikalischer Eigenschaften der Zellen in natürlicher Umgebung.

Auf fundamentalere Fragen der Biologie zielt die oft als Systembiophysik bezeichnete Erforschung der Regulation biologischer Prozesse durch das Wechselspiel zwischen biochemischen und genetischen Signalkaskaden, der dadurch bedingten Modifikation der Materialeigenschaften und der biologischen Funktion. Hier arbeiten Physiker, Mathematiker und Ingenieure miteinander. Eine besonders faszinierende Fragestellung dieser Kategorie ist die Entwicklung vom befruchteten Ei zum Embryo (oft Morphogenese genannt). Was steuert die Differenzierung der zunächst völlig identisch erscheinenden Zellen des befruchteten Eis in Neuronen oder Muskelzellen und was legt den Zeitplan der embryonalen Entwicklung fest? Ist dies alles im genetischen Code vorbestimmt oder bestimmt die Kopplung zwischen externen äußeren Kräften (wie chemischen Potenzialen oder mechanischen Kräften) und dem genetischen Apparat den Prozess der Morphogenese? Es gibt durchaus Hinweise, dass die im genetischen Code gespeicherten Informationen nicht ausreichen, um die Entwicklung komplexer Organe festzulegen, und dass andere Kräfte ins Spiel kommen müssen. Alan Turing⁴⁾, der geistige Vater des Programmierens, hat uns erstmals gelehrt, wie raum-zeitliche Muster (beispielsweise von Signalmolekülen, welche die Entwicklung von Organen steuern) allein durch Zusammenspiel chemischer Potenziale und autokatalytischer Prozesse entstehen können.

Wir wissen heute, dass die Entwicklung vom befruchteten Ei zum ausgewachsenen Lebewesen vor allem durch die zeitliche Folge der Expression von Genen bestimmt ist. Andererseits zeigt sich auch immer mehr, dass die Zell-Zell-Erkennung und insbesondere mechanische Kräfte die Differenzierung und räumliche Organisation der Zellen steuern können [4]. Die Aufklärung des Wechselspiels zwischen Morphogenese und der Physik der Zelle ist eine besonders reizvolle Aufgabe für Experimentatoren und Theoretiker.

Immer mehr Physiker finden Interesse an der Gehirnforschung und versuchen zu verstehen, wie das Gehirn die Umwelt wahrnimmt. Ein Meilenstein auf dem Weg zur quantitativen Gehirnforschung war die große Entdeckung von David Hubel⁵⁾ und Torsten Wiesel⁶⁾, dass optische Muster, die auf die Netzhaut der Augen projiziert werden, im visuellen Cortex als Erregungsmuster abgebildet werden. Diese Experimente brachten der Physik neuronaler Netzwerke einen enormen Aufschwung [5].

Es gibt auch einen gesellschaftlichen Grund, die fundamentalen Gesetzmäßigkeiten der Selbstorganisation und Funktion biologischer Systeme systematisch aufzuklären. Wir lernen dabei, wie Mutter Natur es schafft, Tausende von Molekülsorten auf engstem Raum zu Funktionssystemen zusammenzuführen und

4) Alan Mathison Turing (* 23. Juni 1912 in London; † 7. Juni 1954 in Wilmslow) war ein britischer Logiker, Mathematiker und Kryptanalytiker.

5) David Hunter Hubel (* 27. Februar 1926 in Windsor) ist ein kanadisch/US-amerikanischer Neurobiologe.

6) Torsten Nils Wiesel (* 3. Juni 1924 in Uppsala) ist ein schwedischer Neurophysiologe.

deren Wechselwirkung untereinander so zu organisieren, dass chaotisches Verhalten vermieden wird. Schließlich schafft die Ausbildung der Studenten auf dem Gebiet der Biophysik eine neue Generation von Physikern, die gelernt hat, mit komplexen Systemen umzugehen und denen die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit Biologen, Mathematikern, Chemikern und Ingenieuren Freude macht. Wenn wir die wachsenden Probleme mit unserer Umwelt lösen wollen, werden so breit ausgebildete Wissenschaftler dringend benötigt.

1.2

Eine kurze Geschichte der Biologischen Physik

Physik und Biologie haben gemeinsame Ahnen und haben sich oft gegenseitig befruchtet. Viele Erfindungen neuer physikalischer Messmethoden haben zu einem Entwicklungsschub in der Biologie geführt. Es gibt aber auch viele Beispiele dafür, wie Beobachtungen der Biologen zu neuen Denkanstößen in der Physik führten.

Ein erster Geburtshelfer der modernen Biologie war der Delfter Kaufmann und geniale Hobbyforscher Antoni van Leeuwenhoek⁷⁾, der um 1670 genial einfache Mikroskope baute, mit denen er 200-fache Vergrößerung erreichte (Abb. 1.1). Diese bestanden aus einer auf einem Kupferring ruhenden Glaskugel, als Beleuchtung diente eine Kerze. Er beobachtete damit erstmals lebende Zellen (wahrscheinlich sogar große Bakterien) und berichtete darüber in zahlreichen Briefen an die Royal Society in London, deren Mitglied er war.

Als zweiten Entdecker der Zelle kann man Robert Hooke⁸⁾ ansehen. Dieser sicherlich genialste Experimentator des siebzehnten Jahrhunderts, dessen Name uns durch sein Gesetz der Elastizität bekannt ist, beobachtete die Struktur von Kork (Abb. 1.1b) und prägte den Begriff der Zelle. Diese Beobachtung und die zahlreichen Berichte Leeuwenhoeks über die Existenz und Bewegung von Zellen wurden von den Biologen lange als Spielerei abgetan und so dauerte es noch gut 200 Jahre, bis die Idee der Zelle schrittweise akzeptiert wurde. Der Botaniker Matthias Schleiden⁹⁾ propagierte um 1835 die Vorstellung, dass Pflanzen aus gleichartigen Zellen aufgebaut sind und machte so die Idee der Zelle als kleinste lebende Einheit unter Biologen populär. Theodor Schwann¹⁰⁾ überzeugte die Mediziner von deren Existenz. Der berühmte und einflussreiche deutsche Arzt Rudolf Virchow¹¹⁾ postulierte um 1855, dass Zellen nur aus Zellen entstehen können.

- 7) Antoni van Leeuwenhoek (* 24. Oktober 1632 in Delft; † 4. November 1682; † 27. August 1723 ebenda) war ein niederländischer Naturforscher.
- 8) Robert Hooke (* 18. Juli 1635 auf der Isle of Wight; † 3. März 1703 in London) war ein englischer Physiker, Mathematiker und Erfinder.
- 9) Matthias Jacob Schleiden (* 5. April 1804 in Hamburg; † 23. Juni 1881 in Frankfurt am

Main) war ein deutscher Botaniker und Mitbegründer der Zelltheorie.

- 10) Theodor Schwann (* 7. Dezember 1810 in Neuss; † 11. Januar 1882 in Köln) war ein deutscher Physiologe.
- 11) Rudolf Ludwig Karl Virchow (* 13. Oktober 1821 in Schivelbein; † 5. September 1902 in Berlin) war Arzt an der Berliner Charité und Politiker.

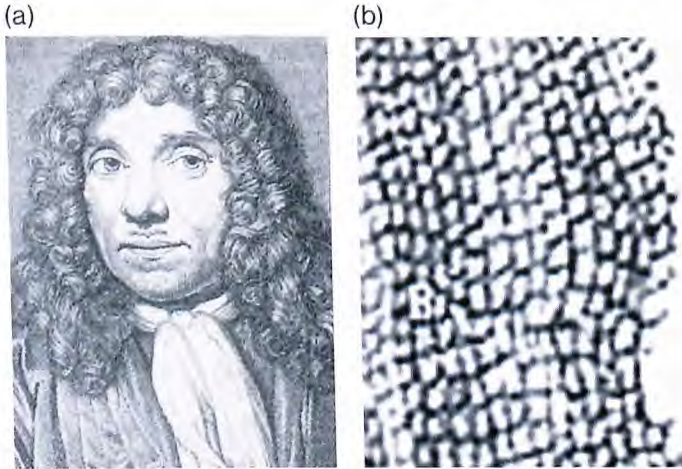


Abb. 1.1 (a) Antoni van Leeuwenhoek, (b) das von Robert Hook gezeichnete mikroskopische Bild von Kork.

Mit dem berühmten Satz „*Omnis cellula ex cellula*“ machte er auch dem auf Aristoteles zurückgehenden Irrglauben von der Entstehung des Lebens aus organischer Materie endgültig den Garaus.

Ein zweiter methodischer Meilenstein ist die Entwicklung des Elektronenmikroskops durch Ernst Ruska¹²⁾ (1932). Es ermöglichte erstmals Einblicke in die Wunder der Mikro-Architektur der Zelle und zeigte uns deren Aufbau aus funktionellen Kompartimenten. Moderne Weiterentwicklungen wie die Elektronenbeugung spielten eine zentrale Rolle bei der Aufklärung der Struktur nicht kristallisierbarer Proteine (welche den Großteil aller Proteine ausmachen) und die Elektronentomografie eröffnete neue Möglichkeiten, die Feinstruktur der Zelle mit einer Auflösung von wenigen Nanometern zu beobachten und einzelne Moleküle zu identifizieren.

Der Siegeszug der modernen Strukturbiologie durch die Röntgenbeugung wurde von dem Physiker William Bragg¹³⁾ eingeleitet. Seine Deutung der Röntgenbeugung auf der Basis der Abbeschen Theorie¹⁴⁾ des Mikroskops führte zur Idee, das Phasenproblem durch Einbau von Schweratomen in Proteine zu lösen. Die Realisierung dieser Ideen führte dann zur Aufklärung der molekularen

12) Ernst August Friedrich Ruska (* 25. Dezember 1906 in Heidelberg; † 27. Mai 1988 in Berlin) war ein deutscher Elektrotechniker.

13) Sir William Lawrence Bragg (* 31. März 1890 in Adelaide/Australien; † 1. Juli 1971 in Waldringford) erhielt den Nobelpreis 1915 gemeinsam mit seinem Vater William Henry Bragg für die Aufklärung der physikalischen Grundlagen der Röntgenbeugung an Kristallen und die Aufstellung der Bragg'schen Gleichung.

14) Der Physiker Ernst Karl Abbe (* 23. Januar 1840 in Eisenach, † 14. Januar 1905 in Jena) ist der Begründer der modernen Optik. Durch seine Theorie der mikroskopischen Abbildung auf der Basis der Lichtbeugung legte er die Grundlagen zur Entwicklung hochauflösender Mikroskope. Diese Theorie bildet auch die Grundlage der Röntgenbeugung (s. Kapitel 37). Abbe war auch der Gründer der Carl-Zeiss-Stiftung und ein Wegbereiter der modernen Sozialpolitik.

(a)



(b)



Abb. 1.2 (a) Hermann von Helmholtz (1821–1894), (b) Thomas Young (1773–1829).

Struktur des Myoglobins und Hämoglobins durch John Kendrew¹⁵⁾ und Max Perutz¹⁶⁾. Zum ersten Mal erhielten die Biochemiker Einblick in die molekulare Architektur der Proteine, konnten die Funktion der Enzyme auf molekularer Ebene verfolgen und sahen, wie elegant die Natur die Probleme des Sauerstofftransports oder der Speicherung von Elektronen in wässriger Umgebung gelöst hat.

Die ersten Helden der Biophysik waren Thomas Young und Hermann von Helmholtz, die beide über die Medizin zur Physik kamen (Abb. 1.2). Thomas Young (1773–1829) war nicht nur ein genialer Naturforscher, sondern ist aufgrund seiner Pionierarbeit bei der Aufklärung der Hieroglyphen und der Entzifferung des Steins von Rosette auch einer der Begründer der Ägyptologie. Sein berühmter Beugungsversuch lieferte den ersten experimentellen Beweis für die Wellennatur des Lichts, brachte ihm aber die Feindschaft des wissenschaftlichen Establishments in England ein. Er lieferte in Selbstversuchen den Beweis, dass die Adaption des Auges auf der Deformation der Augenlinse beruht und klärte die Ursache des Astigmatismus auf. Seine Dreifarben-Hypothese des Farbsehens und deren Ausbau durch Helmholtz wurden voll bestätigt. Ebenso wichtig für die Biologie ist seine Entdeckung des nach ihm benannten Gesetzes der Kapillarität. Die Beiträge von Helmholtz umfassen die Entwicklung des Augenspiegels und die ersten Messungen der Transportgeschwindigkeit von Nervensignalen (siehe Kapitel 16). Seine Formulierung des Energiesatzes und die Entdeckung der zentralen Bedeutung der Zirkulationsströmung für das Fliegen wurden durch die

15) Sir John Cowdery Kendrew (* 24. März 1917 in Oxford; † 23. August 1997 in Cambridge) war ein britischer Biochemiker, Molekularbiologe und Nobelpreisträger.

16) Max Ferdinand Perutz (* 19. Mai 1914 in Wien; † 6. Februar 2002 in Cambridge) war ein österreichisch-britischer Chemiker und Nobelpreisträger.

Biologie inspiriert. Seine Entwicklung vom Mediziner zum theoretischen Physiker ist phänomenal. Als Mediziner begründete er die moderne Physiologie und als Physiker legte er den Grundstein für die zum Ende des neunzehnten Jahrhunderts einsetzende, rapide Entwicklung der Physik in Deutschland.

Ein Begründer der Biophysik des zwanzigsten Jahrhunderts war Max Delbrück¹⁷⁾, der den umgekehrten Weg von der Physik zur Biologie ging. Er ist der Wegbereiter der modernen Molekularbiologie. Zusammen mit Salvador Luria¹⁸⁾ führte er 1943 die ersten exakten genetischen Experimente an Bakterien durch, die zeigten, dass diese gegen ihre Feinde, die Bakteriophagen, durch Mutation resistent werden. Max Delbrück und Erwin Schrödinger¹⁹⁾ (in seinem einstmals berühmten Buch „Was ist Leben“ [6]) propagierten auch erstmals die Idee, dass genetische Information in Makromolekülen gespeichert wird.

Über die Klammer der Physiologie war die Beziehung der Physik zur Medizin stets enger als die zur Biologie. Ein schönes Beispiel ist die Elektrophysiologie. Die genialen Experimente von Andrew Huxley²⁰⁾ und Alan Hodgkin²¹⁾ am Axon des Tintenfisches und ihr auf der Idee der Ionenkanäle beruhendes Modell erregbarer Membranen bildet auch heute noch die Basis der Elektrophysiologie. Hier wurde zum ersten Mal deutlich, was exakte physikalische Messungen in den Lebenswissenschaften leisten können und wie wichtig diese sind, um die Biologie zu einer quantitativen Wissenschaft zu machen.

Ein anderer Pionier des frühen zwanzigsten Jahrhunderts, im Grenzgebiet zwischen Physik und Medizin, war Georg von Békésy²²⁾. Durch sehr einfache, aber geniale Experimente zeigte er, dass akustische Schwingungen in der Schnecke (Cochlea) des Innenohres in Wanderwellen entlang der Basilar-Membran umgesetzt werden. Seine Experimente zeigten, wie wichtig die Mechanik und Hydrodynamik in der Biologie sind und brachte viele Physiker und Ingenieure dazu, sich mit lebender Materie zu befassen. Die Umsetzung mechanischer Kräfte in elektrische Signale durch die Haarzellen ist ein besonders interessantes, noch weitgehend ungelöstes physikalisches Problem der Zellbiologie, auf das wir im Kapitel Hören kommen werden.

Kommen wir nun zur Befruchtung der Physik durch die Biologie. Die prominentesten Beispiele sind die Entdeckung des allgemeinen Energiesatzes durch Julius von Mayer²³⁾ und Hermann von Helmholtz sowie die Theorie der Brown-

17) Max Delbrück (* 4. September 1906 in Berlin; † 9. März 1981 in Pasadena) war ein deutsch-amerikanischer Genetiker, Biophysiker und Nobelpreisträger.

18) Salvador Edward Luria (* 13. August 1912 in Turin; † 6. Februar 1991 in Lexington) war ein US-amerikanischer Mikrobiologe und Nobelpreisträger italienischer Abstammung.

19) Erwin Rudolf Josef Alexander Schrödinger (* 12. August 1887 in Wien; † 4. Januar 1961 ebenda) war ein österreichischer Physiker und Nobelpreisträger.

20) Sir Andrew Fielding Huxley OM (* 22. November 1917 in Hampstead) ist ein engli-

sch-er Biophysiker, Physiologe und Nobelpreisträger.

21) Sir Alan Lloyd Hodgkin (* 5. Februar 1914 in Banbury; † 20. Dezember 1998 in Cambridge) war ein englischer Biochemiker und Nobelpreisträger.

22) Georg von Békésy (* 3. Juni 1899 in Budapest; † 13. Juni 1972 in Honolulu) war ein ungarisch-US-amerikanischer Physiker, Physiologe und Nobelpreisträger.

23) Julius Robert von Mayer (* 25. November 1814 in Heilbronn; † 20. März 1878 ebenda) war ein deutscher Arzt und Physiker.

schen²⁴⁾ Bewegung durch Albert Einstein²⁵⁾. Mayer beobachtete als Schiffsarzt auf Java, dass das in den Venen zum Herzen zurückfließende Blut der Hafendarbeiter in den Tropen heller ist, als in gemäßigten Zonen. Er wusste auch, dass das Blut umso heller ist, je mehr Sauerstoff es enthält. Er schloss daraus, dass die Arbeiter in den Tropen bei gleicher Arbeitsleistung weniger Sauerstoff (und damit Energie) verbrauchen als in gemäßigten Zonen, da weniger Wärme an die Umgebung abgegeben wird. Dies führte ihn auf die Idee, dass Wärme und mechanische Arbeit äquivalente Energieformen sind, und er bestimmte aus physiologischen Messungen sogar das mechanische Wärmeäquivalent. Seine Intuition allein reichte jedoch nicht aus, um der Idee in der Physik zum Durchbruch zu verhelfen. Erst dem theoretischen Genie Helmholtz gelang 1843 die allgemeine Formulierung des Energiesatzes [7]. Seine mit 26 Jahren verfasste Arbeit wurde jedoch nicht zur Publikation in den *Annalen für Physik und Chemie* angenommen und so hatte der Energiesatz auch nach seiner Arbeit einige Mühen, sich durchzusetzen.

Einsteins Deutung der Beobachtung des Botanikers Robert Brown, dass Bärlappsporen in Wasser wirre Bewegungen ausführen, hat die Physik zu Beginn des Jahrhunderts fast ähnlich stark beeinflusst wie die Plancksche Strahlungsformel. Nach dem experimentellen Beweis der Theorie der Brownschen Bewegung durch den französischen Physiker Jean-Baptiste Perrin²⁶⁾ akzeptierten auch die skeptischen Physiker das Konzept der atomistischen Struktur der Materie. Zuvor gab es erstaunlicherweise unter Physikern erhebliche Zweifel. Dies zeigt ein Blick in das um die Jahrhundertwende sehr einflussreiche Buch von Ernst Mach²⁷⁾ „Die Mechanik“, in dem das Konzept als reines Denkmodell abgetan wurde [9].

Die historischen Beispiele zeigen, dass die Physik eine zentrale Rolle bei der Entwicklung neuer Methoden zur Untersuchung der Struktur und Funktion biologischer Materie spielte. Aber kann die Physik auch prinzipielle Fragen der Biologie klären? Nach Jacques Monod²⁸⁾, dem großen französischen Genetiker, ist Leben zwar mit den Gesetzen der Physik kompatibel, wird aber nicht durch physikalische Gesetze kontrolliert. Noch radikaler äußerte sich der bekannte Senior der Entwicklungsbiologie, Ernst Mayr²⁹⁾, der behauptete, die Physik spiele in der Biologie überhaupt keine Rolle und habe praktisch nichts zur Deutung lebender Materie beigetragen [10].

Solche Aussagen wurden durch die Entwicklung der Biologischen Physik widerlegt. Um beispielsweise die Zusammenhänge zwischen der molekularen Struktur und der Funktion der Proteine oder die molekularen Mechanismen

24) Benannt nach Robert Brown (* 21. Dezember 1773 in Montrose; † 10. Juni 1858 in London), einem schottischen Botaniker.

25) Albert Einstein (* 14. März 1879 in Ulm; † 18. April 1955 in Princeton) war ein Physiker und Nobelpreisträger.

26) Jean-Baptiste Perrin (* 30. September 1870 in Lille; † 17. April 1942 in New York) war ein französischer Physiker und Nobelpreisträger.

27) Ernst Mach (* 18. Februar 1838 in Chirlitz-Turas; † 19. Februar 1916 in Haar) war ein

Physiker, Philosoph und Wissenschaftstheoretiker.

28) Jacques Lucien Monod (* 9. Februar 1910 in Paris; † 31. Mai 1976 in Cannes) war ein französischer Biochemiker und Nobelpreisträger.

29) Ernst Walter Mayr (* 5. Juli 1904 in Kempten; † 3. Februar 2005 in Bedford) war ein deutsch-amerikanischer Biologe und der Hauptvertreter der modernen synthetischen Evolutionstheorie.

der genetische Expression zu verstehen, reichen die Genetik und Biochemie nicht aus. Der genetische Code legt zwar die Primärstruktur der Proteine fest, aber die spezifische Faltung der Proteine oder der Aufbau komplexer biochemischer Maschinen wie Membranen oder Muskeln wird durch formabhängige zwischenmolekulare Kräfte und damit durch physikalische Gesetze bestimmt. Sie kontrollieren die Selbstorganisation der molekularen Bausteine zu funktionellen Modulen und ermöglichen, zusammen mit den Skalengesetzen der Physik, die Evolution höherer Lebensformen. Dies ist das Thema des nächsten Abschnitts.

1.3

Leben als Zusammenspiel von Genetik und Physik

Wir sind fasziniert und überwältigt von der schier unendlichen Vielfalt von Lebensformen, die sich über gut acht Größenordnungen der Längenskala erstrecken. Diese Vielfalt erstaunt uns noch mehr, seit wir wissen, dass der Bauplan für die Entwicklung aller Lebewesen durch die Anordnung der Basenpaare in der DNA-Doppelhelix festgelegt ist, sodass jedes sein eigenes Genom besitzt. In Anbetracht der Komplexität lebender Materie stellt sich insbesondere die Frage, ob die auf der DNA gespeicherte Information allein ausreicht, den Bauplan für die Entwicklung eines Lebewesens vom befruchteten Ei zu ausgewachsenen Tieren oder Pflanzen festzulegen. Tatsächlich ist die Situation einfacher, als man bei Betrachtung von Abb. 1.3 zunächst denkt, denn Mutter Natur schafft die Vielfalt der Lebewesen durch Kombination einer erstaunlich kleinen Zahl molekularer Grundbausteine und Makromoleküle, wie wir weiter unten sehen werden. Dies gelingt ihr durch das Wechselspiel zwischen der genetischen Information und der Physik (und natürlich der Chemie) der lebenden Materie. Zwei Prinzipien spielten bei der Entstehung des Lebens eine zentrale Rolle:

- die Selbstorganisation smarterer molekularer Bausteine durch formabhängige zwischenmolekulare Kräfte, und
- der hierarchische Aufbau der Materie aus nahezu identischen, spezifische Funktionen erfüllenden Modulen.

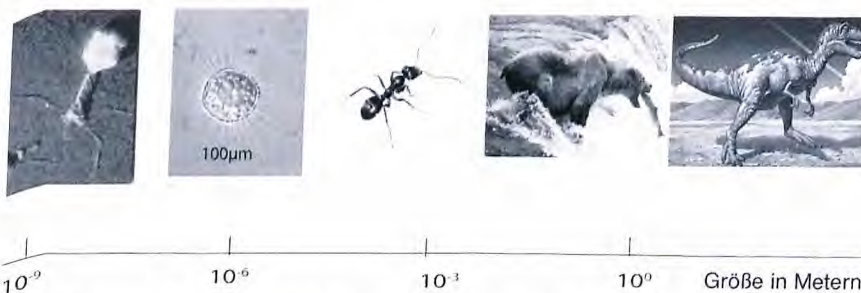


Abb. 1.3 Eine Auswahl der Vielfalt der Lebensformen, die sich über neun Größenordnungen der Längenskala erstreckt.

1.3.1

Die Erfindung der molekularen Elektronenspeicher

Die Natur hat in der frühen (präbiotisch genannten) Phase der Evolution eine Fülle smarterer Moleküle gefunden, um die chemischen Reaktionen zu kontrollieren und die makromolekularen Bausteine des Lebens unter kontrollierten Bedingungen zu formen. Wir betrachten als Beispiel die Entstehung der Zwischenspeicher für Elektronen, wie das in Abb. 1.4 gezeigte Cytochrom C. Dieses Protein entstand vor rund drei Milliarden Jahren (also schon rund 1,5 Milliarden Jahre nach der Entstehung der Erde). Viele biochemische Reaktionen wie die Spaltung des Sauerstoffes in der Atmungskette (d. h. während der oxydativen Phosphorylierung), sind mit einem Transfer von Elektronen zwischen den beteiligten Molekülen verknüpft. Freie Elektronen können in Wasser nur für ca. eine milliardstel Sekunde überleben und vereinen sich danach mit Wassermolekülen, unter Erzeugung lebensgefährlicher Radikale (Abb. 1.4a). Daher musste die Natur eine Methode fin-

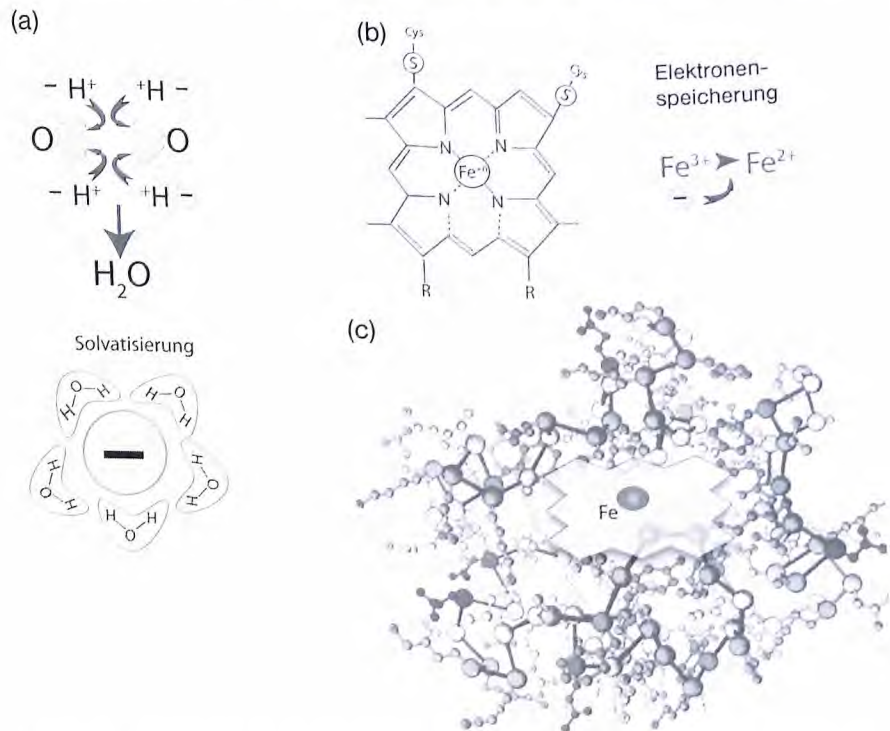


Abb. 1.4 Speicherung der bei der Spaltung des Sauerstoffs (O_2) entstehenden Elektronen auf Eisen-Ionen (a), die in das organische Molekül Porphyrin eingebunden sind (b). Dieser Komplex kann seinerseits in verschiedene Proteine eingebettet werden, um abgeschlossenen Räume zu schaffen, in denen

Reaktionen ungestört ablaufen können. Das Protein Cytochrom C dient dem Aufbau von Elektronen-Transferketten in den Membranen der Mitochondrien, in denen die biologisch nutzbare Energie in Form des Adenosin-triphosphats (ATP) geschaffen wird (c).

den, die Elektronen so zwischenzuspeichern, dass sie in kontrollierter Weise wieder auf andere Moleküle übertragen werden können. Wie jeder Chemiker weiß, ist ein optimaler Weg dazu die Bindung an Metallionen wie Eisen (nach der Reaktion $\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$) und die Bindung dieser Ionen an organische Moleküle (wie Porphyrine, Abb. 1.4b). Durch Einbetten der Metallion-Porphyrin-Komplexe in Proteine schaffte die Natur begrenzte Reaktionsräume, in denen die Prozesse kontrolliert ablaufen können (Abb. 1.4c).

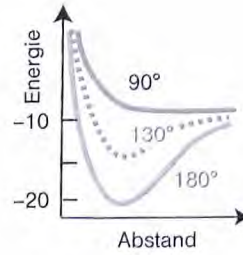
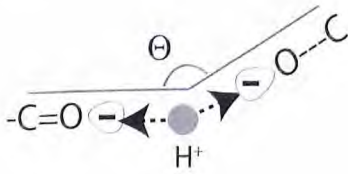
1.3.2

Selbstorganisation smarterer Moleküle durch formabhängige zwischenmolekulare Kräfte

Das wohl wichtigste Beispiel einer formabhängigen zwischenmolekularen Kraft ist die Wasserstoffbrücke (oder H-Brücke; Abb. 1.5). Diese bildet sich mit Atomen, wie Sauerstoff und Stickstoff, die eine hohe Affinität für Elektronen haben. Sie teilen sich das von einem Wasserstoffatom eingebrachte Elektron. Dieses oszilliert zwischen den beiden Atomen hin und her und sorgt für eine Attraktion zwischen den Molekülen. Diese Brücken spielen für die physikalischen Eigenschaften des Wassers eine ungeheuer wichtige Rolle. Sie sorgen z. B. dafür, dass Wasser bei 4 °C eine höhere Dichte hat als Eis und die Seen und Flüsse daher im Winter nicht bis auf den Grund gefrieren. Es ist kein anderer Stoff bekannt, der ähnliche Eigenschaften besitzt, die Vielfalt des Lebens in der jetzigen Form konnte nur in Wasser entstehen.

Der für die Selbstorganisation der Biomaterialien wichtigste Punkt ist, dass die Bindungsstärke maximal ist, wenn das Proton und die beiden beteiligten Bindungen ($\text{O}=\text{C}$ und $\text{O}-\text{C}$ im Fall der Abb. 1.5) auf einer Linie liegen. Die Richtungsabhängigkeit der Bindungsstärke sorgt dafür, dass sich Polypeptide richtig falten. Sie ist absolute Voraussetzung für die Spezifität der Basenpaarung in der DNA und damit für die hohe Zuverlässigkeit der Umsetzung der genetischen Information in Proteine stets gleicher Struktur. Zusammen mit Salzbrücken (Bindungen zwischen entgegengesetzt geladenen Aminosäuren) sorgt sie dafür, dass sich zwei Sorten von Proteinen unter Millionen anderen in der Zelle mit hoher Zuverlässigkeit erkennen, sodass nur sie zusammen reagieren können. Abbildung 1.5 c zeigt ein Enzym, das ein anderes Molekül spaltet, wobei es sich um den Abbau eines Proteins (S) aus der Nahrung durch ein Enzym (E) im Magen handeln könnte. Die Form der Bindungstasche des Enzyms ist so an die Form des zu spaltenden Moleküls angepasst, dass die Attraktion durch die Wasserstoffbrücken optimiert ist. Die Situation erinnert an die Passung des Schlüssels in das Schloss und man spricht daher auch von molekularen „Schloss und Schlüssel-“ Kräften. Die genaue Form der Bindungstasche ist durch die Art und die Anordnung der Aminosäuren in dem Enzym bestimmt, die im Gen festgelegt ist. Kleine Änderungen der Struktur des Enzyms, die durch Einbau einer einzigen falschen Aminosäure (Punkt-Mutation genannt) entstehen, können fatale Folgen für die Funktion unseres Organismus haben und sind oft die Ursache chronischer Erkrankungen.

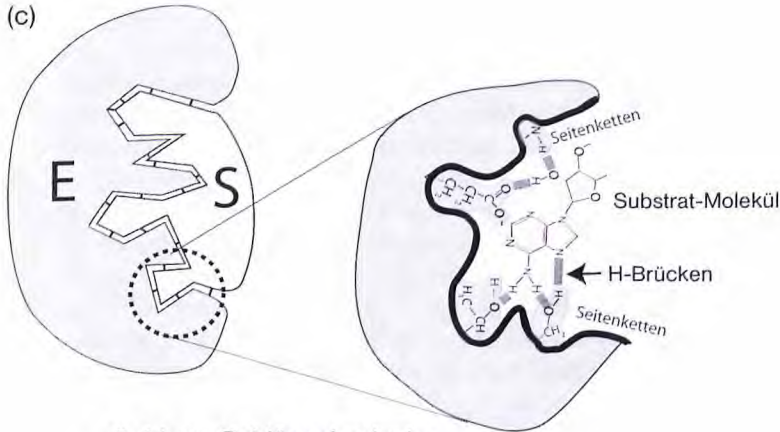
(a)



(b)



(c)



Schloss-Schlüssel-Prinzip

Abb. 1.5 (a) Wasserstoffbrücke: Prototyp einer formabhängigen zwischenmolekularen Kraft. Das Potenzial ist minimal für Winkel $\Theta \approx 180^\circ$ und nahezu Null, wenn die Bindungen senkrecht aufeinander stehen. (b) Stabilisierung der α -Helix-Struktur der Proteine und der DNA-Doppelhelix durch Optimierung der Wasserstoff-Brücken zwischen den Basen der Ribonukleinsäuren. (c) Passung eines kleinen Moleküls in die

Bindungstasche eines Enzyms. Die Formen der Bindungstasche und des Moleküls sind so aufeinander abgestimmt, dass die Anziehungskräfte durch die Wasserstoff-Brücken optimiert werden. Die Situation gleicht der Passung des Schlüssels zum Schloss, man spricht daher von molekularen Schloss-Schlüssel-Kräften. Der rechte Ausschnitt zeigt Details der zwischenmolekularen Bindung.

1.3.3

Der Muskel als Musterbeispiel der hierarchischen Struktur biologischer Materie

Hier betrachten wir die Fortbewegung der Lebewesen. Von eukaryontischen Zellen über Spermien bis zum Menschen dienen dazu molekulare Linearmotoren. Diese bestehen aus einem hebelartigen Motor (Myosin im Fall des Muskels) und einer Laufschiene (dem Aktinfilament, Abb. 1.6). Das Myosin ist selbst wieder ein modular aufgebautes Protein, das aus einem Funktionsteil (dem krafterzeugenden Arm) und einem der Assoziation mit anderen Bausteinen dienenden Stamm besteht (Abb. 1.6b). Die molekulare Struktur dieser Domäne bestimmt die Funktion der Motoren. Durch Assoziation der Stämme entstehen einige Mik-

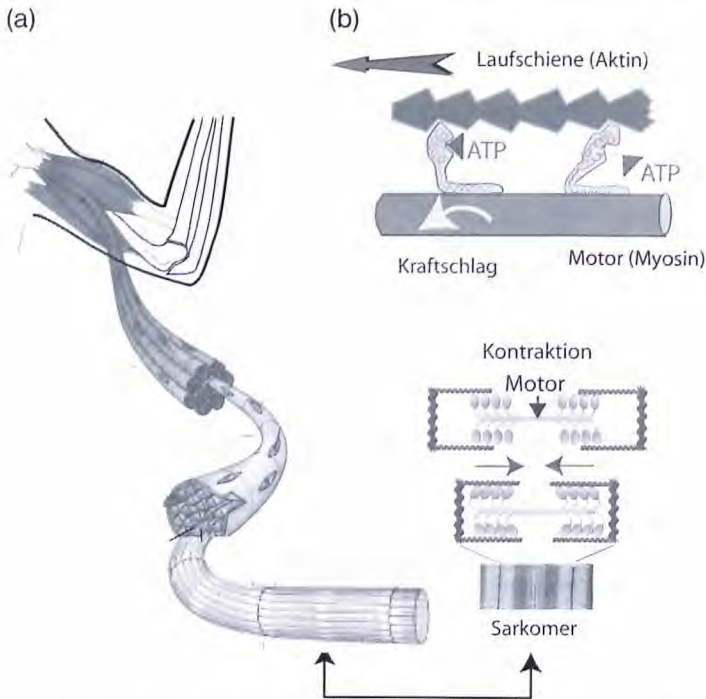


Abb. 1.6 (a) Hierarchischer Aufbau des Skelettmuskels aus molekularen Linearmotoren, bestehend aus dem Motormolekül Myosin und Aktinfilamenten als Laufschienen (b). Myosin assoziiert spontan zu bipolaren Bündeln, aus denen die krafterzeugenden Arme

herausragen. Die dicken Bündel des Myosins und die dünnen Aktinfilamente bilden die Sarkomere. Diese Elementarmotoren des Muskels lagern sich zu den Mikrofibrillen des Skelettmuskels zusammen.

rometer lange, bipolare Bündel. Diese assoziieren mit den Aktinfilamenten zu den regelmäßig aufgebauten *Sarkomeren*, die sich schließlich zu den Muskelfasern unserer Skelettmuskeln zusammenlagern. In den Zellen (wie den unsere Blutgefäße umschließenden glatten Muskelzellen) organisieren sich die beiden Komponenten zu weniger regelmäßig aufgebauten Mikromuskeln.

1.3.4

Biomineralisierung als Prototyp der Selbstorganisation biologischer Materie

Abbildung 1.7 zeigt die Bildung der äußeren Schale einer Meeresschnecke aus kristallinen Plättchen des Calcium-carbonats (CaCO_3). CaCO_3 bildet in übersättigter wässriger Lösung nadelförmige Kristalle, aus denen sich durch Sintern eine Art Keramik herstellen ließe. Da solche Materialien sehr brüchig sind, hat die Natur den Trick des schichtweisen Wachstums (Epitaxie genannt) erfunden, um die Bildung einer plättchenförmigen Modifikationen des CaCO_3 (auch als Aragonit bekannt) zu erzwingen. Dabei dienen Filme aus dem Polysaccharid Chi-

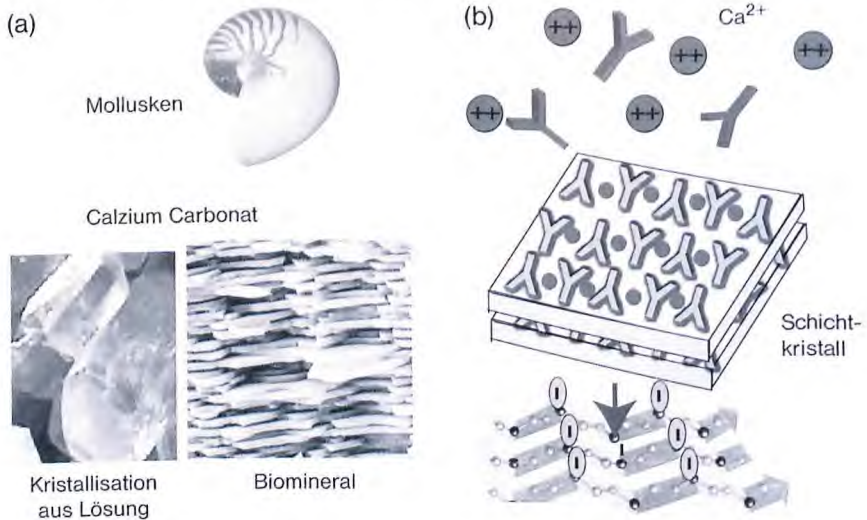


Abb. 1.7 Bildung von Schalen der Weichtiere (Mollusken) aus schichtartigen Anordnungen von Plättchen aus Calcium-carbonat CaCO_3 (Aragonit) (a). Während CaCO_3 aus wässriger Lösung zu langen Nadeln kristallisiert (links

unten), nutzt die Natur den Trick des epitaktischen Kristallwachstums auf Filmen aus Proteinen mit negativen Seitengruppen (b) [11].

tin und negativ geladenen Proteinen als zweidimensionales Templat. An dessen Oberfläche bildet sich ein Gitter aus negativen Aminosäuren aus, das CaCO_3 dazu bringt, plattenförmige Kristalle zu bilden. Es entsteht so ein schichtartig aufgebautes Keramik-Verbundmaterial mit außergewöhnlichen elastischen Eigenschaften. Obwohl es nur wenige Prozent an bio-organischem Material enthält, ist es einige 1000-mal resistenter gegen Bruch als technische Keramiken. Die Ausbreitung von mikroskopisch kleinen Rissen wird durch den organischen Bestandteil behindert. Es gibt derzeit viele Bemühungen, die Prozesse der Biomineralisierung technisch nachzuahmen.

1.3.5

Skalengesetze der Physik als Konstruktionsprinzip

Als Kind ist man von der Idee begeistert, dass auf dem Mond viel größere Menschen und Tiere leben könnten als auf der Erde. In der Schule lernt man dann, dass es an der Schwerkraft liegt, aber versteht nicht, warum. Tatsächlich ist dies ein sehr einfaches aber lehrreiches Beispiel dafür, dass die Grenzen des Wachstums nicht durch die Genetik, sondern durch Skalengesetze der Physik bestimmt sind. Dies hat uns schon Galileo Galilei³⁰⁾ am Beispiel der Grenzen des Größtenwachstums der Tiere gezeigt (Abb. 1.8).

³⁰⁾ Galileo Galilei (* 15. Februar 1564 in Pisa; 8. † Januar 1642 in Arcetri) war ein italienischer Mathematiker, Physiker und Astronom.

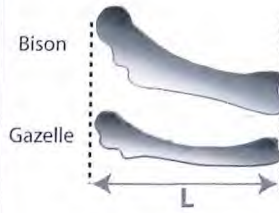


Abb. 1.8 (a) Galileo Galilei, (b) Skalengesetz und Grenzen des Größenwachstums der Wirbeltiere. Abgebildet sind die auf dieselbe Länge normierten Beinknochen des Wisents (~ 800 kg) und der Gazelle (80 kg). Das

Größenverhältnis ist $\lambda \sim 2$, während sich die Knochendicken wie 2:1 verhalten. Ein Teil der Stabstabilisierung muss daher auch durch Erhöhung der Knochendichte kompensiert worden sein.

Bei einer Vergrößerung der Dimension L eines Wirbeltieres um den Faktor λ nimmt das Gewicht mit der dritten Potenz, der Durchmesser der Knochen aber nur mit dem Quadrat des Faktors λ zu. Unter der Annahme, dass sich Knochen wie elastische Stäbe verhalten, wächst deren mechanische Stabilität etwa mit λ^2 . Der Knochendurchmesser müsste daher etwa mit $\lambda^{3/2}$ steigen, um die mechanische Stabilität des größeren Lebewesens zu gewährleisten.

Zum Beweis seiner These zeigte er, dass die auf dieselbe Länge normierte Dicke der Knochen der Gazellenbeine um mehr als einen Faktor zwei kleiner ist als die des Wisents. Ein Ausweg wäre gewesen, stabileres Knochenmaterial zu entwickeln, aber dazu war die Evolution schon zu weit fortgeschritten. Eine wichtige Rolle spielten die Skalengesetze der Hydrodynamik bei der Evolution der Mechanismen des Schwimmens beim Übergang von Einzellern zu Fischen, wie wir in Kapitel 21 und 22 über Bakterien sehen werden.

1.3.6

Die Natur als Konstrukteur

Die Skalengesetze haben die Evolution nicht nur behindert, sondern sie wurden von der Natur auch ausgenutzt, um erstaunliche Fähigkeiten der Tiere und Pflanzen zu entwickeln.

Wir mögen Fliegen nicht, aber wir beneiden sie um ihre Fähigkeit, die Wände hoch oder an der Decke entlang zu laufen. Noch beeindruckender ist diese Fähigkeit bei Eidechsen oder den mehreren 10 cm langen Geckos. Auch hier haben Sie sich sicherlich schon gefragt, wie die Tiere das machen und ob man dies nicht auch lernen könnte. Erstaunlicherweise wird die Haftung der Füße auf der Oberfläche durch unspezifische van der Waals³¹⁾-Kräfte vermittelt, die auch für die Ko-

31) Benannt nach Johannes Diderik van der Waals (* 23. November 1837 in Leiden;

† 8. März 1923 in Amsterdam), einem niederländischen Physiker.

häsionskräfte zwischen Molekülen verantwortlich sind. Um zu verstehen, wie die Natur es schafft, durch diese schwachen Kräfte relativ große Tiere festzuhalten, vergleichen wir die Fußsohlen verschiedener Tiere, wie Fliegen, Spinnen oder Geckos, mit unseren. Während letztere glatt sind, besitzen die der Insekten und Echsen viele kleine Borsten (sog. Setae). Diese bestehen aus Keratin, sind an der Spitze verbreitert und besitzen eine glatte Oberfläche (Abb. 1.9). Der Vergleich der verschiedenen Tiere zeigt: Je größer das Gewicht, umso dünner und dichter angeordnet sind die Füßchen. Es gilt folgendes empirisches Skalengesetz zwischen der Zahl der Borsten pro Fläche (der Borstendichte n) und der Masse (m) des Tieres [12]:

$$n = \text{konst } m^{2/3} \quad (1.1)$$

Das ist ein interessantes Ergebnis. Es besagt: Während die Fliege (mit 80 Milligramm Gewicht) mit 10^5 Borsten pro mm^2 auskommt, benötigen Geckos mit ihrem 1000-mal größeren Gewicht einige 10^7 Borsten pro mm^2 . Wie kann man das Skalengesetz verstehen?

Man kann das Skalengesetz (Gl 1.1) auf der Grundlage des berühmten Modells von Johnson, Kendall und Roberts über die Adhäsion von deformierbaren elastischen Stempeln auf Unterlagen verstehen. Die wichtigste Aussage dieser Theorie ist, dass die Haftkraft proportional zum Radius R der Stempel ist. Wenn wir also z. B. den Fuß in N Stempel mit dem Radius \sqrt{N} aufteilen, so erhöht sich offenbar die Haftkraft um den Faktor $N^{1/2}$, falls die Gesamtfläche erhalten bleibt.

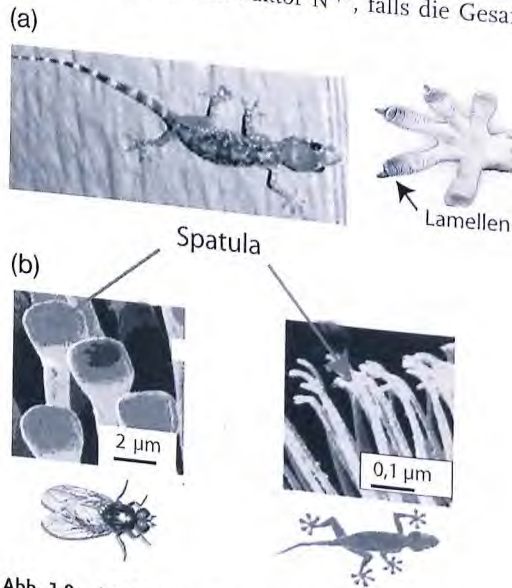


Abb. 1.9 (a) Gecko und Vergrößerung eines Geckofußes. Man beachte die auf der Innenseite der Füße parallel angeordneten Lamellen. Sie bestehen aus den im unteren Bild gezeigten Borsten (Setae) aus Keratin. Diese fächern an den Enden in bis zu hundert noch feinere Härchen mit ca. ein zehntausendstel

Millimeter Durchmesser (Spatula genannt) auf. (b) Vergleich der Setae der Fliege und des Geckos. Man beachte, dass die Enden der Spatulae in beiden Fällen etwas aufgeweitet sind und eine sehr glatte Oberfläche besitzen (modifiziert nach [12] mit Genehmigung der Autoren).

Um diese Aussage der Theorie zu verstehen, nehmen wir an, die Enden der zylinderförmigen Spetae seien Kugelkappen mit Radius R (d. h. R ist gleich dem Zylinderradius). Werden diese mit der Schwerkraft $F_s = mg$ auf die Unterlage gedrückt, so werden die Spitzen der Borsten abgeflacht und bilden eine Kontaktfläche mit dem Radius a . Nach dem berühmten Hertz-Modells der Deformation von Festkörperoberflächen durch solche Stempel ist der Radius der Kontaktfläche sehr schwach von der Kraft F abhängig. Es gilt:

$$a^3 \approx RE^{-1}F$$

wobei E der Young-Modul der Borsten ist. Wird die Schwerkraft durch die Adhäsion verstärkt, so erhöht sich die Kontaktfläche etwas. Vernachlässigen wir diesen Effekt, so ist der Gewinn an Adhäsionsenergie: $W_{ad} \approx -\pi a^2 \Gamma$, wobei Γ aufgrund der Kohäsionskräfte die spezifische Oberflächenenergie (in J/m^2) ist. Daraus folgt für die Entbindungskraft $F^* = \delta W_{ad} / \delta h$, wobei δh die durch die Kraft erzwungene Auslenkung der Kugel in Normalenrichtung darstellt. Nun besteht die bekannte geometrische Beziehung zwischen δd und der Kontaktfläche (πa^2) der Kugelkappe: $\delta h \approx a^2 / 2R$ und daher wird die Entbindungskraft:

$$F^* = \delta W_{ad} / \delta h = \pi \Gamma R$$

Dieses Ergebnis stimmt bis auf den Faktor $3/2$ mit der strengen Johnson-Kendall-Roberts-Theorie überein. Man kann mit einiger Mühe auch zeigen, dass die Entbindungskraft für Borsten mit sphärischen Kappen mit $m^{2/3}$ zunimmt, in guter Übereinstimmung mit der Beobachtung (Gl. 1.1). Der interessierte Leser sei auf die Originalarbeit verwiesen [12].

Von generellem Interesse ist der Befund, dass die durch äußere Kräfte vermittelte Kontaktwechselwirkung zwischen festen Körpern wesentlich durch deren elastische Deformation bestimmt wird. Dieser Effekt bestimmt die Haftreibung zwischen festen Körpern (z. B. zwischen den Autoreifen und der Straße) und spielt so eine wichtige Rolle in unserem täglichen Leben und in der Technik. Wie wir in Kapitel 13 sehen werden, bestimmt dieser Zusammenhang auch die Haftung zwischen Zellen.

Natürlich gibt es derzeit viele Bemühungen, den Trick der Geckos für technische Zwecke auszunutzen, beispielsweise zum Bau von Robotern, welche senkrecht die Wände hoch fahren können. Ein Traum ist natürlich, Schuhe für Menschen zu bauen, die uns die Fähigkeit der Geckos verleihen. Nach der obigen Formel müsste die Zahl der Setae etwa nochmals um einen Faktor 1000 dichter werden als beim Gecko, was kaum möglich erscheint. Ein Hoffnungsschimmer ist, dass die Geckos bei jedem Schritt mit weniger als einem Prozent der Füßchen die Oberfläche kontaktieren müssen, um sich festzuhalten.

Man hofft auch, durch Veränderung der Materialeigenschaften der Füßchen die Situation zu verbessern.

1.4

Literatur

- 1 Fratzl, F. (2002) Von Knochen, Holz und Zähnen. *Physik Journal*, **1**, 49–55.
- 2 Fromherz, P. (2001) Interfacing von Nervenzellen und Halbleiterchips. *Physikalische Blätter*, **57**, 43–48.
- 3 Sackmann, E. (1996) Supported membranes: scientific and practical applications. *Science*, **271**, 43–48.
- 4 Kulesa, P. und Fraser, S. (2002) Cell dynamics during somite boundary formation revealed by time-lapse analysis. *Science*, **298**, 991–995.
- 5 Van Hemmen, L. (2001): Die Karte im Kopf: Wie stellt das Gehirn seine Umwelt dar? *Physik Journal*, **57**, 37–42.
- 6 Schrödinger, E. (1999) Was ist Leben, Piper Verlag, München, Zürich.
- 7 von Helmholtz, H. (1983) Über die Erhaltung der Kraft, Physik Verlag, Weinheim.
- 8 Hänggi, P. und Marchesoni, F. (2005): 100 years of Brownian motion. *Chaos*, **15**, 026101.
- 9 Mach, E. (1933) Die Mechanik, Brockhaus Verlag, Wiesbaden; Nachdruck Wissenschaftliche Buchgesellschaft Darmstadt.
- 10 Mayr, E. (1984) Die Entwicklung der biologischen Gedankenwelt, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, NewYork.
- 11 Addadi, L. *et al.* (2005) Mollusk shell formation: a source of new concepts for understanding biomineralization processes. *Chemistry - A European Journal*, **11**, 980–987.
- 12 Arzt, E., Gorb, S., Spolenak, R. (2003): From micro to nano contacts in biological attachment devices. *PNAS*, **100**, 10603–10606.

Einführung in die Zellbiophysik



2 Die Zelle

2.1

Die Zelle als dicht gepacktes, kolloidales System aus funktionellen Untereinheiten

Die Zelle ist die kleinste lebensfähige Einheit. Sie ist in der Lage, Nahrung aufzunehmen, sich durch Teilung zu vermehren oder sie kann mit anderen Zellen größere Organismen bilden. Ein besonders einfaches Beispiel ist die Bildung von Schleimpilzen durch die Amöbe *Dictyostelium discoideum*. Diese lebt als Einzeller und teilt sich, wenn Nahrungsüberschuss (in Form von Bakterien) vorliegt. Bei Nahrungsmangel vereinen sich die Amöben durch Zell-Zell-Adhäsion und bilden einige Millimeter hohe Pilze [1]. Dabei kommt eine entscheidende Fähigkeit der Zellen zum Tragen: die *Differenzierung* (vgl. Abschnitt 2.3). Einige der Zellen „opfern“ sich und bilden die Hüllen des Stiels und des Kopfes der Pilze, während die restlichen als teilungsfähige Sporenzellen im Kopf überleben, bis die Lebensbedingungen wieder besser werden. Dann platzen die Köpfe und die freigesetzten Zellen beginnen einen neuen Lebenszyklus. Bei der Entwicklung vielzelliger Lebewesen aus der befruchteten Eizelle findet der Prozess der Differenzierung auf viel komplexere Weise statt. Durch Teilung neu entstehende Zellen geben alte Fähigkeiten auf (z. B. die der Vermehrung), um spezifische Aufgaben zu übernehmen. So entstehen erregbare Nervenzellen, kontraktile Muskelzellen oder Spermien mit einer Geißel. Dazu synthetisiert die Zelle bevorzugt spezifische Proteine. Im Fall der Nervenzellen sind dies beispielsweise zahlreiche elektrisch schaltbare Ionenkanäle (s. a. Kapitel 14 bis 16). Die Fähigkeit der Differenzierung ist im genetischen Apparat festgelegt, dessen Informationsgehalt (das Genom) bei der Differenzierung erhalten bleibt. Aus diesem Grund können sich Eizellen, deren Kern durch den einer differenzierten Zelle ersetzt wird, zu normalen Lebewesen entwickeln. Wie die genetische Information durch Genexpression in spezifische Proteinmuster umgesetzt wird, ist derzeit eine besonders aktiv bearbeitete Fragestellung. Um mehr über dieses Thema zu lernen, müssen Bücher der Zellbiologie herangezogen werden [1–3].

Grundsätzlich sind zwei Klassen von Zellen zu unterscheiden: Prokaryonten und Eukaryonten.

Prokaryontische Zellen: Diese einzelligen Mikroorganismen besitzen keinen von einer Membran umschlossenen Kern und nur wenige intrazellulären Kom-

partimente. Zu dieser Klasse gehören die Bakterien und die Archaeobakterien. Sie benötigen zum Überleben häufig eine Zellwand. Die einzigen Prokaryonten, die ohne eine solche auskommen, sind die *Mycoplasmen*. Man unterscheidet zwei Gruppen von Bakterien, die sich in der Struktur der doppelwandigen Zellhülle unterscheiden [4]. Beide besitzen eine innere Membran aus einer Lipid-Protein-Doppelschicht, unterscheiden sich aber in der äußeren Hülle:

- Gramnegative¹⁾ Bakterien besitzen eine Lipidmembran als äußere Schale und werden durch ein Polymernetzwerk aus *Peptidoglykanen* (einem Hetero-Polymer aus Aminosäuren und Zuckermolekülen) mechanisch stabilisiert. Dieses ist zwischen die weichen Membranen eingebettet. Zu dieser Gruppe gehören *Escherichia coli* (*E. coli*) und die Thyphus auslösenden Salmonellen.
- Grampositive Spezies besitzen eine äußere Wand aus Peptidoglykanen, die in mehreren Schichten angeordnet sind. Wichtige Vertreter sind die Streptokokken, die Wundinfektion oder Scharlach hervorrufen.

Eukaryontische Zellen: Darunter subsummiert man Zellen mit einem durch eine Membran abgeschlossenen Zellkern und einer Vielzahl intrazellulärer Organellen. Zu dieser Klasse gehören Zellen aller höher entwickelten Pflanzen und Tiere, aber auch die zur Photosynthese fähigen Algen und Pilze.

Abbildung 2.2 zeigt Schemata einer tierischen und pflanzlichen eukaryontischen Zelle, in der nur die für uns wichtigsten Elemente dieses Wunderwerkes der Schöpfung dargestellt sind. Das Bild soll verdeutlichen, dass es sich um eine modular aufgebaute Maschine aus zahlreichen, spezifische Funktionen erfüllenden Organellen (im Folgenden auch Kompartimenten genannt) handelt. Es soll aber auch andeuten, dass man das Zytoplasma als extrem dicht gepackte kolloidale Suspension ansehen kann. Jedes Kompartiment sowie die ganze Zelle sind durch ca. 5 nm dicke Schalen, die Biomembranen, abgeschlossen. Diese erfüllen gleichzeitig eine Vielzahl von Aufgaben, wie wir im Kapitel über Membranen (Kapitel 9 und 10) sehen werden.

Auf den ersten Blick ist der komplexe und scheinbar chaotische Aufbau der Zellen fast deprimierend. Man sollte sich aber nicht einschüchtern lassen, denn tatsächlich ist die Situation durchschaubarer, als man denkt. Zwar sind Zellen aus einigen tausend unterschiedlichen Molekülen aufgebaut, aber die meisten derselben lassen sich vier Klassen organischer Substanzen zuordnen (Zucker, Aminosäuren, Lipide und stickstoffhaltige Basen). Hinzu kommt Phosphat als wesentlicher anorganischer Bestandteil. Durch Kombination dieser Bausteine (wie der Aufbau der DNA und RNA aus Zucker, Phosphat und Basen) lässt sich allerdings eine schier unendliche Vielfalt makromolekularer Bausteine aufbauen. Tabelle 2.1 zeigt eine Zusammenstellung der wichtigsten Stoffklassen der Zelle.

1) Benannt nach Hans Christian Joachim Gram (* 13. September 1853 in Kopenhagen; † 15. November 1938), einem dänischen Bakteriologen. Bakterien mit einer äußeren

Wand aus Peptidoglykanen werden durch Gramfärbung blau gefärbt, während solche mit Lipidmembranen nicht angefärbt werden (also negativ reagieren).

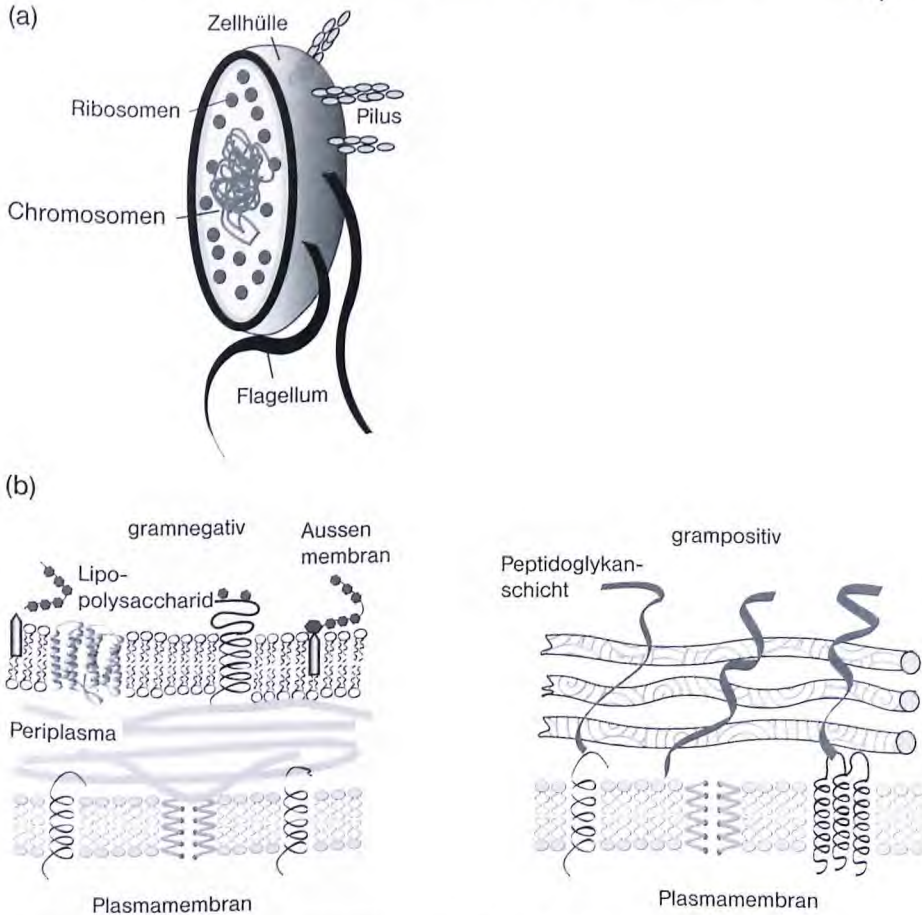


Abb. 2.1 (a) Architektur einer prokaryotischen Zelle mit Zellwand. (b) Links: Querschnitt durch die Hülle gramnegativer Bakterien. Sie besteht aus der Plasmamembran und der äußeren Membran, während der Raum dazwischen (oft periplasmatischer Raum genannt) mit Peptidoglykanen ausgefüllt ist. Diese verleihen den Zellen ihre

mechanische Stabilität. Rechts: Hülle der grampositiven Spezies, deren äußere Schale nur aus einem Netzwerk aus Peptidoglykanen besteht. Diese bestehen aus linearen Ketten von Polyzuckern, die durch Peptide verknüpft sind, und ähneln den Zellwänden der Pflanzenzellen (s. [4]).

Ein zweites vereinfachendes Prinzip ist die Lokalisierung einzelner Funktionen in den Organellen und deren Membranen. Die Organellen sind auch nicht regellos verteilt, sondern sie sind vektoriell angeordnet. Abbildung 2.3 zeigt dies am Beispiel eines (mittels Elektronenmikroskopie-Dünnschichttechnik hergestellten) Schnitts durch eine Zelle des Pankreas (Bauchspeicheldrüse), das darauf spezialisiert ist, schnell das Hormon Insulin zu produzieren.

Das Zytoplasma erscheint als eine Art dichtes, mit großen Membransäcken und kleinen Vesikeln gefülltes, kolloidales System. Besonders zu beachten ist jedoch die

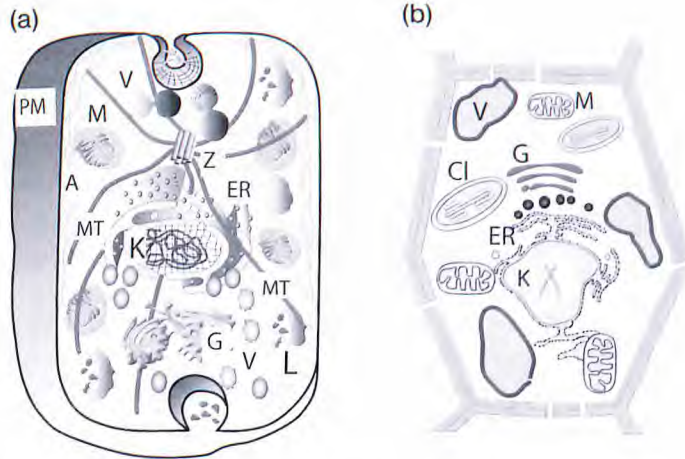


Abb. 2.2 Eukaryontische Zellen (a Epithelzelle, b Pflanzenzelle) als modular aufgebaute Maschine aus funktionellen Organellen (Kompartimenten). Die wichtigsten Kompartimente sind: der Kern (K), das genetische Informationszentrum. Das Endoplasmatische Retikulum (ER) mit assoziierten Ribosomen, an dem fast alle molekularen Bausteine (Proteine, Lipide) synthetisiert werden. Die Mitochondrien (M), die als Kraftwerke der Zellen fungieren, da in ihnen die biochemische „Energieeinheit“ ATP produziert wird. Die Lysosomen (L), die für die Verdauung von Nährstoffen und den Abbau von Abfall oder eingedrungenen Viren sorgen. Der Golgi-Apparat (G), der eine Art Zwischenstation darstellt, an dem im ER synthetisierten Moleküle (z. B. Insulin) für ihre biologische

Aufgaben konditioniert werden. Die Plasmamembran, die als selektives Filter zwischen dem zytoplasmatischen Raum und der oft lebensfeindlichen Umgebung fungiert, aber auch der Kommunikation mit anderen Zellen dient. Mit (V) wird eine ganze Palette von Vesikeln bezeichnet, welche für den Materialtransport zwischen den Kompartimenten sowie zwischen diesen und der Plasmamembran sorgen. Die Organellen sind in ein weiches Netzwerk aus Proteinfilamenten, das Zytoskelett, eingebettet. Zur Vereinfachung ist von diesem nur im linken Bild das Zentrosom (Z) mit einigen Mikrotubuli eingezeichnet. Die Pflanzenzelle enthält zudem noch Chloroplasten (Cl), in denen die Primärprozesse der Photosynthese ablaufen, und die großen Vakuolen (V).

polare Anordnung der Kompartimente. Das ER ist vor allem in kernnahen Bereichen konzentriert, während der Golgi-Apparat mehr im Außenraum zu finden ist. Die beiden Apparate stehen über eine Ansammlung von Transport-Vesikeln miteinander in Verbindung. Auch im Raum zwischen Golgi und Plasmamembran residieren viele Vesikel, welche den Materialtransport zwischen dem extrazellulären Raum und dem Zytoplasma vermitteln. Wir werden in Kapitel 9 sehen, dass der polare Aufbau ständig durch einen schnellen bidirektionalen Materialtransport zwischen der Plasmamembran und dem ER aufrechterhalten werden muss.

2) Benannt nach Camillo Golgi (* 7. Juli 1843 oder 1844 in Corteno Golgi, Brescia, Italien; † 21. Januar 1926 in Pavia), einem italieni-

sehen Mediziner, Physiologen und Nobelpreisträger.

Tabelle 2.1 Die wesentlichen Klassen von Substanzen und ihr Anteil am Trockengewicht der Zelle. In natürlicher Umgebung bestehen die eukaryontischen Zellen zu 70 % aus Wasser, haben ein Gewicht von ca. 10^{-12} g und einen typischen Radius von ca. $10 \mu\text{m}$. Bakterien haben ein Gewicht von 10^{-14} g, einen Radius von $1 \mu\text{m}$ und bestehen zu 60–70 % aus Wasser

Moleküle	Anteil am Trockengewicht (in %)	
	Menschliche Zelle	Prokaryonten (E. coli)
DNA	1	3
RNA	4	20
Lipide	17	7
Polysaccharide	7	7
Polypeptide (Proteine)	60	50
Rest	11	13

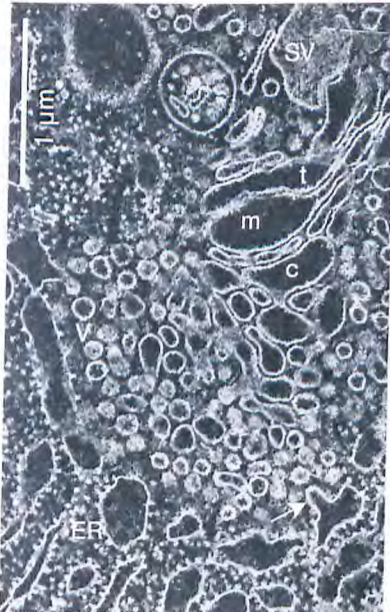


Abb. 2.3 Die elektronenmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnitts durch eine Zelle gibt einen Einblick in die dichte Packung der Organellen (hier des Pankreas, modifiziert nach [3]). Einen Großteil des Raumes nimmt das raue ER ein, auf dessen Membran die Ribosomen (schwarze Punkte) andocken. Man erkennt auch an der mit Pfeil bezeichneten Stelle das aus dem rauhen ER knospende glatte ER, das keine Ribosomen trägt. Die drei Membransäcke des Golgi-Apparats werden aufgrund ihrer etwas unterschiedlichen Funktion in *cis*-, *medial*- und *trans*-Fraktion eingeteilt (c, m, t). ER und Golgi sind durch eine Phalanx von Vesikeln getrennt, welche den Materialtransport zwischen den beiden Systemen bewerkstelligen. Am oberen Rand erkennt man die etwas größeren Vesikel, welche den Materialtransport in den Außenraum (wie das sekretorische Vesikel, SV) oder den Materialimport besorgen. Sie liegen in der Nähe der Plasmamembran.

2.2

Die funktionellen Kompartimente (Organellen) der Zelle

Im Folgenden sollen die Funktionen der zellulären Module grob umrissen werden, sodass man den folgenden Text verstehen kann, ohne gleich Bücher der Zellbiologie studieren zu müssen.

In Kapitel 37 werden wir dann einige Methoden zur Beobachtung der Mikrostruktur der Zellen darstellen, die zu unserem heutigen Bild der Zelle als ein System funktioneller Module geführt hat.

Der *Zellkern* ist das Informationszentrum der Zelle. In ihm ist die genetische Information in Form der DNA-Doppelhelix gespeichert. Beim Menschen besteht diese aus rund 3,2 Milliarden Basenpaaren mit einer Länge von ca. 2 m, die auf 46 Chromosomen aufgeteilt sind. Die DNA-Doppelhelix ist stückweise um den Proteinkomplex Histon gewickelt. Diese Komplexe, (*Nukleosomen* genannt) sind wie Perlen durch flexible Stücke aus DNA verbunden. Die ca. 10 nm dicken Filamente bilden in Gegenwart von Magnesium-Ionen superhelikale Fäden von ca. 30 nm Dicke (Abb. 2.4b und Kapitel 36). Je nach dem Stand der Zellen im Zellzyklus sind diese dicken Fäden aufgequollen und bilden verschlaufte Anordnungen (das *Chromatin* der Abb. 2.4a) oder sie kondensieren zu den uns vertrauten, in Abb. 2.4c gezeigten Formen. Diese kondensierte Organisationsform kann man nur zu Beginn der eigentlichen Zellteilung im Mikroskop als fadenartige Gebilde beobachten. Man nannte den Prozess daher *Mitose*, nach dem griechischen Wort *μῖτος*, der Faden.

Der Kern enthält außerdem ein Unterorganell, den *Nukleolus* (auch Zellkörperchen genannt). In diesem werden vor allem die mit Ribosomen assoziierte RNA (rRNA) synthetisiert und die Ribosomen zusammengebaut. Die Hülle des Kerns besteht aus einer doppelwandigen Membran mit zahlreichen Poren, die durch ringartige Anordnungen von Proteinen stabilisiert werden. Über diese Kernporen von ca 50 nm Durchmesser erfolgt der Transport von DNA, RNA und den Ribosomen. Die äußere Membran des Kerns geht stellenweise direkt in das raue ER über. Um den Kern mechanisch zu stabilisieren, ist die Innenwand mit einem

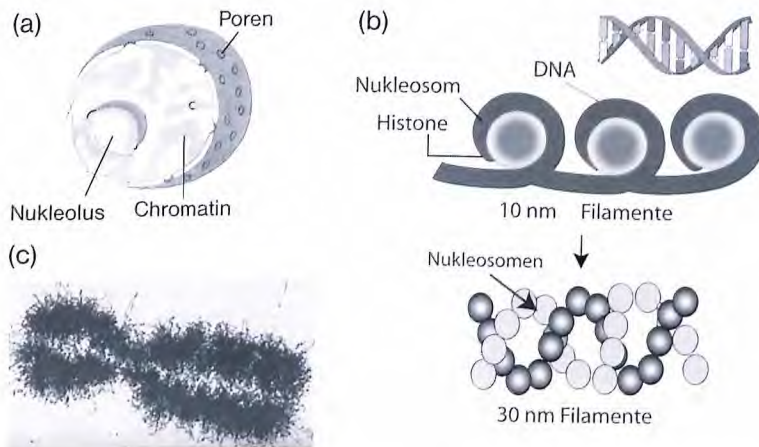


Abb. 2.4 (a) Aufbau des Zellkerns während der Interphase des Zellzyklus, in dem sich die Chromosomen im gequollenen Zustand befinden. Man nennt diesen Zustand auch Chromatin, da er nur durch Anfärben sichtbar gemacht werden kann. (b) Die DNS ist stückweise um Proteinkomplexe aus Histonen gewickelt. Die DNA-Histon-Komplexe heißen Nukleosomen und formen ca. 10 nm dicke

Fäden, die in Gegenwart zweifach positiv geladener Ionen eine superhelikale Form mit 30 nm Durchmesser annehmen. Diese kondensieren zu Beginn der Zellteilung des Zellzyklus zu den Chromosomen (c). (c) Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Chromosoms. Die bürstenartigen Auswüchse werden in Kapitel 36 genauer erklärt.

feinmaschigen Netzwerk aus dem Proteinfilament Lamin ausgekleidet. Dadurch ist der Kern plastisch verformbar.

Mitochondrien sind die Kraftwerke der Zellen. Eine Zelle enthält typischerweise rund 1000 dieser 1–2 µm großen Kompartimente. Mitochondrien besitzen eine innere und äußere Membran, welche den Innenraum zweiteilen in einen Zwischenraum und in das Lumen. Die Fläche der inneren Membran ist sehr groß, da sie Sitz der Elektronentransportkette ist (s. Anhang zu Kapitel 30), an der Nahrung unter Spaltung von Sauerstoff in nutzbare Energie, das Adenosin-triphosphat (ATP), umgewandelt wird. Erstaunlicherweise enthalten Mitochondrien (ähnlich wie die Chloroplasten der Pflanzen) auch DNA, sind also zur genetisch gesteuerten Biosynthese und zur Teilung fähig. Aus diesem Grund glaubt man auch, dass sie Urformen von Zellen sind, die sich einst als Parasiten in die Urzelle einnisteten. Die Organellen sind sehr variabel und können sehr lange Formen annehmen oder sich teilen.

Das **Endoplasmatische Retikulum (ER)** ist der zentrale Ort der Biosynthese, an dem ein Großteil der Moleküle (Proteine und Lipide) synthetisiert werden. Es besteht aus einer riesigen geschlossenen Membran, die aus lappenartigen Bereichen besteht, aus denen verzweigte schlauchartige Gebilde hervorquellen (Abb. 2.5). So entsteht ein geschlossener, vom Zytoplasma abgetrennter Raum (das Lumen). Das ER beansprucht häufig mehr als die Hälfte der in der Zelle verfügbaren Membranen. Der Großteil des ER (*raues ER* genannt) ist mit den eigentlichen Proteinsyntheseapparaten, den *Ribosomen*, bedeckt. Es bildet die lappenartige Fraktion des ER. Das verschlungene Röhrensystem trägt keine Ribosomen und bildet die Fraktion des glatten ER.

In der rauen ER-Fraktion werden vorwiegend zwei Arten von Proteinen synthetisiert: integrale Membranproteine sowie Proteine (wie Insulin), die in das Gewebe abgegeben werden. Die aus den Ribosomen herauswachsende Polypeptidkette der integralen Membranproteine bleibt in der Membran verankert, während die löslichen Proteine durch meist spezifische Transportproteine durch die Membran in das Lumen des ER geschleust werden (Kapitel 9). Proteine, die im Zytoplasma verbleiben (wie Komponenten des Zytoskeletts) werden in freien Ribosomen des Zytoplasmas hergestellt. Das glatte ER dient vorwiegend der Synthese von Lipiden. Es trägt aber auch Enzyme, die für die Entgiftung des Körpers sorgen (z. B. beim Abbau von Alkohol). Besonders wichtig ist der Enzymkomplex aus Cytochrom P450 und Cytochrom P450-Reduktase, der wasserunlösliche (lipophile) Schadstoffe (Pflanzenschutzmittel) in wasserlösliche (hydrophile) umwandelt, z. B. durch Ankoppeln von OH-Gruppen. Nur hydrophile Moleküle können über den Harn wieder ausgeschieden werden, während die lipophilen sehr lange im Körper verbleiben können.

Der **Golgi-Apparat** ist eine Art Zwischenstation und Sortiermaschine, an dem viele der im ER synthetisierten Proteine oder Lipide für ihre Spezialaufgaben konditioniert und weitergereicht werden (vgl. [1, 3] und Kapitel 9). Man spricht dabei von posttranskriptioneller Modifikation. Der Golgi-Apparat besteht aus stapelförmig angeordneten, kollabierten Membranschalen, die oft durch Poren durchbrochen sind, aber einen gegen das *Zytosol* abgeschlossenen Raum (wieder

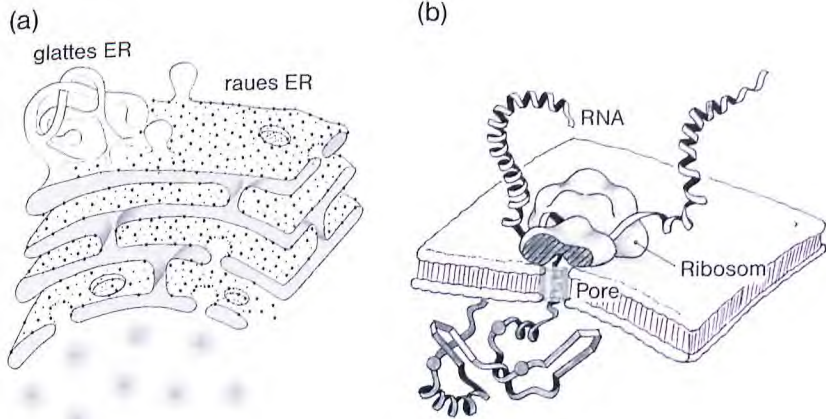


Abb. 2.5 (a) Membransystem des Endoplasmatischen Retikulums einer Leberzelle. Es besteht aus einer mit Ribosomen bespiketen Fraktion (dem rauhen ER) und einer von Ribosomen freien Fraktion (dem glatten ER). Man beachte die unterschiedliche Topologie der beiden miteinander verbundenen Membransysteme. Trotzdem bilden die beiden Fraktionen wahrscheinlich ein geschlossenes System, das einen einzigen luminalen Raum

umschließt. Dadurch können die in verschiedenen Bereichen des ER synthetisierten Lipide und Membranproteine durch Diffusion in der Ebene der Membran zur richtigen Mischung zusammenfinden. (b) Auf der Membran des ER adsorbierte Ribosomen bei der Synthese eines neuen Proteins, das während der Synthese durch Poren aktiv in den Innenraum (Lumen) des ER transportiert wird (s. Kapitel 9).

Lumen genannt) bilden. Tatsächlich besteht der Golgi-Apparat aus drei Untersystemen mit unterschiedlichen Aufgaben: der *cis*-, der medialen- und der *trans*-Fraktion (Abb. 2.6). Frisch synthetisierte Proteine und Lipide werden über Vesikel vom ER zuerst in die *cis*-Fraktion transferiert, von wo sie an die mediale und danach an die *trans*-Fraktion (wiederum über Vesikel) weitergereicht werden. Von hier aus werden die Substanzen an das Gewebe abgegeben. Ein lebenswichtiges Beispiel ist die Synthese des physiologisch aktiven Insulins. Dieses wird im ER als unlösliches Pro-Insulin synthetisiert und im Golgi-Apparat in die wasserlösliche wirksame Form umgewandelt. Umgekehrt kommen importierte Substanzen zuerst in der *trans*-Fraktion an. Eine andere zentrale Funktion der Golgi-Fraktionen ist die Kopplung von Zuckermolekülen an Proteine und Lipide (s. Kapitel 9).



Abb. 2.6 Schematischer Aufbau des Golgi-Apparats aus drei Untersystemen, der *cis*-, der medialen und der *trans*-Fraktion. Die *cis*-Fraktion liegt dem Zellkern am nächsten (vgl. Abb. 2.2).

In jeder Fraktion arbeiten spezifische Enzyme, sodass eine Art "biochemisches Fließband" entsteht.

Lysosomen sorgen für den Abbau einer Vielzahl von Produkten oder submikroskopischer Partikel. Zu diesem Zweck wird ihr Innenraum auf saurem Niveau (pH 4,8–6,1) gehalten und ist mit aggressiven Enzymen (wie Proteasen) gefüllt, die aus dem ER eingeschleust werden und nur im sauren Medium aktiv sind. Sie dienen dem Abbau von Nahrung, die von den Zellen importiert wird, oder von schädlichen Fremdkörpern, wie Bakterien oder anderen pathogenen Körpern. Auch der Abbau von verbrauchten intrazellulären Kompartimenten, wie Mitochondrien, gehört zu ihren Aufgaben. In Kapitel 9 werden wir die physikalischen Grundlagen des Imports und Exports von Materialien durch Vesikel ausführlich diskutieren.

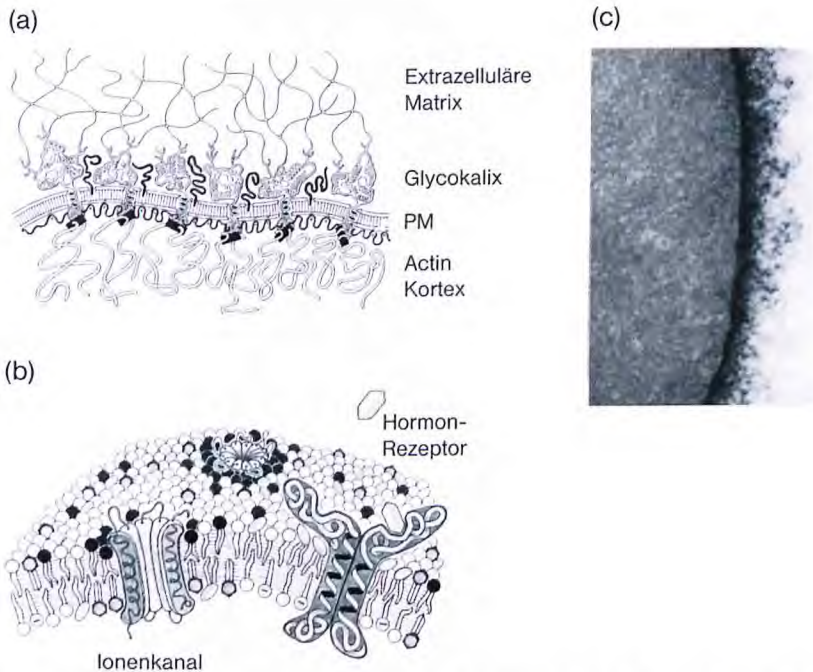


Abb. 2.7 (a) Mikro-Architektur der Zellhüllen. Das Schema unterstreicht den verbundartigen Aufbau aus der Lipid-Protein-Doppelschicht (Plasmamembran genannt, PM), dem an dessen Innenseite gekoppelten Netzwerk aus Proteinfilamenten (dem Aktin-Kortex) und der die Außenseite bedeckenden Glykokalix. Gewebezellen koppeln über die Glykokalix an das Netzwerk der extrazellulären Matrix (EM) an. Details werden in den Kapiteln Membranen (Kapitel 9) und Zytoskelett (Kapitel 18) diskutiert. Man beachte, dass die Zeichnung nicht maßstabsgetreu ist. Die Filamente des Aktinkortexes sind mit 8 nm

fast zweimal so dick wie die Membran (PM). (b) Feinstruktur der Plasmamembran aus Lipiden und den die Membran durchspannenden funktionellen Proteinen (Bilder gezeichnet von Walter Pfeiffer). (c) Elektronenmikroskopische Aufnahme der Glykokalix einer Zelle (eines Lymphozyten), mittels Dünnschicht-Technik präpariert. Bei den weit in den extrazellulären Raum ragenden Filamenten handelt es sich teilweise um Makromoleküle des Gewebes, wie Polysaccharide oder Kopolymere aus Polysacchariden und Polypeptiden (die Proteoglykane genannt werden, s. Kapitel 23).

Die **Zellhülle** ist eine aus drei Schichten aufgebaute Schale (Abb. 2.7a). Das Zentrum bildet die Doppelschicht aus stecknadelförmigen Lipiden, in die zahlreiche Proteine (sog. Membranproteine) mit spezifischen Funktionen (wie Ionen-transport, Hormon-Verstärkung oder Abbau von Giften) eingebaut sind. An ihnen läuft aber auch ein Großteil der elementaren biochemischen Reaktionen der Zelle (einschließlich der Biosynthese der Proteine und Lipide) ab, wie wir in Kapitel 9 ausführlicher diskutieren werden. Die im Folgenden Plasmamembran genannte mittlere Schale bildet ein selektives Filter zwischen dem zytoplasmatischen Raum und der oft feindlichen Umwelt. Deren Außenseite ist mit einem einige 10 nm dicken Polymerfilm, der *Glykokalyx*, bedeckt. Sie wird vorwiegend von den aus der Lipidschicht ragenden Köpfen der Membranproteine gebildet, welche für die Kommunikation zwischen den Zellen sorgen oder als Rezeptoren für Hormone fungieren. Häufig ist die Glykokalyx direkt an die Polymernetzwerke des Gewebes (die oft extrazelluläre Matrix oder abgekürzt EM genannt werden) angedockt. An die Innenseite der Plasmamembran ist ein dünnes (ca. 500 nm dickes) Netzwerk aus Proteinfilamenten angekoppelt, welches den Membranen ihre außergewöhnliche Kombination von Flexibilität und mechanischer Stabilität verleiht. Die molekulare Architektur und Physik dieses komplexen Netzwerkes wird ausführlich in Kapitel 11 behandelt.

2.3

Wie neue Zellen entstehen

Eine immer noch geheimnisvolle Eigenschaft der Zellen ist ihre Fähigkeit zur Differenzierung im Frühstadium der embryonalen Entwicklung. Ein großer Teil der durch Teilung neu entstehenden Zellen nimmt spezifische Eigenschaften an, wie etwa die einer Muskelzelle. Obwohl alle Töchter denselben Satz von Genen mitbekommen, behält ein Teil dieser spezialisierten Zellen jedoch die Fähigkeit zur ständigen Teilung. Man nennt diese Fraktion mesenchymale Zellen oder Stammzellen (siehe Glossar). Diese Abkömmlinge müssen über viele Teilungen hinweg wissen, dass ihre Ahnen sich für einen bestimmten Lebensweg entschieden haben. Ein Beispiel, das wir mehrfach diskutieren werden, sind die Endothelzellen, welche die Innenwände der Blutgefäße auskleiden (s. Kapitel 28 und 29). Entfernt man aus einer geschlossenen Schicht solcher Zellen einige Exemplare, so wird die Lücke innerhalb einiger Stunden durch neue Zellen ersetzt. Diese entstehen durch Teilung der noch vorhandenen Zellen (die zu mesenchymalen Zellen werden), ein *Proliferation* genannter Prozess. Auch bei der Wundheilung oder bei der Entstehung neuer Blutgefäße entstehen neue Endothelzellen durch Proliferation. Das Wachstum wird durch spezifische Proteine (sog. *Zytokine* oder Wachstumsfaktoren) stimuliert (s. Kapitel 29).

Während viele Arten von Zellen (z. B. Nervenzellen) nach der Entwicklung das ganze Leben im Körper verbleiben können, müssen einige ständig erneuert werden. Dazu zählen insbesondere stark beanspruchte Zellen, wie die der Epidermis (Haut) und die Epithelzellen, welche die Innenwand des Darmes auskleiden.

Eine kurze Lebensgeschichte der Erythrozyten

Die Bildung neuer Erythrozyten wird durch das Hormon Erythropoietin³⁾ ausgelöst (Kapitel 9). Aus den Vorläuferzellen (Proerythroblasten genannt) entstehen durch Zellteilungen und weitere Differenzierung mehrere *Erythroblasten*, die sehr viel Hämoglobin synthetisieren. Die Zellen der Säugetiere stoßen in diesem Zustand ihren Kern ab und heißen nun Retikulozyten. Diese krumpeligen Zellen (Abb. 2.8) reifen während des Transports durch die Blutbahnen (wahrscheinlich ausgelöst durch ständige mechanische Deformation) in etwa 24 h zu den symmetrischen Diskozyten heran. Zahlreiche Reste des Zytoplasmas werden in Lysosomen abgebaut und durch deren Fusion mit der Plasmamembran ausgestoßen, sodass nur noch eine mit Hämoglobin gefüllte Schale besteht.

Unser Körper enthält ca. $2,5 \cdot 10^{13}$ Erythrozyten und muss jede Stunde $2,5 \cdot 10^6$ alte Zellen durch neue ersetzen. Die gereiften Zellen leben ca. 120 Tage und legen dabei einen

Weg von bis zu 400 km zurück. Dabei müssen sie sich durch enge Kapillaren quetschen, deren Durchmesser erheblich kleiner ist als der der Zellen. Diese Strapazierfähigkeit wird durch die außergewöhnlichen elastischen Eigenschaften der Zellhülle erreicht, wie wir im Kapitel über Membranelastizität (Kapitel 11) sehen werden.

Da die Erythrozyten alle intrazellulären Kompartimente verloren haben, müssen die lebensnotwendigen Enzyme in die Plasmamembran eingebaut werden. In dieser residieren die für die Produktion von ATP durch Glykolyse notwendigen Enzyme, oder auch Peroxidasen zum Abbau schädlicher Oxidationsprodukte. Daher werden Erythrozyten oft als „tote Zellen“ angesehen. Andererseits lassen sich an Erythrozyten die physikalischen Eigenschaften der Zellhüllen ohne Störung durch genetische Expression studieren, und sie sind daher ideale Modellsysteme für Physiker.

- 3) Unter anderem bekannt als Dopingmittel unter der Abkürzung „EPO“

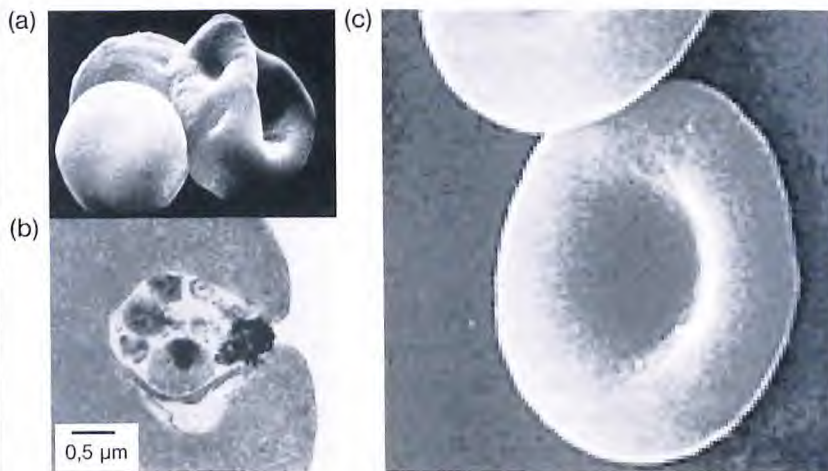


Abb. 2.8 Zur Lebensgeschichte der menschlichen Erythrozyten. (a) Eine mittels Rasterelektronenmikroskopie aufgenommene, frisch geborene Zelle (Retikulozyt genannt), die gerade ihren Kern abgestoßen hat (Bild modifiziert nach M. Bessis. Living

Blood Cells and their Ultrastructure. Springer Verlag, 1974). (b) Ausstoßung von unverdaulichen Abbauprodukten in großem Lysosom durch dessen Fusion mit der Plasmamembran. (c) Bikonkave Ruheform eines jungen Erythrozyten.

Manche Zellen erneuern sich nur nach Verletzungen. Dazu zählen neben den Endothelzellen insbesondere die Leberzellen. Erstaunlich ist dabei, dass die Zellen sich so lange teilen, bis die ursprüngliche Form des Organs wieder hergestellt ist. Die Prometheus-Sage hat also einen realen Hintergrund. Nach dieser sandte Zeus dem an den Felsen gefesselten Prometheus einen Adler, der täglich dessen Leber anfraß, welche sich jedoch jeden Tag erneuerte.

Eine Spezies, die ständig erneuert werden muss, sind die Blutzellen, und zwar sowohl die der Immunabwehr dienenden weißen Zellen als auch die den Sauerstoff-Transport bewerkstellenden roten Blutzellen (Erythrozyten). Der Körper erwachsener Menschen muss täglich ca. 10^{11} Exemplare dieser Zellen ersetzen [1, 3]. Diese gewaltige Leistung vollbringen die *pluripotenten Stammzellen*, die vor allem im Knochenmark residieren und durch Teilung mehrere Spezies von Vorläuferzellen hervorbringen. Aus diesen entstehen nun durch Teilung und Differenzierung (1) die verschiedenen weißen Zellen (Lymphozyten, Makrophagen), (2) die Vorläuferzellen der Erythrozyten, sowie (3) die riesigen Mutterzellen (*Megakaryozyten*) der Thrombozyten (Blutplättchen). Die kernlosen Blutplättchen entstehen durch Abspaltung aus den Megakaryozyten. Die Erythrozyten entstehen aus differenzierten Stammzellen, die ihrerseits von pluripotenten Stammzellen abstammen.

Wir erwähnen die Entstehung der Zellen hier, um den Leser darauf hinzuweisen, dass jede Zelle eine Geschichte hat, die ihr Verhalten beeinflussen kann. Dies muss man bei allen physikalischen und biologischen Experimenten beachten. Viele Experimente werden beispielsweise an (unsterblichen) *Hybridoma-Zellen* durchgeführt. Die an solchen Exemplaren gewonnenen Ergebnisse sind nicht notwendigerweise physiologisch relevant. Dem interessierten Leser, der mehr über das Wunder der Differenzierung während der embryonalen Entwicklung lernen möchte, sei das Buch „Developmental Biology“ von S. F. Gilbert (insbesondere C.9) empfohlen.

2.4 Die Zellteilung

Die Fraktion der Zellen, welche die Fähigkeit zur Teilung behalten, wird durch biochemische Signale zur Teilung angeregt und durchläuft einen charakteristischen Prozess, den Zellzyklus. Die Signale werden durch Bindung von Signalmolekülen (Wachstumsfaktoren, Hormone) an Proteine (Rezeptoren genannt) auf der Zelloberfläche vermittelt. Diese lösen intrazelluläre biochemische Signale aus, die den genetischen Apparat der Zelle aktivieren. Der Zellzyklus besteht aus mehreren, in Abbildung 2.9 dargestellten Prozessen.

Man kann den Zyklus tierischer Zellen in zwei Hauptphasen einteilen: Die Mitose-Phase (M) und die aus G1, S und G2 bestehende Zwischenphase (Interphase, I). Man beachte, dass die Zeitbereiche in Abb. 2.9b verzerrt sind. Während die Mitose selbst nur etwa 60 min dauert, kann sich die Zwischenphase über Stunden, Tage oder noch länger erstrecken [2]. Nach der Teilung beginnt

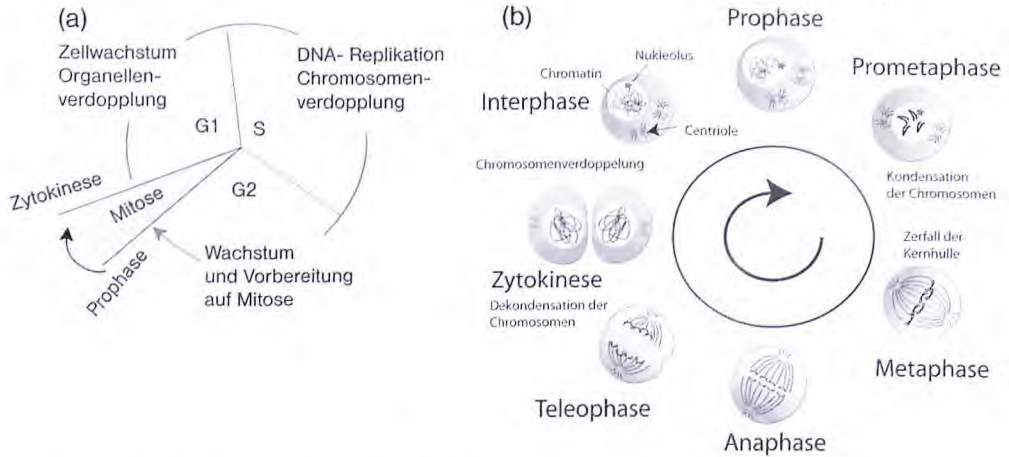


Abb. 2.9 (a) Die vier Phasen des Zellzyklus. Man beachte die kurze Dauer der eigentlichen Phase der Zellteilung (Mitose). (b) Vereinfachtes Schema des Zellzyklus mit zeitauflösender Darstellung der Mitose. Erklärungen werden im Text gegeben.

eine Wachstumsphase, G1, in der die Zellen wachsen und neue Organellen produzieren. An deren Ende setzt die DNA-Synthese ein und die Chromosomen verdoppeln sich. Man spricht daher von der Synthese-Phase (S-Phase). Danach geht die Zelle durch eine Vorbereitungsphase (G2), in der sie noch weiter wächst und die Mitose vorbereitet.

Der Prozess der Mitose erfolgt in mehreren Stufen. In der *Prophase* zerfällt die Kernhülle und die zwei Sätze von Chromosomen trennen sich. Unmittelbar danach bildet sich die Spindel aus und die *Metaphase* beginnt, in der sich die Chromosomen am Äquator sammeln und richtig orientieren. In der *Anaphase* trennen sich die Chromosomensätze in synchronisierter Weise durch aktive Bewegung entlang der Spindel. Sie werden dann in der *Telophase* an den Spindeln befestigt. Nun setzt die eigentliche Zellteilung in zwei Schritten ein: Die Zelle schnürt sich (während der *Telophase*) in der Mitte ein und danach beginnt die eigentliche Teilung (die sog. *Zytokinese*).

Der Zellzyklus wird durch eine ganze Reihe biochemischer Signale gesteuert, von denen einige schon aufgeklärt sind. Wer mehr über dieses komplexe Gebiet lernen möchte, sollte die Bücher über Zellbiologie konsultieren; z. B. von G. Karp [2], der die Prozesse knapp, aber klar darstellt, oder von Gilbert [5], der eine ausführlichere Darstellung bringt.

2.5

Literatur

- 1 Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. (1995) *Molecular biology of the cell*, Garland, New York, 1994. Deutsche Ausgabe: Verlag Chemie, Weinheim.
Die wohl umfangreichste Darstellung der Zellbiologie, die aber nicht unbedingt für den Studenten zum Lernen geeignet ist
- 2 Karp, G. (1999) *Cellular and molecular biology*, J. Wiley, New York.
Eine relativ knapp, aber sehr klar und in einheitlichem Stil geschriebene Einführung in die Zellbiologie. Für Leser, die von dem großen Umfang der Monografien über Zellbiologie von Alberts et al. und von Lodish *et al.* abgeschreckt werden.
- 3 Lodish, H. *et al.* (2007) *Molecular cell biology*, W.H. Freeman and Company, New York.
Ein Buch mit besonders guten Bildern und sehr kompetenten und detaillierten Darstellungen biochemischer Prozesse.
- 4 Fritsche, W. (2002) *Mikrobiologie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
Gut lesbare Einführung in die Welt der Bakterien, auf Deutsch.
- 5 Gilbert, S.F. (1997) *Developmental biology*, Sinauer Associates Inc., Sunderland, Mass., USA.
Eine umfangreiche Einführung in die Entwicklungsbiologie. Sie ist trotz des komplexen biologischen Gebiets und der vielen offenen Fragestellungen auch für Physiker anregend zu lesen.

2.6

Weiterführende Literatur

- Berg, J., Tymoczky, J., Stryer, L. (2003) *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
Eine umfangreiche Einführung in die Biochemie, die besonders für Physiker geeignet ist.
- Margulis, L., Schwartz, K. (1989) *Die fünf Reiche der Organismen*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
Eine faszinierende und anregend geschriebene Darstellung der Welt der Kleinlebewesen.
- Sackmann, E. (1995) *Biological membranes, architecture and function*, in *Handbook of Biological Physics*, Vol. I. (eds. R. Lipowsky und E. Sackmann). Elsevier, Amsterdam.

3

Einführung in die Thermodynamik

Viele Prozesse der belebten Welt sind untrennbar mit der Wärme verbunden und lassen sich im Rahmen der Thermodynamik erklären. Zum Beispiel bestimmt der Brennwert (umgangssprachlich der „Kaloriengehalt“) der aufgenommenen Nahrung, wie viel Arbeit ein Organismus leisten kann, wie lange er seine Körpertemperatur aufrecht erhalten kann und ob er zu- oder abnimmt. Da Wärme eine Form der Energie ist und diese erhalten bleibt, müssen sich alle Energieflüsse durch den Organismus aufheben. Ein „Zuviel“ an aus der Nahrung aufgenommener Energie muss in der Form von Speichergeweben, sprich Fett, im Organismus deponiert oder ausgeschieden werden.

Ein weiteres Beispiel für die Wichtigkeit der Thermodynamik in der belebten Welt liefert die Oberflächenspannung von Wasser. Diese kann durch Zugabe von oberflächenaktiven Stoffen, sogenannten Detergenzien, stark verringert werden. Diesen Trick benützt auch der Organismus, um die zur Ausdehnung der feuchten Lungenbläschen beim Einatmen notwendigen mechanischen Kräfte zu verringern. Sowohl die Oberflächenspannung als auch die Wirkung von Detergenzien können nur mithilfe der Thermodynamik verstanden werden.

Als letztes Beispiel sei die Funktion der Nieren erwähnt. In den Nieren landlebender Tiere wird dem salzhaltigen Primärharn Wasser entzogen, um den Wasserverbrauch des Organismus zu verringern. Beim Menschen wird dabei die Salzkonzentration ungefähr vervierfacht. Da beim Entzug von Wasser aus Lösungen Wärme benötigt wird, verbrauchen die Nieren ungefähr zehn Prozent des Energiegrundumsatzes des Menschen.

Diese Beispiele aus der Physiologie zeigen, dass sehr viele biologische Prozesse nur mithilfe der Thermodynamik verständlich sind. Umgekehrt leisteten Mediziner und Biologen in ihrem Bestreben, physiologische Prozesse aufzuklären, wesentliche Beiträge zur Entwicklung der Thermodynamik, siehe Abschnitt 1.1.

Heute hat sich der Schwerpunkt der biologischen Forschung von der Untersuchung ganzer Organe und Gewebe zu kleineren Längenskalen, zu Zellen und Molekülen verschoben, aber Thermodynamik und statistische Physik spielen immer noch eine zentrale Rolle. Für das Leben entscheidende Prozesse wie Faltung von Proteinen, molekulare Erkennung und Komplexbildung zwischen Biomolekülen sowie biochemische Reaktionen sind nur mithilfe der Thermodynamik zu verstehen. Daher werden wir uns in diesem Kapitel den Grundlagen der Thermodynamik zuwenden.

3.1

Phänomenologische Thermodynamik

Der Zustand von Materie auf Längenskalen, die viele Moleküle einschließen, lässt sich durch relativ wenige Parameter eindeutig charakterisieren. Zum Beispiel genügt zur eindeutigen Charakterisierung eines Gasgemischs die Angabe der Temperatur, des Drucks und der Anteile der verschiedenen Gassorten am Gesamtgemisch. Ein Kubikmeter trockene Luft bei 20 °C und einem Druck von einer Atmosphäre hat überall auf der Erde dieselben physikalischen Eigenschaften. Bei näherer Betrachtung ist dies sehr verblüffend, denn selbst ein Kubikzentimeter Luft enthält $3 \cdot 10^{19}$ Moleküle. Im Rahmen der klassischen Mechanik könnte man ein solches System zwar eindeutig beschreiben, man bräuchte dafür aber $2 \cdot 10^{20}$ Funktionen der Zeit (6 Koordinaten pro Molekül) und genauso viele Anfangsbedingungen. In Anbetracht dieser riesigen Zahlen ermöglicht die Thermodynamik eine geradezu unglaublich erfolgreiche Konzentration auf das Wesentliche. Sie erlaubt uns insbesondere, die Zustände und Zustandsänderungen der Materie (unter gegebenen äußeren Bedingungen) durch wenige *Zustandsvariablen* zu beschreiben. Tabelle 3.1 zeigt einige Beispiele.

Tabelle 3.1 Beispiele für thermodynamische Zustandsvariablen

System	Zustandsvariable
Gas	Temperatur, Druck, Dichte
Gasgemisch / Flüssigkeit	Temperatur, Druck, Dichte, Mischungsverhältnisse (Molenbrüche)
Salzlösungen	Temperatur, Druck, Dichte, Mischungsverhältnisse, Ladungsdichte, elektrisches Feld

Im Allgemeinen sind Zustandsvariablen *nicht* unabhängig, sondern hängen über *Zustandsgleichungen* voneinander ab. So verknüpft die Zustandsgleichung der idealen Gase Druck p , Teilchendichte n und Temperatur T . Es können nur zwei der drei Zustandsvariablen unabhängig voneinander gewählt werden.

$$p = nk_B T \quad \text{bzw.} \quad p = \frac{N}{V} k_B T \quad (3.1)$$

Hierbei ist k_B eine fundamentale Naturkonstante, die auch Boltzmannsche Konstante¹⁾ heißt. Sie hat den Zahlenwert $1,38065 \cdot 10^{-23}$ J/K. Die Temperatur wird als „absolute Temperatur“ in Kelvin angegeben. Der Gefrierpunkt von Wasser, also der Nullpunkt der gebräuchlichen Celsius-Skala, liegt bei 273,15 K.

Die Thermodynamik wird von Hauptsätzen dominiert, die die Ergebnisse vieler Experimente zusammenfassen.

1) Ludwig Eduard Boltzmann (*20.2.1844 in Wien, †5.9.1906 in Duino Italien), ein österreichischer Physiker, war der Begründer der statistischen Mechanik.

Der **0. Hauptsatz der Thermodynamik** beschreibt die *Temperatur*. Diese ist wohl die wichtigste Zustandsvariable in der Technik. Sie wird im Rahmen der Thermodynamik über das ideale Gasgesetz (Gl. 3.1) definiert. Der 0. Hauptsatz der Thermodynamik lautet:

„In einem abgeschlossenen System gleichen sich Temperaturunterschiede aus.“

In der Natur wird die Temperatur oft konstant gehalten. Unter diesen Bedingungen spielt die Temperatur eine wichtige Rolle als Randbedingung, die zum Beispiel den Aufbau von Werkstoffen bestimmt. Ein Beispiel ist die Zusammensetzung des Körperfetts, dessen Fettsäurezusammensetzung bei 37 °C zu einer zähflüssigen Beschaffenheit führt.

Der **1. Hauptsatz der Thermodynamik** ist eine Verallgemeinerung des Satzes von der Erhaltung der Energie und postuliert, dass Wärme auch eine Form der Energie ist. Er lautet:

„Die in einem abgeschlossenen System gespeicherte Energie U (Innere Energie genannt) ist eine Erhaltungsgröße. Ihre Änderung setzt sich zusammen aus zugeführter Wärme δQ und am System geleisteter Arbeit δA .“

$$dU = \delta Q + \delta A \quad (3.2)$$

Bei Volumenänderung gilt $\delta A = -p dV$. Das negative Vorzeichen ergibt sich aus der Konvention, dass am System geleistete Arbeit und zugeführte Wärme positiv gerechnet werden. Hier, wie in allen Formeln der Thermodynamik, wird zwischen Änderungen von Zustandsgrößen und Änderungen von anderen Größen unterschieden. Differenzielle Änderungen von Größen, die nur durch den momentanen Zustand des Systems und nicht durch seine Vorgeschichte bestimmt sind (und genau so sind Zustandsgrößen definiert), bilden vollständige Differenziale, die üblicherweise mit d symbolisiert werden.

Die gesamte Änderung der energetischen Beiträge (Innere Energie U , Wärme Q und geleistete Arbeit A) bei Übergängen zwischen zwei Zuständen 1 und 2 erhält man durch Integration über die Differenziale der jeweiligen Größen. Dabei hängt die gesamte Änderung einer Zustandsgröße (z. B. U) nicht vom Integrationsweg ab, wohl aber die der anderen Größen (Q und A). Die Differenziale solcher von der Vorgeschichte abhängigen Größen sind unvollständig. Dieser Unterschied zu den vollständigen Differenzialen der Zustandsgrößen wird durch Verwendung des Symbols δ betont. Offenbar müssen sich die vom Weg abhängigen Beiträge der Größen A und Q kompensieren (Abb. 3.1).

Der erste Hauptsatz spielt eine zentrale Rolle für unser Leben oder die Sportmedizin, da er quantitative Aussagen über das Verhältnis von aufgenommener Energie (Nahrung) und geleisteter Arbeit des Stoffwechsels liefert. Er kann daher auch zur Diagnose von Krankheiten verwendet werden. Wie in vielen Büchern der Tierphysiologie (z. B. Randall *et al.* 2002) oder der humanen Physiologie eingehend beschrieben wird, werden zur Messung der Energiebilanz eines Organismus zwei prinzipiell verschiedene Messtechniken eingesetzt. Bei der so

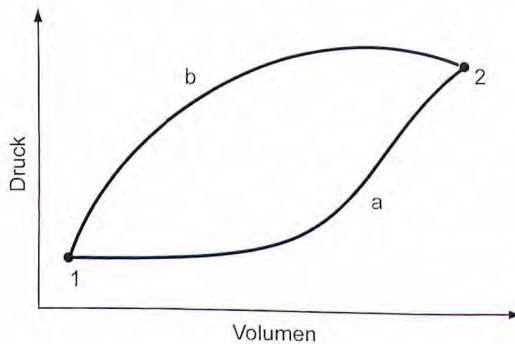


Abb. 3.1 Ein thermodynamisches System kann in seinem Phasenraum auf vielen verschiedenen Wegen von einem Zustand 1 in einen anderen Zustand 2 gebracht werden. Hier sind als Veranschaulichung zwei mögliche Wege, a und b, in der p - V -Ebene gezeigt.

In diesem Beispiel ist offensichtlich, dass

$$\Delta A = - \int_1^2 p dV \text{ vom gewählten Weg abhängt.}$$

Für Zustandsgrößen (z. B. die Innere Energie) ist dies nicht der Fall.

genannten direkten Kalorimetrie wird die Wärmeproduktion eines Tieres direkt gemessen. Das erste Experiment dieser Art führten Antoine Lavoisier²⁾ und Pierre de Laplace³⁾ ungefähr 1780 durch, indem sie ein Tier in einer mit Eis umgebenen Schachtel hielten und maßen, wie viel Schmelzwasser sich in einem bestimmten Zeitintervall bildete. Heute wird die indirekte Kalorimetrie wesentlich häufiger, auch zur Diagnose von menschlichen Krankheiten, eingesetzt. Bei dieser Technik wird gemessen, wie viel mechanische Arbeit ein Organismus leistet, wie viel Sauerstoff er dabei aufnimmt und wie viel CO_2 er abgibt. Der erste Hauptsatz der Thermodynamik, angewandt auf die indirekte Kalorimetrie der Organismen, lautet:

$$\Delta Q_{\text{Nahrung}} + \Delta Q_{\text{O}_2} = \Delta A + \Delta Q_{\text{Verlust}} + \Delta Q_{\text{CO}_2}$$

Dabei ist $\Delta Q_{\text{Nahrung}}$ die durch die Nahrung aufgenommene Energie, ΔQ_{O_2} die in den chemischen Bindungen des aufgenommenen Sauerstoffs gespeicherte Energie, ΔA die vom Organismus (z. B. auf einem Ergometer) geleistete Arbeit, $\Delta Q_{\text{Verlust}}$ die in den Körperausscheidungen enthaltene Wärme und ΔQ_{CO_2} die im ausgeatmeten Kohlendioxid enthaltene Wärme. Natürlich ist es mühsam, alle diese Terme einzeln zu bestimmen. Deswegen behilft man sich mit einer indirekten Methodik: Es ist bekannt, welche Wärmemengen pro Liter verbrauchten Sauerstoffs bei der Oxidation der verschiedenen Nährstoffe frei werden. Diese Werte liegen alle in der Nähe von 20 kJ/Liter. Daher kann man eine mittlere Zu-

2) Antoine-Laurent Lavoisier (* 26.08.1743 in Paris, † 8.05.1794 in Paris), französischer Chemiker und Politiker, war einer der Gründerväter der exakten Chemie und wurde in Folge der Französischen Revolution hingerichtet.

3) Pierre-Simon Marquis de Laplace (* 23.03.1749 in Beaumont-en-Auge, Frankreich, † 5.03.1827 in Paris), französischer Mathematiker, Astronom und Physiker, erklärte die Bewegung der Planeten auf der Basis der Newtonschen Gesetze und entwickelte die Wahrscheinlichkeitsrechnung.

sammensetzung der Nahrung zugrunde legen und aus dem Sauerstoffverbrauch den Wärmeumsatz bestimmen. Mit dieser Methode kann der Energieverbrauch bei bestimmten Tätigkeiten bestimmt werden. So verbraucht ein Mensch pro Stunde ungefähr 350 kJ beim Schlafen, 1000 kJ beim gemütlichen Radfahren und 4000 kJ beim Langstreckenlauf.

Der Vergleich verschieden großer Tierarten zeigt, dass der Zusammenhang zwischen der umgesetzten Wärmemenge pro Zeit und der Masse M des Tiers folgendem Skalengesetz gehorcht:

$$\frac{\Delta Q}{\Delta t} \approx 290 \frac{\text{kJ}}{\text{Tag}} \left(\frac{M}{1 \text{ kg}} \right)^{0,75}$$

Für wechselwarme Tiere und Einzeller gilt ein anderer Vorfaktor, aber die Potenz bleibt im Wesentlichen erhalten. Dieses Gesetz ist nur eines von vielen Skalengesetzen der Physiologie. Ihre Existenz beruht darauf, dass alle Organismen denselben äußeren Einflüssen unterliegen und ihre Funktionen auf wenigen, universellen Grundprinzipien beruhen.

Kommen wir nun zum **2. Hauptsatz der Thermodynamik**, der wesentlich unanschaulicher, aber auch folgenreicher als der erste ist. Er kann auf sehr vielfältige Weise formuliert werden und beinhaltet eine wichtige Alltagserfahrung: Temperaturunterschiede gleichen sich aus, wenn sie nicht durch andauernde Energie- oder Stoffzufuhr aufrechterhalten werden. Deutlich schärfer kann der 2. Hauptsatz formuliert werden als:

„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 Temperaturreservoir abgekühlt wurde.“

Diese Formulierung geht auf Rudolf Clausius⁴⁾ zurück. Er konnte mithilfe von so genannten Kreisprozessen herleiten, dass das Verhältnis der bei einem Prozess umgesetzten Wärme zur absoluten Temperatur die entscheidende Zustandsgröße ist. Genauer formuliert gilt für jeden geschlossenen Weg im Raum der Zustandsvariablen $\oint \frac{\delta Q}{T} = 0$. Dies wird in Anhang 3.A gezeigt.

Somit ist die Größe

$$S = \int \frac{\delta Q}{T} \quad (3.3)$$

unabhängig von der Vorgeschichte des Systems, d. h. unabhängig vom speziellen Weg, der zum momentanen Zustand führte. Daher ist diese Größe S eine Zustandsfunktion, genau wie die Innere Energie U . Clausius führte für diese Größe den Namen *Entropie* ein. Streng genommen gilt Gleichung (3.3) nur,

4) Rudolf Julius Emanuel Clausius (* 2. Januar 1822 in Köslin; † 24. August 1888 in Bonn) gilt als Entdecker des zweiten Hauptsatzes

der Thermodynamik, Schöpfer des Begriffs Entropie, sowie einer der ersten theoretischen Physiker in der Mitte des 19. Jahrhunderts.

wenn der Prozess reversibel, d. h. umkehrbar, ausgeführt wird. Dies ist in der Praxis nicht exakt möglich, sodass diese Definition der Entropie ein gewisses Maß an Idealisierung beinhaltet. Die enorme Bedeutung der Entropie liegt darin, dass sie uns ermöglicht, bei technischen oder biologischen Prozessen ihren Wirkungsgrad, d. h. denjenigen Anteil der Energie zu berechnen, der in nutzbare Arbeit umgesetzt werden kann (s. die Diskussion zur Freien Energie weiter unten). Ihre Bedeutung in der statistischen Mechanik ist sogar noch größer, da sie uns ermöglicht, die Wahrscheinlichkeiten thermodynamischer Zustände zu berechnen.

Ganz allgemein lässt sich zeigen, dass sich in einem abgeschlossenen System stets derjenige Zustand mit der größten Entropie einstellt. Daher gilt bei jedem Prozess mit Entropieänderung $dS \geq 0$.

3.1.1

Thermodynamische Potenziale

Die mit dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik eingeführte Zustandsfunktion $dS = \frac{\delta Q}{T}$ erlaubt es uns, die von einem System geleistete Arbeit mit zwei Zustandsfunktionen zu verknüpfen. Für die Innere Energie U gilt:

$$dU = TdS + \delta A \quad (3.4)$$

Dies ist eine Umformulierung des ersten Hauptsatzes. Gleichung (3.4) gilt nur bei reversibler Durchführung des Prozesses, bei irreversibler Durchführung ist die nutzbare Arbeit δA geringer. Die Arbeit selbst ist, wie oben bereits angemerkt, keine Zustandsfunktion. Jede Summe von Zustandsfunktionen ist selbst wieder eine Zustandsfunktion. Dies macht man sich zunutze, um eine neue Zustandsfunktion, die *Freie Energie* F , einzuführen. Es gilt:

$$F(V, T) = U - TS \quad (3.5)$$

bzw. für das Differenzial:

$$dF = -SdT + \delta A \quad (3.6)$$

Hierbei haben wir die mathematische Identität $d(TS) = TdS + SdT$ verwendet. Die natürlichen Variablen der Freien Energie, d. h. die Zustandsgrößen, entlang der ihr Differenzial integriert werden kann, sind Temperatur und Volumen. Da in der Biologie und Chemie praktisch immer die Temperatur gegeben ist, ist die Freie Energie eine wesentlich praktischere Größe als die Innere Energie, deren natürliche Variablen Entropie und Volumen sind.

Bei isothermen Prozessen ($dT = 0$) ist die Arbeit, die das System leisten kann, durch die Freie Energie gegeben. Gleichung (3.5) besagt also, dass die nutzbare Arbeit gleich der Inneren Energie abzüglich TS ist. Die unanschauliche Größe Entropie kann also durch die wesentlich anschaulichere Größe nutzbare Arbeit ersetzt werden.

Nach so vielen abstrakten Begriffen ist ein Beispiel angebracht. Ein ideales Gas werde in einem Kolben vom Volumen V_1 auf das Volumen V_2 komprimiert. Dabei

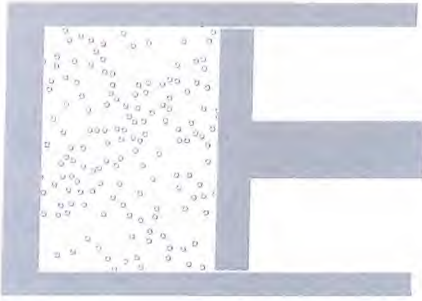


Abb. 3.2 Kompression eines idealen Gases in einem temperierten Kolben. Der Kolben wird durch einen Thermostat auf konstanter Temperatur gehalten, es kann also zum Austausch von Wärme zwischen Gas und Kolben kommen. In diesem Prozess sind Temperatur und Volumen kontrolliert.

werden Kolben und Gas auf konstanter Temperatur gehalten (Abb. 3.2). Bei der Kompression gilt für die Arbeit $\delta A = -p dV$. Dies erlaubt mit dem idealen Gasgesetz (Gl. 3.1) die Berechnung der Änderung der Freien Energie ΔF :

$$\Delta F = - \int_{V_1}^{V_2} p dV = Nk_B T \ln\left(\frac{V_1}{V_2}\right) > 0$$

Bei diesem Prozess wird am System Arbeit geleistet, die für nachfolgende Prozesse (z. B. Expansion) verfügbar ist. Wie wir später noch zeigen werden, hängt die Innere Energie U eines idealen Gases ausschließlich von Teilchenzahl und Temperatur, nicht aber vom Volumen ab. Dies liegt daran, dass sich die Innere Energie eines idealen Gases ausschließlich aus der kinetischen Energie der Atome zusammensetzt. Die Innere Energie des idealen Gases bleibt daher bei der Kompression unverändert. Die gesamte am System geleistete Arbeit wird daher als Wärme an den Thermostaten abgeführt. Bei einer nachfolgenden Expansion des Gases wird dieselbe Arbeit wieder frei. Sie wird streng genommen gar nicht vom idealen Gas geleistet, sondern als Wärme dem Thermostaten entnommen.

Eine weitere hilfreiche Eigenschaft der Freien Energie ist, dass aus ihr andere Zustandsgrößen berechnet werden können. In Fällen, in denen nur Volumenarbeit als externe Arbeit vorkommt, gilt $dF = -S dT - p dV$. Aus der mathematischen Theorie der vollständigen Differenziale ist aber bekannt, dass gelten muss: $dF = \left.\frac{\partial F}{\partial T}\right|_V dT + \left.\frac{\partial F}{\partial V}\right|_T dV$. Hierbei ist bei den partiellen Ableitungen jeweils die andere Variable konstant zu halten. Aus Vergleich der beiden Gleichungen folgt also:

$$S = - \left.\frac{\partial F}{\partial T}\right|_V \quad \text{und} \quad p = - \left.\frac{\partial F}{\partial V}\right|_T \quad (3.7)$$

Man kann also wichtige thermodynamische Größen bestimmen, wenn die Freie Energie als Funktion von Volumen und Temperatur durch frühere Messungen bekannt ist.

Während die Freie Energie $F(V,T)$ die fundamentale Größe zur Beschreibung von Zustandsänderungen als Funktion von Volumen und Temperatur ist, hat man es in der Realität wesentlich häufiger mit Prozessen zu tun, bei denen Druck und Temperatur kontrolliert werden. Zur Beschreibung solcher Prozesse

benötigen wir ein vollständiges Differenzial, dessen natürliche Variablen Druck und Temperatur sind. Völlig analog zur Freien Energie wird die *Freie Enthalpie* $G(p, T)$ gemäß

$$G(p, T) = U - TS + pV \quad (3.8)$$

definiert. Für das Differenzial der Freien Enthalpie gilt:

$$dG = -SdT + Vdp \quad (3.9)$$

Auch hier können wiederum wichtige thermodynamische Beziehungen berechnet werden:

$$S = - \left. \frac{\partial G}{\partial T} \right|_p \quad \text{und} \quad V = + \left. \frac{\partial G}{\partial p} \right|_T \quad (3.10)$$

Auch die Freie Enthalpie hat eine anschauliche Deutung. Sie ist die gesamte mechanische Arbeit, außer der Volumenarbeit, die an einem System bei konstanter Temperatur und konstantem Druck vollbracht wurde.

Der Vollständigkeit halber sei noch das letzte verbleibende thermodynamische Potenzial, die *Enthalpie* H erwähnt. Diese hat die natürlichen Variablen Entropie und Druck. Sie ist gegeben durch:

$$H(p, S) = U + pV \quad (3.11)$$

Ihr Differenzial lautet:

$$dH = TdS + Vdp \quad (3.12)$$

Die Enthalpie tritt in der Praxis häufig indirekt auf. Die Änderung der Enthalpie ist bei isobaren Prozessen ($dp = 0$) gleich der mit der Umgebung ausgetauschten Wärmemenge. Daher ist die isobare Wärmekapazität gegeben durch die partielle Ableitung der Enthalpie nach der Temperatur bei festem Druck. Läuft in einem isobaren System eine chemische Reaktion ab, so ersetzt die Reaktionsenthalpie ΔH die für isochore ($dV = 0$) Systeme definierte Reaktionsenergie ΔU . Da wir es in der Biologie immer mit isobaren Prozessen zu tun haben, wird uns die Reaktionsenthalpie öfters begegnen.

Die Freie Enthalpie wird auch als Gibbs'sche Freie Enthalpie bezeichnet. In der englischen Literatur wird auch oft von der *Gibbs free energy* gesprochen, die Freie Energie wird dagegen als *Helmholtz free energy* bezeichnet. Da zudem oft nur von *free energy* gesprochen wird, führt dies zu sehr vielen Verwechslungen.

Freie Energie und Freie Enthalpie spielen in der Thermodynamik dieselbe Rolle wie die Potentiale in der Mechanik. Daher spricht man auch oft von den thermodynamischen Potenzialen. Eine wunderbare Eigenschaft der thermodynamischen Potentiale ist, dass sie unabhängig von der Dimensionalität der Systeme sind. Man kann sie also ohne Weiteres auf eindimensionale Systeme wie die DNA oder zweidimensionale Systeme wie Oberflächen oder Membranen anwenden. Im Vergleich dazu ändern sich die Gesetze der Elektrostatik oder der Hydrodynamik sehr stark mit der Dimensionalität des Systems. Entgegen der weit verbreiteten Meinung kann Thermodynamik also auch sehr einfach sein.

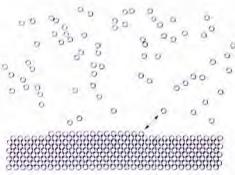


Abb. 3.3 Ein Kristall, der im Gleichgewicht mit der gesättigten Lösung seiner Bestandteile steht.

Schließlich können zu den thermodynamischen Potenzialen andere Energiebeiträge, wie Oberflächenenergien, elektrische Energien oder Gravitationsenergie, hinzugefügt werden. Dazu wird dem Differenzial immer das Produkt aus einer generalisierten Kraft (z. B. Oberflächenspannung oder Druck) und dem Differenzial der Systemgröße, auf die sie wirkt (z. B. Oberfläche oder Volumen), hinzugefügt.

Das wohl wichtigste Beispiel für eine solche generalisierte Kraft liefert der Austausch von Teilchen zwischen zwei Systemen. Ein einfaches Beispiel ist ein Kristall, der im Gleichgewicht mit der gesättigten Lösung seiner Bestandteile steht (Abb. 3.3). Aufgrund der verschiedenen Umgebungen in den beiden Phasen gibt es einen Beitrag zum Potenzial beim Übergang eines Atoms von einer Phase in die andere. Dies ist zum Beispiel bei Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$), der 97 % des Zahnschmelzes ausmacht, wichtig. Die Bestandteile dieses Minerals liegen auch im Speichel gelöst vor. Wenn sich der pH-Wert des Speichels zum Säuren verschiebt, wird die gelöste Phase bevorzugt, was zur Auflösung des Minerals führt. Auf diesem Weg zerstören Bakterien, deren Ausscheidungsprodukte sauer sind, den Zahnschmelz. Die Bildung und Zerstörung von Mineralien durch Organismen wird als *Biomineralisation* bezeichnet, siehe Kapitel 1. Biomineralien kommen zum Beispiel in Knochen, Zähnen, Gallensteinen, Muschelschalen und in den Nesselhaaren der Brennnessel vor.

Die generalisierte Kraft, die beim Austausch von Teilchen wirkt, heißt *chemisches Potenzial* μ . Es gilt nur für jeweils eine Teilchensorte, d. h. jede Teilchensorte hat „ihr“ chemisches Potenzial. Die Differenziale der thermodynamischen Potenziale für Systeme mit Teilchenaustausch lauten:

$$\begin{aligned}
 \text{Freie Enthalpie:} \quad dG(T,p,N_i) &= -SdT + Vdp + \sum_i \mu_i dN_i \\
 \text{Freie Energie:} \quad dF(T,V,N_i) &= -SdT - pdV + \sum_i \mu_i dN_i \\
 \text{Enthalpie:} \quad dH(S,V,N_i) &= TdS - pdV + \sum_i \mu_i dN_i \\
 \text{Innere Energie:} \quad dU(S,V,N_i) &= TdS - pdV + \sum_i \mu_i dN_i
 \end{aligned} \tag{3.13}$$

wobei der Summationsindex i stets über alle Teilchensorten im System läuft. Man kann das chemische Potenzial einer Teilchensorte also durch Ableitung eines thermodynamischen Potenzials nach der entsprechenden Teilchenzahl bestimmen. Hierbei müssen allerdings die anderen natürlichen Variablen des jeweiligen Potenzials festgehalten werden. Da fast jeder praktisch wichtige Teilchenaustausch bei konstantem Druck und konstanter Temperatur erfolgt, ist die Freie Enthalpie das Potenzial, aus dem das chemische Potenzial meistens bestimmt wird.

Wie alle generalisierten Kräfte ist das chemische Potenzial eine *intensive* Größe, d. h. es hängt nicht von der Systemgröße ab. Der Parameter des Systems, an den es koppelt, ist die Teilchenzahl, welche *extensiv* ist. Als extensive Größe bezeichnet man alle thermodynamischen Größen, die mit der Systemgröße skalieren. Beispiele sind Volumen, Wärme, Arbeit und sämtliche thermodynamischen Potenziale.

Außerdem ist das chemische Potenzial einer Teilchensorte eine *partielle* Größe, denn es wird berechnet als Grenzwert der Potenzialänderung pro Teilchenzugabe, bei gleichzeitiger Fixierung aller anderer natürlicher Variablen des betrachteten Potenzials. Es ist keine Eigenschaft der Stoffsorte, sondern hängt auch von den Konzentrationen aller anderen Stoffe sowie von den natürlichen Variablen des Potenzials, normalerweise Druck und Temperatur, ab.

3.1.2

Thermodynamische Gleichgewichte

Die thermodynamischen Potenziale bestimmen insbesondere auch die Lage von Gleichgewichten. Um dies zu zeigen, geht man vom zweiten Hauptsatz aus. In einer seiner vielen äquivalenten Formulierungen besagt dieser, dass die Entropie in einem abgeschlossenen System maximal wird, da die Entropie bei irreversiblen, d. h. spontan vorwärts, aber nie rückwärts ablaufenden Prozessen, nur zunehmen kann.

Ein abgeschlossenes System kann mit seiner Umwelt keine Energie, weder als Wärme noch als mechanische Arbeit, austauschen. Daher gilt: Bei gegebenem U und V ist S maximal. Da aber selten die Innere Energie, sondern meistens die Temperatur vorgegeben ist, muss diese Beziehung noch weiter bearbeitet werden. Dazu bringt man in einem Gedankenexperiment das interessierende System in thermischen Kontakt mit einem sehr viel größeren Wärmebad und schließt das Gesamtsystem von der Umwelt ab. Somit fixiert das Wärmebad die Temperatur des Gesamtsystems. Ein Beispiel wäre ein Bakterium oder Protein-Molekül in einer hermetisch verschlossenen Thermoskanne voll Wasser. In den folgenden Formeln werden Größen, die sich auf das Gesamtsystem beziehen, mit einem Index g versehen, solche, die sich auf das interessierende System beziehen, mit einem Index s , und das Wärmebad erhält den Index w .

Es gilt also, dass $S_g = S_s + S_w$ einen Extremwert annehmen muss. Jede Änderung der Gesamtentropie ist gegeben durch eine Entropieänderung des Systems und die dem Wärmebad zugeführte Wärme δQ_w :

$$0 \leq dS_g = dS_s + \frac{\delta Q_w}{T}$$

Das Wärmebad soll mit dem System nur Wärme austauschen können, daher kann jede Änderung der Inneren Energie des Systems nur durch einen entsprechenden Transfer von Wärme aus dem Bad erfolgt sein.

$$\delta Q_w = -dU_s$$

Da die Temperatur fixiert sei, gilt $T dS = d(TS)$ und somit:

$$0 \leq dS_g = dS_s - \frac{dU_s}{T} = \frac{1}{T} d(TS_s - U_s) = -\frac{1}{T} dF_s$$

woraus folgt:

$$dF_s \leq 0$$

Das heißt, bei fixierter Temperatur nimmt die Freie Energie des Systems im thermischen Gleichgewicht ein Minimum an.

Völlig analog kann man zeigen, dass bei fixierter Temperatur und fixiertem Druck die Freie Enthalpie minimiert wird. Ganz generell gilt: *Im thermischen Gleichgewicht nimmt dasjenige thermodynamische Potenzial, dessen natürliche Variablen vorgegeben sind, einen Extremalwert an.*

Diese Erkenntnisse können wir zur Beschreibung von Phasengleichgewichten ausnützen. Wir betrachten hierbei Systeme, bei denen die Stoffe in mehreren Phasen vorliegen können. Der Gasaustausch in der Lunge ist ein Beispiel für einen solchen Prozess (Abb. 3.4).

Die beiden betrachteten Phasen werden im Folgenden durch Indices a und b unterschieden. Der Einfachheit halber behandeln wir nur einen Stoff, die Verallgemeinerung auf viele ist sehr einfach. Das Gesamtsystem ist abgeschlossen, d. h. die beiden Phasen können zwar ihr Volumen, ihre Innere Energie und ihre Teilchenzahl ändern, aber nur jeweils auf Kosten der anderen Phase. Alle diese Größen liegen für das Gesamtsystem fest.

$$U_a + U_b = U_g = \text{fest}$$

$$V_a + V_b = V_g = \text{fest}$$

$$N_a + N_b = N_g = \text{fest}$$

Daraus folgt sofort

$$dU_a + dU_b = 0$$

$$dV_a + dV_b = 0$$

$$dN_a + dN_b = 0$$

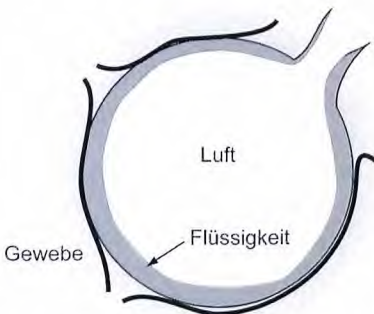


Abb. 3.4 Ein Lungenbläschen als Beispiel für Phasengleichgewichte. Die Innenseite des Lungenbläschens ist mit einem Feuchtigkeitfilm bedeckt. Im Lungenbläschen liegt Wasser sowohl als Dampf als auch als Flüssigkeit vor. Ebenso liegen Kohlendioxid und Sauerstoff sowohl in der flüssigen Phase gelöst als auch als Bestandteile der Luft vor. Diese Stoffe stehen miteinander im Gleichgewicht. Die im Flüssigkeitsfilm gelösten Gase stehen durch Diffusion über die Basalmembran des Bläschens in Kontakt mit dem Gewebe und den dort vorhandenen Blutgefäßen.

Wir betrachten jetzt die Gesamtentropie des Systems und variieren dieses nach den Größen der Phase a . Es gilt:

$$S_g = S_a(U_a, V_a, N_a) + S_b(U_b, V_b, N_b)$$

woraus folgt

$$0 \leq dS_g = \left(\frac{\partial S_a}{\partial U_a} - \frac{\partial S_b}{\partial U_b} \right) dU_a + \left(\frac{\partial S_a}{\partial V_a} - \frac{\partial S_b}{\partial V_b} \right) dV_a + \left(\frac{\partial S_a}{\partial N_a} - \frac{\partial S_b}{\partial N_b} \right) dN_a \quad (3.14)$$

Da die Entropie ein Maximum annimmt, d. h. stabil ist unter allen möglichen Variationen der Variablen, muss jede der Klammern Null ergeben. S ist eine Zustandsfunktion (oder Potenzial) mit den natürlichen Variablen U , V und N . Ihr Differenzial ergibt sich aus (3.13) zu:

$$dS = \frac{1}{T} \left(dU + p dV - \sum \mu_i dN_i \right) \quad (3.15)$$

Das Differenzial einer jeden Zustandsfunktion g mehrerer Variablen x_1, x_2, \dots erhält man durch

$$dg = \frac{\partial g}{\partial x_1} dx_1 + \frac{\partial g}{\partial x_2} dx_2 + \dots$$

Vergleicht man dies mit dem Differenzial der Entropie (Gl. 3.15), so erkennt man, dass Gleichung (3.14) auf folgende Bedingungen führt:

$$\frac{1}{T_a} = \frac{1}{T_b}; \quad p_a = p_b; \quad \text{und} \quad \mu_a = \mu_b \quad (3.16)$$

Dies ist ein äußerst wichtiges Ergebnis für sehr viele praktische Anwendungen der Thermodynamik: Falls mehrere Phasen im Gleichgewicht stehen, müssen sie sowohl in Druck als auch in Temperatur übereinstimmen. Außerdem hat das chemische Potenzial jeder vorkommenden Molekülart denselben Wert in allen Phasen. Später werden wir sehen, dass das chemische Potenzial bei Teilchen in äußeren Feldern um den entsprechenden Energiebeitrag des Felds modifiziert werden muss. Dies führt in der Anwesenheit von elektrischen Feldern auf das elektrochemische Potenzial. Auch dieses ist für eine Molekülsorte in einem System in allen Phasen räumlich konstant. Somit ist die Lage der meisten in der Praxis vorkommenden Gleichgewichte mit Stoffaustausch (also auch chemische Reaktionen) durch die chemischen Potentiale der Stoffe bestimmt. Daher hat das chemische Potenzial eine überragende Bedeutung in der biologischen Physik. Konkrete Ausdrücke für das chemische Potenzial in Lösungen werden wir etwas später im Rahmen der Statistischen Physik herleiten.

In der Natur gibt es viele Beispiele von gekrümmten Flüssigkeitsoberflächen (im einfachsten Fall Tröpfchen) mit Oberflächenspannung. Dies sind Wassertropfen im Atem, die Lungenbläschen oder die deformierte Wasseroberfläche unter dem Fuß eines Wasserläufers. Hier wirkt ein zusätzlicher Druck, der *Laplace-Druck*. Zu seiner Herleitung betrachten wir ein Flüssigkeitströpfchen, das an einer Spritze hängt (Abb. 3.5).

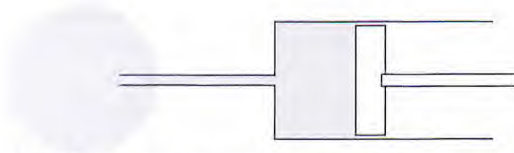


Abb. 3.5 Ein Tropfen einer Flüssigkeit steht innen unter einem höheren Druck, da die Oberflächenspannung wirkt. In diesem Gedankenexperiment wird der Druckunterschied durch die Spritze ausgeglichen.

Es werde langsam (d. h. ohne Druckverluste durch Strömungswiderstand) das Volumen des Tropfens vergrößert. Der Prozess verläuft isotherm ($dT = 0$) und isobar ($dp = 0$). Daher formulieren wir den Prozess am besten in der Freien Enthalpie, die unter diesen Randbedingungen minimal werden muss: $dG = 0$. Es gilt:

$$dG = -SdT + Vdp + \mu dN + \sigma dO = 0$$

Hier wurde zur Freien Enthalpie der Beitrag der Oberfläche, hier mit O bezeichnet, addiert. Die generalisierte Kraft, die hier wirkt, ist die Oberflächenspannung σ mit der Oberfläche als zugehörigem Freiheitsgrad. Wir nehmen an, dass die Flüssigkeit nicht mit dem Material der Spritze wechselwirkt. Beim langsamen Transfer einer Flüssigkeitsmenge dV von der Spritze in den Tropfen ändert sich daher die Freie Enthalpie des Gesamtsystems nur aufgrund der geänderten Oberflächenenergie des Tropfens σdO . Die gesamte dabei von außen am System geleistete Arbeit ist $p dV$. Es gilt daher:

$$p dV = \sigma dO$$

Für ein kugelförmiges Tröpfchen (Radius r) gilt $dV = 4\pi r^2 dr$ und $dO = 8\pi r dr$. Damit ergibt sich insgesamt

$$p = \frac{2}{r} \sigma \quad (3.17)$$

Dies ist die berühmte Laplace-Gleichung für den Zusatzdruck einer gekrümmten Oberfläche aufgrund der Oberflächenspannung.

Ein Beispiel für die Bedeutung des Laplace-Drucks aus der Physiologie: In der Flüssigkeit in einem Lungenbläschen (Abb. 3.4; Durchmesser $50 \mu\text{m}$) befindet sich ein natürliches Detergens. Wie alle Detergenzien reduziert dieses die Oberflächenspannung der Flüssigkeit, in diesem Fall auf ca. 20 mN/m . Der Flüssigkeitsfilm mit dieser Oberflächenspannung führt zu einem Zusatzdruck von $1,6 \text{ kPa}$. Ohne das Lungendetergens würde die Oberflächenspannung ungefähr das Dreifache betragen. Vergleicht man diese Drücke mit der maximalen Tauchtiefe, aus der ein Mensch noch sicher auf Dauer durch einen Schnorchel atmen kann (40 cm , bzw. 4 kPa), so erkennt man den physiologischen Nutzen des Lungendetergens.

An dieser Stelle könnten wir uns weiterhin im Rahmen der phänomenologischen Thermodynamik den Umwandlungen von Stoffen und chemischen Reak-

tionen widmen. Jedoch erscheint uns der alternative Zugang, die Statistische Physik, hierzu besser geeignet.

3.2

Statistischer Zugang zur Wärmelehre

Der bisher verfolgte Ansatz der phänomenologischen Thermodynamik ist sehr abstrakt. Dies hat den großen Vorteil, dass die Theorie überraschend breit angewandt werden kann, aber auch den Nachteil der Unanschaulichkeit. Daher wenden wir uns jetzt einer Behandlung des Themas zu, die auf mikroskopischen Überlegungen beruht.

3.2.1

Unterscheidung zwischen Mikro- und Makrozuständen

Ein wesentliches Konzept der statistischen Theorie ist die Unterscheidung zwischen Mikrozuständen und Makrozuständen. Mikrozustände sind eindeutig unterscheidbare Zustände des Systems, also stationäre Quantenzustände. Diese sind im Prinzip rigoros abzählbar. Ein vertrautes Beispiel dafür sind magnetische Systeme. Hier sind Atome mit permanenten magnetischen Momenten auf einem Kristallgitter angeordnet. Ein Mikrozustand dieses Systems ist eindeutig charakterisiert durch die Angabe der z-Komponente des magnetischen Moments jedes einzelnen Atoms. Aufgrund von thermischen Fluktuationen klappen die Spins dauernd um. Daher durchläuft das System im Lauf der Zeit sehr viele Mikrozustände. In der Praxis reichen meistens Näherungsangaben für die Zahl der Quantenzustände mit bestimmten Eigenschaften (z. B. Gesamtspin) aus.

Im Gegensatz zu Mikrozuständen sind Makrozustände durch bestimmte Werte von Zustandsvariablen (z. B. T , S , p) charakterisierte Zustände von Materie von makroskopischer Ausdehnung. Makrozustände sind also auf der Basis der Thermodynamik definiert, Mikrozustände dagegen nicht. Ein typischer Makrozustand wäre ein Edelgas mit einer Dichte von einem Mol pro 22,4 Liter Volumen ($2,7 \cdot 10^{25}$ Teilchen/m³) bei einer Temperatur von 273,15 K, das einen Würfel von einem Zentimeter Kantenlänge ausfüllt. Die stationären Quantenzustände der Teilchen dieses Gases sind durch diskrete Werte der Komponenten des Impulsvektors definiert. Eine einfache Abschätzung zeigt, dass die Quantenzahlen der Einteilchenzustände hier von der Größenordnung 10^8 sind (s. Übungsaufgaben). Da die Gesamtwellenfunktion aus $3N$ Einzelfunktionen (im oberen Beispiel $8,1 \cdot 10^{19}$) mit Quantenzahlen in dieser Größenordnung kombiniert werden kann, existiert eine gewaltige Anzahl an Mikrozuständen zu diesem einen Makrozustand. In der statistischen Theorie der Wärme werden Erwartungswerte durch Mittelung über alle Mikrozustände berechnet. Aufgrund der hier angedeuteten gewaltigen Anzahl an Mikrozuständen werden diese Erwartungswerte für alle praktischen Zwecke mit Sicherheit angenommen.

3.2.2

Abgeschlossene Systeme ohne Materialaustausch: die kanonische Gesamtheit

Die kanonische Gesamtheit ist eine der wichtigsten Größen der statistischen Theorie. Um diesem abstrakten Begriff eine Bedeutung zu verleihen, betrachten wir ein großes, abgeschlossenes System. In einem Gedankenexperiment wird dieses durch Einschieben einer Wand an einer beliebigen Stelle in zwei Subsysteme, 1 und 2, geteilt. Die allermeisten Wechselwirkungen zwischen den Bestandteilen der Systeme 1 und 2 sind von kurzer Reichweite, daher ist die Änderung der Energie des Systems durch Einschieben der Wand vernachlässigbar gegen die Energien der Teilsysteme. Genau betrachtet skalieren die Energien der Teilsysteme mit der dritten Potenz der linearen Ausdehnung der Systeme und die vernachlässigte Wechselwirkungsenergie zwischen den beiden Systemen nur mit der zweiten Potenz der Ausdehnung. Somit gilt:

$$E_g = E_1 + E_2$$

Außerdem sind die beiden Teilsysteme nach Einschieben der Wand voneinander statistisch unabhängig. Selbst ohne diese Wand gilt dies näherungsweise, sofern die Reichweiten der Wechselwirkungen im System sehr viel kleiner als die betrachteten Systemgrößen sind. Die Größe ϱ gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Wert E der Energie gefunden wird. Aufgrund der statistischen Unabhängigkeit der Teilsysteme folgt:

$$\rho(E_g) = \rho(E_1)\rho(E_2)$$

bzw.

$$\ln(\rho(E_g)) = \ln(\rho(E_1)) + \ln(\rho(E_2))$$

Da die Aufteilung in Subsysteme völlig willkürlich erfolgte, sind beide Beziehungen nur dann gleichzeitig erfüllbar, falls

$$\rho(E) = \frac{\exp(-\beta E)}{Z} \quad (3.18)$$

gilt. Hierbei muss die Konstante β für alle möglichen Teilsysteme denselben Wert annehmen. Die Konstante Z ergibt sich durch die Normierung der Gesamtwahrscheinlichkeit auf 1 zu

$$Z = \sum_n \exp(-\beta E_n) \quad (3.19)$$

Die Summe läuft über alle Quantenzustände des Systems, d. h. die Quantenzahl n ist im Allgemeinen ein hochdimensionaler Vektor, der alle Quantenzahlen des Systems beinhaltet. Die Größe Z heißt *Zustandssumme* und ist eine der zentralen Größen der statistischen Theorie der Wärme, da sich aus ihr sämtliche thermodynamischen Größen ableiten lassen. Die Wahrscheinlichkeit⁵⁾ p_i der Realisierung eines bestimmten Mikrozustands i mit der Energie E_i ist gegeben durch

5) Das Symbol p wird auch für den Druck gebraucht.

$$p_i = \frac{\exp(-\beta E_i)}{Z} \quad (3.20)$$

Wie in Anhang 3.B durch Herleitung des idealen Gasgesetzes gezeigt wird, ist die Größe β gegeben durch

$$\beta = \frac{1}{k_B T} \quad (3.21)$$

Für viele Anwendungen sehr wichtig sind Systeme, die aus nicht oder sehr schwach wechselwirkenden Teilchen bestehen. Beispiele sind das ideale Gas, Gasgemische und verdünnte Lösungen. In solchen Systemen sind die quantenmechanischen Eigenzustände des Gesamtsystems als Produkte von Einteilchen-Wellenfunktionen gegeben.

$$\Psi_n = \Psi_{n1}(r_1) \cdot \Psi_{n2}(r_2) \cdot \Psi_{n3}(r_3) \cdots \Psi_{nN}(r_N) \quad (3.22)$$

d. h. bei der Summation über alle möglichen Quantenzustände des Gesamtsystems erhält man einfach ein Produkt

$$\begin{aligned} Z &= \sum_{n_1, n_2, \dots} \exp[-\beta(E_{n1} + E_{n2} + \dots + E_{nN})] \\ &= \left(\sum_{n_1} \exp(-\beta E_{n1}) \right) \left(\sum_{n_2} \exp(-\beta E_{n2}) \right) \cdots \left(\sum_{n_N} \exp(-\beta E_{nN}) \right) \end{aligned}$$

Somit ergibt sich für N identische, aber unterscheidbare Teilchen, deren Wechselwirkung vernachlässigbar ist:

$$Z = Z_1^N \quad (3.23)$$

wobei Z_1 die Zustandssumme für ein einzelnes Teilchen bedeutet. Allerdings sind die einzelnen Atome einer Sorte quantenmechanisch ununterscheidbar. Das Pauli-Prinzip verlangt daher, dass die Wellenfunktion des Gesamtsystems bezüglich der Vertauschung von Teilchen symmetrisch (für Bosonen) bzw. antisymmetrisch (für Fermionen) sein muss. Mit anderen Worten: Alle Quantenzustände des Vielteilchensystems gemäß Gleichung (3.22), bei denen dieselben Quantenzahlen n_i in verschiedener Reihenfolge auftauchen, bezeichnen in Wirklichkeit denselben Mikrozustand. Da die insgesamt N Quantenzahlen auf $N!$ Weisen umsortiert werden können, ergibt sich bei ununterscheidbaren Teilchen eine Reduktion in der Anzahl der quantenmechanischen Zustände (d. h. der Zahl der Mikrozustände) um diesen Faktor

$$Z = \frac{1}{N!} Z_1^N \quad (3.24)$$

Die Tatsache, dass zwei Fermionen nicht in identischen Quantenzuständen vorliegen können, spielt bei Raumtemperatur keine Rolle⁶⁾, da für jedes Teilchen ext-

6) Dies gilt natürlich nicht für Elektronen in Festkörpern und Molekülen, die sämtliche

Quantenzustände bis zur Energie von mehreren Elektronenvolt lückenlos besetzen.

rem viele Zustände zugänglich sind und Doppelbesetzungen somit einen vernachlässigbaren Anteil ausmachen.

Die im Anhang berechnete Zustandssumme eines idealen Gases mit N identischen Teilchen im Volumen V lautet

$$Z = \frac{1}{N!} \left(\frac{V}{\lambda_{\text{th}}^3} \right)^N \quad (3.25)$$

wobei wir die thermische de Broglie-Wellenlänge λ_{th} verwendet haben. Diese ist die quantenmechanische Wellenlänge eines Teilchens mit der kinetischen Energie $\pi k_B T$

$$\lambda_{\text{th}} = \frac{h}{\sqrt{2\pi m k_B T}} \quad (3.26)$$

Die thermischen Wellenlängen sind für alle chemischen Elemente im Temperaturbereich, der für die Biologie relevant ist, sehr klein. So ergibt sich selbst für ein Wasserstoff-Atom bei 0°C nur $0,1 \text{ nm}$ als thermische Wellenlänge. Die thermischen Wellenlängen der Moleküle sind also deutlich kleiner als die Abstände zwischen den Molekülen. Daher dürfen wir für biologische Fragestellungen stets mit klassischer Statistik rechnen. Wie wir später sehen werden, gelten Gleichung (3.25) und alle Eigenschaften des idealen Gases, die wir daraus in den folgenden Abschnitten ableiten werden, sinngemäß auch für verdünnte Lösungen. In diesem Fall wird der Druck durch den osmotischen Druck ersetzt und das chemische Potenzial wird um eine additive Konstante erweitert.

Mithilfe der Zustandssumme des idealen Gases können wir jetzt auch die Innere Energie des idealen Gases berechnen. Da die Innere Energie nichts weiter als der Erwartungswert der mikroskopischen Gesamtenergie des Systems ist, folgt aus Gleichung (3.20) und der Definition der Zustandssumme (Gl. 3.19):

$$U = \langle E \rangle = \sum_n E_n p_n = - \frac{\partial \ln Z}{\partial \beta} = \frac{3N}{2} k_B T \quad (3.27)$$

Dies bedeutet, dass die Innere Energie eines idealen Gases pro Teilchen und Freiheitsgrad unabhängig vom Volumen ist und gerade $k_B T/2$ beträgt. Dies ist ein Sonderfall des *Gleichverteilungssatzes der klassischen Thermodynamik*. Er gilt für alle Systeme, bei denen wir mit klassischer Mechanik rechnen können, und besagt, dass für jeden Freiheitsgrad, der quadratisch in die mikroskopische Energie des Systems eingeht, der thermische Erwartungswert der Energie $k_B T/2$ beträgt. Dieser Satz wird in einer Übungsaufgabe bewiesen und beschreibt zum Beispiel die mittleren Amplituden der kollektiven Anregungsmodi von Proteinen (siehe Kapitel 7) und Membranen (siehe Kapitel 11).

Eine häufig gebrauchte, aber aufwendig herzuleitende Näherung für die Zustandssumme ist die *quasiklassische Näherung*. In ihr wird die quantenmechanische Zustandssumme durch das klassische *Zustandsintegral* ersetzt. Sie gilt für alle Fälle, in denen Quanteneffekte unbedeutend sind. Näheres ist zum Beispiel in den zitierten Lehrbüchern von Hill und Landau zu finden. In dieser Näherung

gilt für ein System aus N ununterscheidbaren Teilchen mit den Ortskoordinaten q und Impulskoordinaten p :

$$Z = \int \frac{\exp\left(-\frac{H(p,q)}{k_B T}\right)}{N! h^{3N}} d^{3N}p d^{3N}q \quad (3.28)$$

wobei das Integral über alle möglichen Orte und Impulse aller Teilchen läuft und $H(p,q)$ die Hamiltonfunktion des Systems ist. Diese ist bei den hier betrachteten Systemen gleich der Gesamtenergie der Teilchen.

Bis hier haben wir bereits zwei wesentliche Größen der Thermodynamik, Temperatur und Innere Energie, mithilfe der statistischen Beschreibung abgeleitet. Als letzte wesentliche Größe fehlt uns noch die Entropie S . Hierzu untersuchen wir das Differenzial von $\ln Z$ und versuchen eine Formulierung zu finden, die mit dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik in der Form (Gl. 3.4)

$$dU = -pdV + TdS$$

vergleichbar ist.

Die Zustandssumme Z hat zwei natürliche Variablen, V und β (bzw. T), daher gilt:

$$d(\ln Z) = \frac{\partial \ln Z}{\partial V} dV + \frac{\partial \ln Z}{\partial \beta} d\beta$$

Die beiden partiellen Ableitungen des Logarithmus der Zustandssumme werden in Anhang 3.A und Anhang 3.B bestimmt. Aus diesen beiden Gleichungen ergibt sich

$$d(\ln Z) = \beta pdV - Ud\beta$$

Mithilfe der mathematischen Identität $d(\beta U) = \beta dU + Ud\beta$ können wir folgende Gleichung ableiten:

$$d(\ln Z + \beta U) = \beta pdV + \beta dU$$

woraus sofort folgt:

$$dU = -pdV + k_B T d(\ln Z + \beta U)$$

Dies entspricht dem ersten Hauptsatz der Thermodynamik, falls wir das zweite Differenzial auf der rechten Seite mit TdS identifizieren bzw. falls wir die Entropie mit folgender statistischen Größe gleichsetzen:

$$S = k_B (\ln Z + \beta U) \quad (3.29)$$

Diese Gleichung bedeutet gleichzeitig

$$F = U - TS = -k_B T \ln Z \quad (3.30)$$

Wir haben also gleichzeitig mit der statistischen Interpretation der Entropie auch eine sehr kompakte Beziehung für die Freie Energie eines Systems hergeleitet. Die Gleichungen (3.29) und (3.30) erlauben die Bestimmung aller thermodyna-

mischen Größen für alle Fälle, in denen die Zustandssumme (näherungsweise) berechenbar ist.

Mithilfe dieser Beziehung und der Zustandssumme des idealen Gases (Gl. 3.25) können wir leicht die Zustandsgleichung des idealen Gases ableiten.

$$p = - \left. \frac{\partial F}{\partial V} \right|_{N,T} = k_B T \left. \frac{\partial \left(\ln \frac{Z_1^N}{N} \right)}{\partial V} \right|_{N,T} = k_B T \frac{N}{V}$$

Dasselbe gilt für das chemische Potenzial des idealen Gases:

$$\mu = - \left. \frac{\partial F}{\partial N} \right|_{V,T} = k_B T \left. \frac{\partial \left(\ln \frac{Z_1^N}{N} \right)}{\partial N} \right|_{V,T} = k_B T \ln \left(\frac{N}{V} \lambda_{th}^3 \right) \quad (3.31)$$

Das chemische Potenzial eines idealen Gases ist also durch den Logarithmus des Erwartungswertes der Teilchenzahl innerhalb eines Würfels mit der thermischen Wellenlänge als Kantenlänge gegeben. Für Gase bei Normaldruck und 0 °C liegen diese Erwartungswerte im Bereich von 10^{-13} bis 10^{-11} . Somit sind die chemischen Potenziale von der Größenordnung -25 bis -30 thermische Energien und variieren sehr stark mit der Dichte des Gases.

3.2.3

Reale Gase: die van der Waals-Gleichung

Bisher haben wir hauptsächlich das ideale Gas als Modellsystem betrachtet. Reale Gase wie Ar, N₂ oder CO₂ können für die meisten Zwecke als ideales Gas beschrieben werden, jedoch zeigen genaue Messungen doch merkliche Abweichungen vom idealen Verhalten. Dies liegt an den physikalischen Wechselwirkungen zwischen den Gasmolekülen, welche wir in Kapitel 7 eingehend behandeln werden. Eine gute Näherung für die Zustandsgleichung eines realen Gases wurde bereits 1873 von van der Waals entwickelt. Wie wir gegen Ende von Kapitel 3 zeigen werden, können gelöste Moleküle analog zu Gasen beschrieben werden. Daher kann man die van der Waals-Gleichung auch näherungsweise auf den osmotischen Druck anwenden, was sie für die biologische Physik interessant macht. Außerdem werden wir in Kapitel 7 die hier präsentierte Behandlung des realen Gases abwandeln, um effektive Wechselwirkungen in Lösungen zu behandeln.

Streng genommen müsste zur Berechnung der Freien Energie eines realen Gases die volle Zustandssumme, Gleichung (3.19), berechnet werden. Da die lokale Geometrie, d. h. die Orte der nächsten Nachbarn, für jedes Molekül leicht verschieden ist, erfordert dies sehr aufwendige Rechnungen. Van der Waals erkannte jedoch, dass die einzelnen Moleküle eines realen Gases in sehr guter Näherung als ununterscheidbare, identische Teilchen beschrieben werden können. Daher kann die Zustandssumme wieder in der Einteilchen-Näherung (Gl. 3.24) angegeben werden. Die Einteilchen-Zustandssumme Z_1 hierfür erhalten wir aus der klassischen Näherung (Gl. 3.28):

$$Z_1 = \int \frac{1}{h^3} \exp\left(-\frac{p^2}{2mk_B T} - \frac{U_{\text{eff}}(r)}{k_B T}\right) d^3 p d^3 r$$

Allerdings müssen wir jetzt das Wechselwirkungspotenzial der Moleküle durch ein gemittelttes effektives Potenzial U_{eff} ersetzen. Da die Atome sehr verdünnt vorliegen, können wir uns bei den folgenden Überlegungen auf die Wechselwirkung eines Moleküls mit seinem nächsten Nachbarn beschränken. Das Wechselwirkungspotenzial $U(r)$ zwischen zwei Gasmolekülen muss bei Überlappung der Elektronenwolken der Moleküle stark abstoßend sein. Dies werden wir als sterische Wechselwirkung in Kapitel 7 genauer besprechen. Wie wir dort auch zeigen werden, ergibt sich außerhalb dieses Bereichs der starken Abstoßung eine schwache Anziehung gemäß $(r_0/r)^6$. Für die Berechnung des oberen Zustandsintegrals berücksichtigen wir die starke Abstoßung dadurch, dass wir annehmen, dass sich das Teilchen niemals innerhalb des durch die anderen Moleküle im Gas ausgeschlossenen Volumens V_a befindet. Da jedes der N Moleküle gleich zum ausgeschlossenen Volumen beiträgt, gilt mit einem konstanten Volumen-Term b' :

$$V_a = Nb'$$

Für kugelförmige Atome beträgt b' gerade das vierfache Volumen der Kugel, da sich die Mittelpunkte nur bis zum doppelten Radius annähern können.

Zur Berechnung des effektiven Potenzials im anziehenden Teil des Potenzials nehmen wir an, dass die Moleküle bei diesen Abständen gleichverteilt sind und ersetzen zusätzlich das effektive Potenzial durch einen konstanten Mittelwert. Dieser Mittelwert des Potenzials kann als räumliches Integral über das Produkt aus Aufenthaltswahrscheinlichkeit (N/V) und Potenzial genähert werden. Dieses Integral konvergiert für alle Wechselwirkungspotenziale, die schneller als r^{-3} abfallen, und liefert dann einen konstanten Wert, d. h.

$$U_{\text{eff}} = -a' \frac{N}{V}$$

Durch das negative Vorzeichen haben wir berücksichtigt, dass es sich normalerweise um eine attraktive Wechselwirkung handelt.

Gemeinsam mit einer einfachen Integration über den Impuls liefern diese Überlegungen:

$$Z = \frac{1}{N! h^{3N}} \left[(2\pi m k_B T)^{3/2} (V - Nb') \exp\left(\frac{Na'}{V k_B T}\right) \right]^N$$

Aus dieser Beziehung für die Zustandssumme können wir mittels Gleichung (3.30) die Freie Energie berechnen und aus dieser wiederum aufgrund von Gleichung (3.7) den Druck. Diese Rechnung ergibt:

$$p = \frac{k_B T N}{V - b' N} - a' \frac{N^2}{V^2}$$

Aus dieser Gleichung erhalten wir unter Verwendung von n für die Teilchendichte N/V die van der Waals-Gleichung in ihrer üblichen Form:

$$(p + a'n^2)(n^{-1} - b') = k_B T \quad (3.32)$$

Für reale Gase ersetzt dieser Ausdruck das ideale Gasgesetz (Gl. 3.1). Die van der Waals-Gleichung beschreibt den Zustand realer Gase mit hoher Genauigkeit. Für die Größen a' und b' haben sich die Namen *Kohäsionsdruck* und *Kovolumen* eingebürgert. Für Gase sind Kohäsionsdrücke von der Größenordnung 10^{-50} Jm^3 , Kovolumina liegen im Bereich von 10^{-30} m^3 . Beide Größen werden empirisch bestimmt.

3.2.4

Der Entropiebegriff für Mikrozustände

Die Entropie ist bisher nur für Makrozustände, d. h. thermodynamisch, definiert. Der Entropiebegriff kann aber auch auf Mikrozustände ausgedehnt werden. Aus der Gleichung (3.30) folgt unter Verwendung von (3.19):

$$\begin{aligned} S &= k_B (\ln Z + \beta U) = k_B \left(\ln Z + \beta \frac{\sum_n E_n \exp(-\beta E_n)}{Z} \right) \\ &= k_B \frac{\sum_n (\beta E_n + \ln Z) \exp(-\beta E_n)}{Z} \\ &= -k_B \frac{\sum_n \left[\ln \left(\frac{\exp(-\beta E_n)}{Z} \right) \right] \exp(-\beta E_n)}{Z} = -k_B \left\langle \ln \left(\frac{\exp(-\beta E_n)}{Z} \right) \right\rangle \end{aligned}$$

Hierbei laufen die Summen stets über alle möglichen Quantenzustände des Systems. Außerdem haben wir die Tatsache, dass die Innere Energie U der Erwartungswert der Energie des Systems ist, benutzt. Die Größe $\frac{\exp(-\beta E_n)}{Z}$ ist p_n , die Wahrscheinlichkeit, dass der Quantenzustand n im thermischen Gleichgewicht besetzt ist. Die Entropie ist also nichts anderes als der thermische Erwartungswert des Logarithmus der Besetzungszahl der Quantenzustände multipliziert mit der Konstante $-k_B$:

$$S = -k_B \langle \ln p_n \rangle \quad (3.33)$$

Somit kann jedem Mikrozustand ebenfalls eine mikroskopische Entropie zugeordnet werden. Diese ist einfach durch das Produkt aus $-k_B$ und dem Logarithmus der thermischen Besetzungswahrscheinlichkeit dieses Zustands gegeben.

Für ein System, bei dem alle Zustände dieselbe Energie aufweisen (mikrokanonische Gesamtheit), ergibt sich daraus einfach, dass die Entropie gerade das Produkt aus Boltzmannscher Konstante und dem Logarithmus der Zahl der Zustände ist. Diese Identität hatte Ludwig Boltzmann als wesentliche Verknüpfung zwischen makroskopischer Thermodynamik und seiner damals revolutionären mikroskopischen Theorie hergeleitet. In der Form $S = k \ln \Omega$ wobei Ω das Volumen des Phasenraums, in dem die Mikrozustände des Systems liegen, bezeichnet, ist sie wahrscheinlich eine der bestbekanntesten Beziehungen der statistischen

Physik. Anschaulich bedeutet dies, dass die Entropie ein Maß für die Unordnung des Systems ist, denn je ungeordneter ein System makroskopisch ist, desto mehr mikroskopische Zustände sind mit dieser Unordnung verträglich. Das Phasenraumvolumen eines Systems wächst also mit der Unordnung.

3.2.5

Systeme mit Teilchenaustausch: die großkanonische Gesamtheit

Bisher hatten wir Systeme mit fester Teilchenzahl betrachtet. Zur Behandlung von chemischen Reaktionen und Stoffumwandlungen müssen wir uns von dieser Einschränkung lösen. Deswegen betrachten wir jetzt zwei Systeme, die sowohl Energie als auch Teilchen austauschen können. Diese Konstruktion heißt auch Großkanonisches Ensemble (Abb. 3.6). In einem solchen System gibt es zwei Erhaltungsgrößen: Gesamtenergie und Gesamtteilchenzahl.

Hier gelten völlig analoge Überlegungen wie im Fall der kanonischen Verteilung. Insbesondere gilt auch hier, dass das Gesamtsystem willkürlich in zwei Subsysteme geteilt werden kann. Da die beiden Subsysteme sich nur sehr schwach beeinflussen, d. h. in sehr guter Näherung statistisch unabhängig sind, ergibt sich für die Wahrscheinlichkeit eines Zustands des Gesamtsystems wieder das Produkt der Wahrscheinlichkeiten der korrespondierenden Zustände der Teilsysteme. Mit völlig analogen Überlegungen wie im Fall der kanonischen Verteilung können wir die thermische Wahrscheinlichkeiten der Mikrozustände herleiten. Hierbei sind die Mikrozustände charakterisiert durch die Quantenzahl n , die dazugehörige Energie E_n und die Teilchenzahl N . Es gilt für die Wahrscheinlichkeit ρ :

$$\rho(E_n, N) = \frac{\exp(-\alpha N - \beta E_n)}{Y} \quad (3.34)$$

Hierbei müssen wiederum die Größen α und β in beiden beliebig gewählten Teilsystemen identisch sein. Die Großkanonische Zustandssumme Y tritt hier als Normierungskonstante auf:

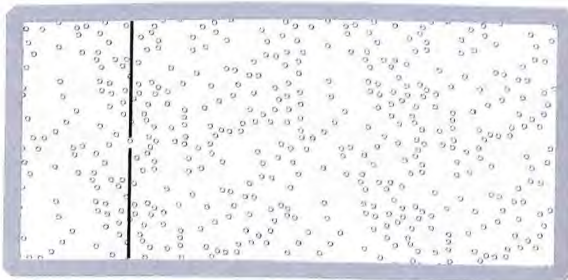


Abb. 3.6 Zur Ableitung der großkanonischen Verteilung betrachten wir ein System, das mit einem sehr viel größeren System Wärme und Teilchen austauschen kann. Das Gesamtsystem ist hermetisch abgeschlossen. Ein Beispiel wäre eine Zelle (z. B. Hefe) in einer Thermosflasche voll Zellkulturmedium.

$$Y = \sum_{N=0}^{\infty} \sum_n \exp(-\alpha N - \beta E_n) \quad (3.35)$$

In der großkanonischen Zustandssumme läuft N über alle möglichen Teilchenzahlen und n über alle möglichen Quantenzustände des Systems mit N Teilchen. Falls mehrere Teilchensorten vorhanden sind, ist die erste Summe in dieser Gleichung durch eine Mehrfachsumme über die Teilchenzahlen aller Sorten zu ersetzen. Die Größe β in Gleichung (3.34) ist wie bisher durch die Temperatur gegeben. Wir hatten bereits früher gesehen, dass sich die Größe β durch die Randbedingung der Energieerhaltung ergab und für alle Teilsysteme gleich sein muss.

Die Größe α in Gleichung (3.34) ergibt sich durch die Randbedingung der Teilchenzahlerhaltung und ist ebenfalls eine Größe, die in allen Subsystemen denselben Wert annimmt. Eine solche Größe hatten wir mit dem chemischen Potenzial bereits in der makroskopischen Thermodynamik kennengelernt. Somit liegt der Verdacht nahe, dass α mit dem chemischen Potenzial μ der Teilchen zusammenhängt. Wir werden diesem Verdacht im Folgenden nachgehen. Dazu definieren wir ein thermodynamisches Potenzial J , das interessanterweise keinen eindeutigen Namen hat. Wir werden es deswegen im Folgenden das großkanonische Potenzial nennen.

$$J = -k_B T \ln Y \quad (3.36)$$

Die Funktion J hängt nur von α , β und dem Volumen V_{ab} . Wie vorher lassen sich aus den Gleichungen (3.35) und (3.36) die thermischen Erwartungswerte für Teilchenzahl, Druck und Innere Energie U berechnen. Völlig analog wie bei der Herleitung des Differenzials der Freien Energie (Gl. 3.30) kann man auch das Differenzial des großkanonischen Potenzials J durch die üblichen thermodynamischen Variablen Temperatur, Volumen und chemisches Potenzial darstellen. Herleitungen finden sich in den Lehrbüchern von Becker, Landau und Hill.

$$dJ = -SdT - pdV - Nd\mu$$

An diesem Differenzial erkennt man, dass das großkanonische Potenzial J analog zur Freien Energie zu sehen ist, allerdings mit vorgegebenem chemischen Potenzial μ anstelle der Teilchenzahl N .

Es ergibt sich im Rahmen dieser Ableitung:

$$\beta = \frac{1}{k_B T}; \quad \alpha = -\frac{\mu}{k_B T}$$

sowie

$$Y = \sum_{N=0}^{\infty} \sum_n \exp\left(-\frac{E_n - \mu N}{k_B T}\right) \quad (3.37)$$

Bevor wir diese Beziehungen weiter ausnützen, wenden wir uns noch einer wichtigen Verallgemeinerung zu. In einigen wichtigen Systemen treten äußere Felder auf, die an bestimmte Teilcheneigenschaften koppeln und die Energieeigenzustände der Teilchen verschieben. Das wohl wichtigste Beispiel sind geladene Teil-

chen in elektrischen Feldern. Hierbei wird in guter Näherung die Energie der Quantenzustände E_n in Abwesenheit des äußeren Feldes um die potenzielle Energie qU_{el} (q : Ladung der Teilchen, U_{el} : elektrostatisches Potenzial am Teilchenort) verschoben. Völlig analog können auch Teilchen im Schwerfeld betrachtet werden. Hierbei ist die potenzielle Energie gegeben durch $-mgh$, mit der Partikelmasse m , der Beschleunigung im Schwerfeld g und der Höhe h über dem Referenzpunkt.

Sämtliche bisher präsentierten Rechnungen können mit diesen Zusatztermen reproduziert werden. Für Teilchen im elektrischen Potenzial ergibt sich somit als Wahrscheinlichkeit eines Zustands:

$$\rho(E_n, N) = \frac{1}{Y} \exp\left(\frac{(\mu - qU_{el})N - E_n}{k_B T}\right) \quad (3.38)$$

mit

$$Y = \sum_{N=0}^{\infty} \sum_n \exp\left(-\frac{E_n - (\mu - qU_{el})N}{k_B T}\right) \quad (3.39)$$

Durch Einführen des äußeren Potenzials U_{el} wird das chemische Potenzial μ verändert. Die gesamte Teilchenzahl ändert sich aber nicht. Damit sich in Anwesenheit eines elektrischen Potenzials dieselbe Teilchenzahl wie in Abwesenheit ergibt, muss gelten:

$$\mu_{ec} = \bar{\mu} + qU_{el} \quad (3.40)$$

wobei μ_{ec} das chemische Potenzial in Anwesenheit des Feldes bezeichnet und $\bar{\mu}$ das chemische Potenzial in Abwesenheit des Feldes. Das chemische Potenzial in Anwesenheit des äußeren elektrischen Feldes, μ_{ec} , heißt auch *elektrochemisches Potenzial*. Gleichung (3.40) gibt an, wie das chemische Potenzial in Anwesenheit von elektrischen Feldern aus dem „normalen“ chemischen Potenzial zu berechnen ist. Insbesondere gilt auch für das elektrochemische Potenzial, dass es für eine gegebene Teilchensorte in allen zugänglichen Phasen konstant ist und denselben Wert hat. Dies beschreibt zum Beispiel in einer Batterie den Zusammenhang zwischen Konzentrationen der Ladungsträger in den Halbzellen der Batterie und dem elektrischen Potenzial (s. den Abschnitt über Redoxreaktionen in Kapitel 4 sowie die Diskussion der Membranpotenziale in Kapitel 14). Als Randbemerkung sei hier angemerkt, dass das elektrochemische Potenzial der Elektronen in Festkörpern als *Fermi-Energie* bezeichnet wird und die Eigenschaften der Halbleiter bestimmt.

3.2.6

Chemische Potenziale in verdünnten Lösungen

In diesem Abschnitt behandeln wir Lösungen eines Stoffes und leiten Näherungsformeln für die chemischen Potenziale des Lösungsmittels und des gelösten Stoffes her. Diese Ausdrücke sind von entscheidender Bedeutung für die Bio-

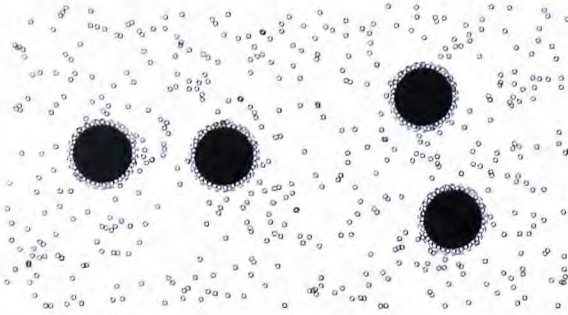


Abb. 3.7 Schematische Darstellung einer verdünnten Lösung. Der gelöste Stoff (große, gefüllte Kreise) kommt in sehr engen Kontakt mit den Lösungsmittelmolekülen (kleine, offene Kreise). Dabei wird oft eine Schicht aus Lösungsmittelmolekülen gebunden. Allerdings begegnen sich die gelösten Moleküle selten.

physik, da praktisch jede biologische Flüssigkeit viele gelöste Substanzen enthält und die Verteilung dieser Substanzen von deren chemischen Potenzialen bestimmt wird. Außerdem erfolgen fast alle biochemischen Reaktionen in Lösungen. Da die Lage der entsprechenden chemischen Gleichgewichte von den chemischen Potenzialen der Reaktionspartner bestimmt wird, werden uns die Ergebnisse dieses Abschnitts erlauben, chemische Gleichgewichte zu berechnen.

Eine Lösung besteht aus n_L Molekülen des Lösungsmittels und n_g Molekülen des gelösten Stoffs in einem Volumen V (Abb. 3.7). Die Konzentrationen werden durch die Molenbrüche der Stoffe beschrieben:

$$x_L = \frac{n_L}{n_L + n_g}$$

$$x_g = \frac{n_g}{n_L + n_g}$$

wobei der Index L stets für das Lösungsmittel steht und g für die gelöste Substanz.

Die gelösten Moleküle kommen in sehr engen Kontakt mit dem Lösungsmittel. Es kommt dabei meist zur Ausbildung einer Schicht von stark mit dem gelösten Stoff wechselwirkenden Lösungsmittelmolekülen. So besitzen die allermeisten Ionen eine Schicht von Wassermolekülen, die durch Wasserstoffbrücken-Bindungen und elektrostatische Wechselwirkungen gebunden sind. Diese Schicht heißt Hydrathülle. Proteine binden Wasser auch im Inneren ihrer Struktur.

Zusätzlich zu den Molenbrüchen werden für Lösungen von Makromolekülen auch generell die Volumenbrüche φ verwendet. Bezeichnen wir das Volumen, das ein einzelnes gelöstes Molekül mit seiner Hydrathülle einnimmt, als v_0 , so ergibt sich für den Volumenbruch φ :

$$\varphi = \frac{n_g v_0}{V}$$

Normalerweise arbeitet man mit Proteinen bei mikromolaren Konzentrationen. Selbst eine 1 mM Lösung eines Proteins mit einem Molekulargewicht von 10^5 g/mol weist einen Molenbruch des gelösten Proteins von $1,8 \cdot 10^{-5}$ auf, aber einen Volumenbruch von 0,07. In dieser Abschätzung haben wir die Tatsache benutzt, dass die Dichte von hydratisierten Proteinen meistens sehr nahe an $1,37$ g/cm³ liegt. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei gelöste Moleküle in Kontakt kommen, ist in der einfachsten Näherung durch den Volumenbruch gegeben. Kontakte zwischen gelösten Molekülen sind also in der Tat recht unwahrscheinlich.

Wir wenden uns jetzt zuerst einer mikroskopischen Herleitung der chemischen Potenziale in verdünnten Lösungen zu. Eine rigorose Behandlung von wässrigen Lösungen ist zum derzeitigen Zeitpunkt nicht in Sicht, da letztendlich die Eigenschaften von flüssigem Wasser nicht genügend verstanden sind. Somit kann die volle Zustandssumme von verdünnten Lösungen nicht berechnet werden. Allerdings kann man sich mit einem thermodynamischen Zugang behelfen. Hierbei gehen wir von der Freien Enthalpie G aus, deren natürliche Variablen Temperatur, Druck und Teilchenzahl sind. Es gilt:

$$G(T,p,N) = U - TS + pV$$

$$dG = -SdT + Vdp + \sum_{i=1}^n \mu_i dN_i$$

wobei der Index i die verschiedenen gelösten Stoffe bezeichnet.

Wir werden in der folgenden Herleitung nur einen gelösten Stoff betrachten, die notwendige Verallgemeinerung auf mehrere Komponenten ist sehr einfach. Als Referenzzustand für unsere Herleitung werden wir das reine Lösungsmittel betrachten, d. h. im Referenzzustand gilt $n_g = 0$. Nach der Gibbs-Duhem-Beziehung (s. Anhang 3.C) ist die Freie Enthalpie dieses Referenzzustands gegeben durch:

$$G = \mu_L n_L$$

bzw. identisch zur molekularen Freien Enthalpie des Lösungsmittels. Durch Hinzufügen eines einzigen Moleküls des gelösten Stoffs ändert sich die Freie Enthalpie um einen Betrag a_g . Dieser Betrag beinhaltet zum Beispiel den Aufbau der Hydratisierungshülle der Substanz. Es wäre jetzt naheliegend, aber falsch, anzunehmen, dass sich die Freie Enthalpie des Systems durch die Lösung von n_g Teilchen einfach um $n_g a_g$ ändern würde. Diese naive Annahme vernachlässigt die Ununterscheidbarkeit der gelösten Teilchen einer Substanz. Um diesem Umstand Rechnung zu tragen, muss die Zustandssumme durch $n_g!$ geteilt werden. Dies wurde bereits bei der Diskussion von Gleichung (3.24) besprochen. Wir beschreiben also Teilchen des gelösten Stoffs, die in geringer Dichte vorliegen, als unabhängige Teilchen. Die Zustandssumme wird durch Gleichung (3.24) angenähert. Deswegen müssen sowohl Freie Energie als auch Freie Enthalpie des Gesamtsystems den additiven Term $k_B T \ln(n_g!)$ enthalten. Wir erhalten also folgende Näherung für die Freie Enthalpie der Lösung:

$$G = n_L \mu_L^0(p, T) + n_g \alpha_g(p, T, n_L) + k_B T \ln n_g!$$

Hierbei wurden die Abhängigkeiten der chemischen Potentiale explizit angegeben. Für das Lösungsmittel ist der Referenzzustand die reine Flüssigkeit, deren Zustand nur von Druck und Temperatur abhängt. Der Referenzzustand des gelösten Stoffs muss neben diesen Parametern natürlich auch von der Art des Lösungsmittels abhängen, da wir hier auch die Hydratisierungshülle berücksichtigen müssen. Unter Benützung der Stirlingschen Formel $\ln n! \approx n \ln n - n$, die für große n näherungsweise gilt, erhalten wir:

$$\begin{aligned} G &= n_L \mu_L^0 + n_g (\alpha_g + k_B T \ln n_g - k_B T) \\ &= n_L \mu_L^0 + n_g k_B T \ln \left(n_g \exp \left(\frac{\alpha_g}{k_B T} \right) \right) - n_g k_B T \end{aligned}$$

Zur weiteren Ableitung müssen wir uns über die Eigenschaften der Funktion $\varphi = \exp \left(\frac{\alpha_g}{k_B T} \right)$ klar werden. Vergrößert oder verkleinert man das Gesamtsystem um einen beliebigen Faktor, indem man z. B. Teilchenzahl und Volumen verdoppelt, so muss sich auch die Freie Enthalpie um denselben Faktor ändern. Das heißt, es muss mit beliebigem λ gelten:

$$G(\lambda n_g, \lambda n_L) = \lambda G(n_g, n_L)$$

Dies ist nur erfüllbar, falls φ proportional zu $1/n_L$ ist⁷⁾. Daher können wir eine Funktion ψ einführen, die nur noch von Druck und Temperatur abhängt, gemäß:

$$\psi(p, T) = k_B T \ln(n_L \varphi(n_L, p, T))$$

Mit dieser Funktion erhält man:

$$G = n_L \mu_L^0(p, T) + n_g k_B T \ln \left(\frac{n_g}{n_L} \right) - n_g k_B T + n_g \psi(p, T)$$

Mit diesem expliziten Ausdruck für die Freie Enthalpie können wir jetzt die Abhängigkeit der chemischen Potentiale von den Teilchenzahlen berechnen.

$$\mu_g = \frac{\partial G}{\partial n_g} = \psi(p, T) + k_B T \ln \frac{n_g}{n_L}$$

$$\mu_L = \frac{\partial G}{\partial n_L} = \mu_L^0 - k_B T \frac{n_g}{n_L}$$

Die Funktion ψ ist also das chemische Potenzial für den gelösten Stoff unter Standardbedingungen μ_g^0 . Sie hängt natürlich von der Art des Lösungsmittels ab.

Die Herleitung dieser Gleichungen beruht nicht auf einem bestimmten mikroskopischen Modell, sondern nur auf der Tatsache, dass die gelösten Teilchen un-

7) Die zweite formal mögliche Lösung, $\varphi \propto n_g^{-1}$, vorhandenen Menge des Lösungsmittels abhängen muss. ist unphysikalisch, da der Gewinn an Freier Enthalpie bei Lösung eines Moleküls von der

unterscheidbar sind und verdünnt vorliegen. Daneben werden nur grundlegende Beziehungen der Thermodynamik und die Vernachlässigbarkeit quantenmechanischer Korrekturen verwendet. Daher sind diese Gleichungen auch sehr breit anwendbar.

Die oberen Gleichungen können leicht auf mehrere gelöste Molekülsorten verallgemeinert werden. In Anwesenheit von N gelösten Substanzen mit den Molenbrüchen x_i gilt

$$x_i = \frac{n_i}{n_L + \sum_{i=1}^N n_i} \quad (3.41)$$

$$\mu_L = \mu_L^0 - k_B T \sum_{i=1}^N x_i \quad (3.42)$$

$$\mu_i = \mu_i^0 + k_B T \ln x_i \quad (3.43)$$

Diese Gleichungen haben sich in der Praxis sehr bewährt. Durch die Anwesenheit gelöster Stoffe wird das chemische Potenzial des Lösungsmittels reduziert. Dies führt unter Anderem dazu, dass der Siedepunkt des Lösungsmittels erhöht und sein Gefrierpunkt erniedrigt wird. Bei kleinen Molenbrüchen der gelösten Substanzen ($x_i \ll 1$) hängt μ_L linear von der Summe aller Molenbrüche ab, während das chemische Potenzial einer gelösten Substanzen unabhängig von der Anwesenheit der anderen gelösten Stoffe ist und für $x_i \rightarrow 0$ logarithmisch divergiert.

Glücklicherweise gelten die Gleichungen (3.42) und (3.43) bei ungeladenen Stoffen bis zu relativ hohen Konzentrationen. Dies liegt daran, dass ein Liter Wasser 55,6 Mol Wasser enthält. Daher beträgt der Molenbruch einer einmolaren Lösung nur 0,018 und ist somit noch sehr klein. Abweichungen von diesem Gesetz treten für ionische Lösungen auf (s. Debye-Theorie in Abschnitt 6.3).

Hier sei noch erwähnt, dass Abweichungen vom idealen Verhalten für ungeladene Partikel durch die Virialentwicklung (eine Entwicklung der Zustandssumme nach Potenzen der Dichte) auf die thermisch gemittelte Wechselwirkung zwischen den gelösten Partikeln zurückgeführt werden können. In erster Näherung werden sie dann durch den Virialkoeffizienten erfasst. Dieses Thema wird ausführlich in den zitierten Lehrbüchern der Thermodynamik von Landau und Hill behandelt. Die Ergebnisse der Virialentwicklung erhält man auch durch eine Entwicklung der van der Waals-Gleichung nach Potenzen der Dichte. In Kapitel 24 wird die Virialentwicklung zur Beschreibung der Eigenschaften von makromolekularen Lösungen verwendet.

3.2.7

Der osmotische Druck

Ein lebenswichtiges Problem ist die Kontrolle des osmotischen Drucks der roten Blutzellen (Erythrozyten). Werden diese Zellen in Lösungen mit zu geringer oder zu hoher Konzentration an gelösten Stoffen gebracht, so schrumpfen oder

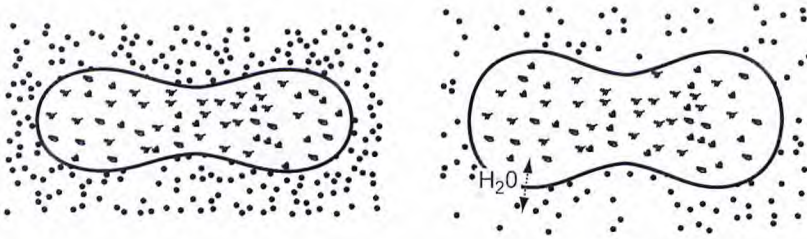


Abb. 3.8 Osmose bei Erythrozyten. Die Membran des Erythrozyten ist für Proteine und viele Ionen undurchdringlich, allerdings kann Wasser die Membran passieren. Bei Variation des äußeren Mediums erfolgt ein Transport von Wasser über die Membran, bis wieder ein Gleichgewicht erreicht ist.

schwellen sie (Abb. 3.8). Im Extremfall zerreißt sogar ihre Membran. Aus diesem Grund wird für medizinische Zwecke physiologische Kochsalzlösung als Trägerlösung für Infusionen benutzt. In diesem Abschnitt wollen wir den Hintergrund dieses Verhaltens betrachten.

Erythrozyten enthalten in ihrem Inneren eine fast gesättigte Lösung des Proteins Hämoglobin, das den Sauerstoff im Blut transportiert. Im äußeren Medium, d. h. normalerweise im Blutplasma, befinden sich ebenfalls viele Partikel. Die allermeisten dieser Stoffe können die Erythrozytenmembran nicht durchdringen. Wasseraustausch ist aber sehr wohl möglich. Da nur ein Teil der Freiheitsgrade relaxieren kann, handelt es sich um ein *gehindertes Gleichgewicht*. Bei Veränderung des äußeren Mediums strömt Wasser durch die Membran, bis ein neues Gleichgewicht erreicht ist. Nach den früheren Ergebnissen (Gl. 3.16) muss das chemische Potenzial des Wassers innerhalb und außerhalb des Erythrozyten gleich sein. Ebenso ist die Temperatur in diesem System konstant. Da die Membran des Erythrozyten eine mechanische Spannung ausüben kann, sind allerdings Druckunterschiede zwischen dem inneren und dem äußeren Medium möglich.

Das chemische Potenzial μ des Wassers innerhalb des Erythrozyten beträgt nach Gleichungen (3.41) und (3.42):

$$\mu_E = \mu_w^0(p_E) - k_B T \sum_{i=1}^N x_{E,i}$$

und außerhalb

$$\mu_A = \mu_w^0(p_A) - k_B T \sum_{i=1}^N x_{A,i}$$

Hier bezeichnen die Indices E Größen im Inneren des Erythrozyten, Indices A Größen im äußeren Medium. Die Bedingung eines konstanten chemischen Potenzials für Wasser $\mu_E = \mu_A$ führt mithilfe einer Taylor-Entwicklung von μ_w^0 um den Druck p_A im äußeren Medium auf:

$$\left. \frac{\partial \mu_w^0}{\partial p} \right|_{T, p = p_A} (p_E - p_A) = k_B T \sum_{i=1}^N (x_{E,i} - x_{A,i})$$

Die Ableitung des chemischen Potentials von Wasser unter Standardbedingungen ergibt das Molvolumen des Wassers v_W , da:

$$\left. \frac{\partial \mu_W^0}{\partial p} \right|_{T,p=p_A} = \left. \frac{\partial^2 G}{\partial N \partial p} \right|_{T,p=p_A} = \left. \frac{\partial V}{\partial N} \right|_{T,p=p_A} = v_W$$

Dies ist eine der zahlreichen *Maxwellschen Relationen*. Diese beruhen alle auf der Vertauschbarkeit in der Reihenfolge der partiellen Ableitungen der thermodynamischen Potentiale und sind sehr hilfreich, da sie Ableitungen thermodynamischer Größen miteinander verknüpfen. Falls die Molenbrüche aller gelösten Substanzen klein sind, gilt (Gl. 3.41) $x_i \approx \frac{n_i}{n_i}$. D. h. praktisch das ganze Volumen wird vom Lösungsmittel Wasser ausgefüllt. Hiermit ergibt sich für den Druckunterschied:

$$\Delta\pi = (p_E - p_A) = k_B T \sum_i \left(\frac{n_{E,i}}{V_E} - \frac{n_{A,i}}{V_A} \right) \quad (3.44)$$

Hierbei haben wir die übliche Bezeichnung $\Delta\pi$ für den osmotischen Druck eingeführt. Gleichung (3.44) ist das van't Hoff'sche Gesetz für den osmotischen Druck einer idealen Lösung. Nach diesem übt jede gelöste Substanz, welche die Membran nicht passieren kann, auf diese einen Druck aus, als wäre sie ein ideales Gas.

Bei hohen Konzentrationen der gelösten Partikel kann es auch zu Wechselwirkungen kommen. In dieser Situation kann man die van der Waals-Theorie anwenden und osmotischen Druck und Dichte der gelösten Teilchen mit einer Zustandsgleichung verknüpfen, die der van der Waals-Gleichung (3.32) entspricht.

Für die Gesamtkonzentration aller gelösten Partikel in einer Lösung hat sich der Begriff der *Osmolarität* eingebürgert. Die Einheit der Osmolarität ist Osmol/Liter. Eine Lösung mit einer Osmolarität von 1 Osmol/Liter enthält 1 Mol frei diffundierender Partikel pro Liter. Die Osmolarität einer Lösung kann zum Beispiel durch den osmotischen Druck oder durch die Gefrierpunktserniedrigung der Lösung gemessen werden.

3.2.8

Verteilung einer Substanz zwischen zwei Phasen

In vielen physiologischen Situationen liegt ein Stoff in zwei verschiedenen Phasen vor. Lebenswichtige Beispiele sind die Verteilung der Gase zwischen flüssiger und gasförmiger Phase im Lungenbläschen (Abb. 3.4) oder die Verteilung von leicht hydrophoben Substanzen wie Sauerstoff oder Harnstoff zwischen dem hydrophoben Inneren der Biomembran und dem umgebenden wässrigen Medium.

Die Anwendung von Gleichung (3.16) und (3.43) für das chemische Potenzial eines gelösten Stoffs liefert

$$\frac{x_{i,A}}{x_{i,B}} = \exp\left(-\frac{\mu_{i,A}^0 - \mu_{i,B}^0}{k_B T}\right) \quad (3.45)$$

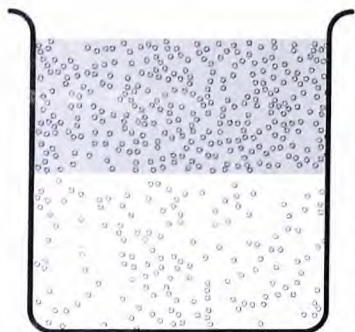


Abb. 3.9 Liegen zwei Phasen vor (hier Öl über Wasser geschichtet), so verteilt sich ein gelöster Stoff (z. B. ein Farbstoff) zwischen beiden Phasen so, dass die chemischen Potentiale des Stoffs in beiden Phasen identisch werden.

Das Verhältnis der Molenbrüche einer Substanz in den beiden Phasen A und B ist also alleine durch Temperatur und die Differenz der chemischen Potentiale der Substanz in diesen Phasen unter Standardbedingungen μ_i^0 gegeben. Diese Beziehung besagt insbesondere, dass sich ein Stoff zwischen zwei Phasen immer im selben Verhältnis verteilt (Abb. 3.9). Die Größe $\exp\left(-\frac{\mu_{i,A}^0 - \mu_{i,B}^0}{k_B T}\right)$ ist der Verteilungskoeffizient.

Falls sich die Substanz extrem schlecht löst (z. B. langkettige Alkohole in Wasser), so kann die eine Phase, z. B. B , durch die Reinsubstanz ersetzt werden. Dann ist $x_{i,B}=1$ und eine Messung der Sättigungskonzentration der Substanz in der anderen Phase erlaubt die Berechnung der Freien Enthalpie des Transfers eines Moleküls von der einen Phase in die Reinphase. Dies werden wir bei der Diskussion des hydrophoben Effekts in Abschnitt 6.5 ausnützen.

Eine weitere Rolle spielt Gleichung (3.45) für die Entwicklung von Anästhetika. Damit ein Betäubungsmittel zügig wirken kann, muss es sich in ausreichenden Mengen im Körper lösen und sich dort schnell ausbreiten. Es kommen also nur Substanzen in Frage, die schnell die Zellmembranen durchqueren und sich gleichzeitig gut in Wasser lösen. Anästhetika sind zum einen gut wasserlöslich und weisen zum anderen einen moderaten Verteilungskoeffizienten zwischen wässrigen Lösungen und hydrophoben Ölen auf. Ein hydrophobes Öl (z. B. Heptan) wird in diesen Fällen oft als Modellschubstanz für das ebenfalls hydrophobe Innere der Biomembran benutzt.

Ist eine der beiden Phasen ein Gas, die andere eine Flüssigkeit, in der sich das Gas löst, geht man am besten vom chemischen Potenzial eines idealen Gases (Gl. 3.31) und vom chemischen Potenzial des gelösten Gases (Gl. 3.43) aus. Dies liefert folgenden Zusammenhang zwischen dem Molenbruch des Gases in Lösung, x_A , und seiner Teilchendichte n_G in der Gasphase:

$$x_A = n_G \lambda_{th}^3 \exp\left(-\frac{\mu_A^0}{k_B T}\right)$$

Hierbei ist λ_{th} die thermische Wellenlänge des Gases (Gl. 3.26) und μ_A^0 das chemische Potenzial der Moleküle des Gases in der Flüssigkeit unter Standardbedingungen. Die letztere Größe ist erfahrungsgemäß nur schwach vom Druck abhän-

gig. Die Dichte des Gases ist aber nach der Zustandsgleichung der idealen Gase (Gl. 3.1) direkt proportional zum Druck, sodass man am Ende

$$x_A = \frac{p_G}{k_B T} \lambda_{th}^3 \exp\left(-\frac{\mu_A^0}{k_B T}\right)$$

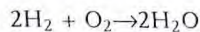
erhält. Beim Gleichgewicht zwischen Gas und in Flüssigkeit gelöstem Gas ist also die gelöste Menge direkt proportional zum Druck. Diese Beziehung beschreibt den Mechanismus der Höhenkrankheit. Bei diesem Zustand reicht die im Blut gelöste Sauerstoffmenge nicht aus, um die normalen Körperfunktionen aufrechtzuerhalten. Der Körper kann hier in gewissen Grenzen durch Erhöhung der Erythrozytendichte im Blut gegensteuern. Allerdings verhindert dieser Effekt die Besiedlung von Orten, die auf mehr als 6000 m Höhe liegen.

Umgekehrt ist der Effekt auch wichtig für die Physiologie des Tauchens. Bei längeren Tauchgängen muss der Mensch aus einem Reservoir atmen, dessen Druck dem Wasserdruck bei der entsprechenden Tauchtiefe entspricht. Dabei lösen sich wesentlich größere Mengen Gas im Körper als bei Atmosphärendruck. Bei zu schneller Dekompression können die überschüssigen gelösten Gasmengen nicht schnell genug aus dem Körper über die Lungen entweichen und bilden Gasblasen im Gewebe, was schmerzhaft und gefährlich ist. Das größte Problem ist in diesem Zusammenhang der Stickstoff, der sich gut in Fettgewebe löst und aus diesem nur langsam wieder abgegeben wird. Ein weiteres Problem für Taucher stellt Sauerstoff dar, der ab einer gewissen Konzentration im Gewebe als Zellgift wirkt. Daher müssen Taucher bei tiefen und längeren Tauchgängen wohldefinierte Gasmischungen atmen und über längere Zeiträume auftauchen.

3.2.9

Chemische Reaktionen

Wir wenden uns nun chemischen Reaktionen zu. Hierbei gibt es die Stöchiometrie der Reaktion zu beachten. Zum Beispiel reagiert Wasserstoff mit Sauerstoff nach folgender chemischen Gleichung zu Wasser:



Generell kann jede chemische Reaktion mit den Molekülsorten A_j in der Form

$$\sum_j \nu_j A_j = 0$$

geschrieben werden. Hierbei sind die ν_j kleine ganze Zahlen, die so genannten stöchiometrischen Konstanten. Sie sind die Zahlenwerte aus den chemischen Formeln, die für die Produkte (rechts vom Pfeil) positiv zu werten sind und für die Edukte (links vom Pfeil) negativ. Generell führt man in der physikalischen Chemie für den Fortschritt einer Reaktion die Reaktionslaufzahl ξ ein. Der Umsatz der jeweiligen Spezies ist einfach $\nu_j \xi$.

Wie wir bei unserer Diskussion der phänomenologischen Thermodynamik sahen, muss bei konstanter Temperatur und konstantem Druck die Freie Enthal-

pie G des Systems minimal sein. Da Temperatur und Druck konstant sind ($dp = dT = 0$), folgt:

$$dG = -SdT + Vdp + \sum_{i=1}^n \mu_i dN_i = \sum_{i=1}^n \mu_i dN_i = 0$$

Die Molekülmengen können jetzt einfach über die Reaktionslaufzahl angegeben werden:

$$dG = \sum_{i=1}^n \mu_i v_i d\xi = 0$$

woraus für die Lage des chemischen Gleichgewichts folgt:

$$\sum_{i=1}^n \mu_i v_i = 0 \quad (3.46)$$

Zusammen mit dem Ausdruck (3.43) für das chemische Potenzial einer gelösten Spezies liefert diese Gleichung das Massenwirkungsgesetz der Chemie:

$$\prod_{i=1}^n x_i^{v_i} = \exp\left(-\sum_{i=1}^n \frac{\mu_i^0 v_i}{k_B T}\right) \quad (3.47)$$

Die Größe $\sum_{i=1}^n \mu_i^0 v_i$ ist die Freie Enthalpie der Reaktion unter Standardbedingun-

gen ΔG^0 pro Teilchen. Das Massenwirkungsgesetz (3.47) beschreibt die Konzentrationen der an einer chemischen Reaktion beteiligten Molekülsorten im thermischen Gleichgewicht. Es folgt direkt aus der Minimierung der Freien Enthalpie und den chemischen Potenzialen der Moleküle und gilt deswegen auch sehr allgemein. Bei Reaktionen in Lösungen ist es üblich, anstelle der Molenbrüche Konzentrationen in Mol pro Liter zu verwenden. Dabei werden normalerweise die Umrechnungsfaktoren den ΔG^0 zugeschlagen. Es ist also wichtig, darauf zu achten, auf welche Standardbedingungen sich die jeweils verwendeten ΔG^0 beziehen.

Folgende Standardbedingungen sind üblich:

- Gase: Ideales Gas bei $p = 1,013$ bar und $T = 298,15$ K (1 Atmosphäre Druck und 20°C).
- Flüssigkeiten bzw. Festkörper: Die Reinsubstanz bei $p = 1,013$ bar und $T = 298,15$ K.
- Gelöste Substanzen: Ideale Lösung mit einer Konzentration von 1 molar (1 Mol/Liter).

Für viele Substanzen ist der Referenzzustand für den gelösten Zustand ein hypothetischer Zustand, da sich die Lösungen bei so hohen Konzentrationen nicht mehr ideal verhalten. Typische Proteine lösen sich nicht einmal in derart hohen Konzentrationen. Man behilft sich in der Praxis damit, chemische Potenziale bei niedrigen Konzentrationen zu messen und mithilfe von Gleichung (3.43) auf eine Konzentration von 1 molar zu extrapolieren. Hierbei dient Gleichung (3.43) als Definition der idealen Lösung.

3.2.10

Diffusion

Ein sehr wichtiger Prozess in lebenden Zellen ist der Ausgleich von Konzentrationsgradienten mit der Zeit. Dieser Ausgleich erfolgt durch Diffusion, die schon im Kapitel über Hydrodynamik eingeführt wurde. Wie wir im Folgenden zeigen werden, wird der Diffusionsprozess von räumlichen Unterschieden im chemischen Potenzial getrieben.

Wir betrachten hierzu eine Teilchensorte, die in verdünnter Lösung vorliegt. Ihr chemisches Potenzial ist durch Gleichung (3.43) gegeben:

$$\mu = \mu^0 + k_B T \ln x$$

Bei räumlich variablen Konzentrationen hängt auch das chemische Potenzial vom Ort ab. Da das chemische Potenzial die für alle Prozesse (außer der Volumenarbeit) zur Verfügung stehende Arbeit ist, ergibt sich aus einem räumlich variablen chemischen Potenzial auch eine mechanische Kraft F . Diese Kraft wirkt im *zeitlichen Mittel* auf die Teilchen. Ein einzelnes Molekül unterliegt zu jedem Zeitpunkt der Brownschen Molekularbewegung und wird von vielen anderen Teilchen gestoßen. Die dabei wirkenden Kräfte sind viel größer als die oben angegebene mittlere Kraft, ihr Mittelwert ist aber Null. Ein Teilchen in einem viskosen Medium, auf das eine Kraft wirkt, bewegt sich mit einer Drift-Geschwindigkeit u . Für diese gilt:

$$u = \lambda F = -\lambda \nabla \mu \quad (3.48)$$

wobei λ für den Beweglichkeitskoeffizienten des Teilchens steht. Für eine Kugel mit Radius R in einem Medium mit der Viskosität η gilt die Stokessche Formel $\lambda = (6\pi\eta R)^{-1}$. Im Mittel driften die Moleküle also mit einer Geschwindigkeit von

$$u = -\lambda \frac{k_B T}{x} \nabla x$$

Diese Driftgeschwindigkeiten sind viel geringer als die thermischen Geschwindigkeiten der Moleküle. Dies bedeutet, dass sich zu jedem Zeitpunkt jedes Teilchen viel schneller bewegt, als es der Driftgeschwindigkeit entspricht. Der allergrößte Teil dieser Bewegung ist jedoch völlig ungerichtet, sodass sich bei einer Mittelung der Teilchengeschwindigkeiten nur die Driftgeschwindigkeit ergibt. Für den Fluss der Teilchen gilt

$$j = xu = -\lambda k_B T \nabla x$$

Dieses Gesetz ist in der Form $j = -D \nabla x$ als das **1. Ficksche Gesetz** bekannt. Hierbei bedeutet D den Diffusionskoeffizienten des Teilchens. Diese Herleitung des 1. Fickschen Gesetzes zeigt, dass der Diffusionskoeffizient eines Partikels durch dessen Beweglichkeit dominiert ist.

$$D = \lambda k_B T \quad (3.49)$$

Gleichung (3.49) ist auch als Einstein-Beziehung bekannt. Aufgrund von (3.49) kann man aus Diffusionsmessungen auf die effektive Größe der diffundierenden Teilchen schließen.

Die Zahl der Moleküle ist eine Erhaltungsgröße, daher gilt die Kontinuitätsgleichung:

$$\nabla j + \frac{\partial x}{\partial t} = 0$$

Mit dieser lässt sich sofort aus dem 1. Fickschen Gesetz die Diffusionsgleichung

$$\frac{\partial x}{\partial t} = D\Delta x \quad (3.50)$$

herleiten. Diese Herleitung zeigt, dass Diffusion als der Ausgleich von Gradienten des chemischen Potentials beschrieben werden kann. Aufgrund der hydrodynamischen Reibung der sich bewegenden Teilchen kann dieser Ausgleich nur mit einer endlichen Geschwindigkeit stattfinden. Wir werden in Kapitel 37 noch einmal auf diese Thematik zurückkommen.

Anhang 3.A Methode der Kreisprozesse zur Herleitung der Entropie

Für jeden geschlossenen Weg im Raum der Zustandsvariablen gilt $\oint \frac{\delta Q}{T} = 0$. Dies wird in der folgenden Abbildung für einen Carnotprozess bewiesen, gilt aber ganz allgemein (Abb. 3.A.1). Allerdings muss hierfür der Kreisprozess reversibel,

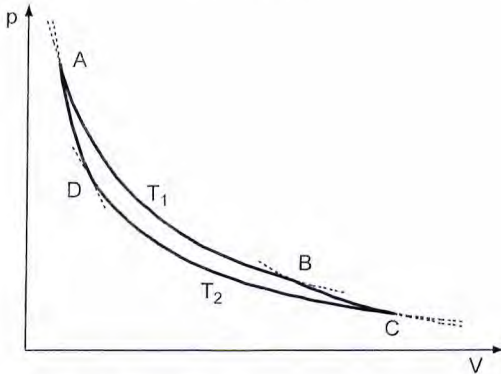


Abb. 3.A.1 Carnotscher Kreisprozess für ein ideales Gas. Der Kreisprozess besteht aus einer isothermen Expansion ($dT = 0$) von A nach B, einer adiabatischen Expansion (d.h. Expansion ohne Wärmeaustausch, $\delta Q = 0$) von B nach C, einer isothermen Kompression von C nach D und wieder einer adiabatischen Kompression von D zum Ausgangspunkt A

zurück. Wird der Kreisprozess einmal unendlich langsam durchgeführt, so darf sich die innere Energie nicht geändert haben. Somit folgt für die vom Gas aufgenommene Wärmemenge Q sofort aus dem ersten Hauptsatz (Gl. 3.2) und dem Gasgesetz (3.1): $\frac{Q_{AB}}{T_1} + \frac{Q_{CD}}{T_2} = 0$. Die Indices zeigen an, bei welchem Schritt die Wärme aufgenommen wurde.

d. h. sehr langsam durchgeführt werden, damit keine Verluste durch dissipative Kräfte auftreten. Eine tiefer greifende Diskussion der Kreisprozesse findet sich in fast jedem Lehrbuch der Thermodynamik.

Anhang 3.B

Herleitung der Zustandsgleichung eines idealen Gases im Rahmen der statistischen Mechanik

Diese Herleitung schließt an Gleichungen (3.19) und (3.20) an. Die Größe β und die mittlere Energie sind verknüpft über folgende Beziehung:

$$\langle E \rangle = \sum_n E_n \rho(E_n) = - \frac{1}{Z} \frac{\partial Z}{\partial \beta} = - \frac{\partial \ln Z}{\partial \beta} \quad (3.B.1)$$

Hier und im Folgenden symbolisieren die spitzen Klammern den thermischen Erwartungswert. Der Erwartungswert der Energie des Systems entspricht in der thermodynamischen Beschreibung der inneren Energie U .

Unser System kann aufgrund seiner Konstruktion Energie zwischen den Teilsystemen austauschen. Für solche Systeme hatten wir in der thermodynamischen Beschreibung hergeleitet, dass die Temperaturen aller Teilsysteme gleich sein müssen. Genau dies gilt auch für den Parameter β . Daher liegt der Verdacht nahe, dass β mit der Temperatur zusammenhängt. Wie wir im Folgenden durch Untersuchung der Zustandsgleichung des idealen Gases zeigen werden, ist dies in der Tat der Fall.

Der Druck p eines Systems ist definiert durch die Energieänderung bei Volumenänderung. Daher können wir auch jedem Quantenzustand n des Systems einen Druck p_n zuordnen über die Beziehung:

$$p_n = - \frac{\partial E_n}{\partial V}$$

Der Gesamtdruck des Systems ergibt sich durch Mittelung über alle Quantenzustände:

$$p = \langle p \rangle = \sum_n p_n \rho(E_n) = \sum_n - \frac{\partial E_n}{\partial V} \exp(-\beta E_n) / Z = \frac{1}{\beta Z} \frac{\partial Z}{\partial V} = \frac{1}{\beta} \frac{\partial \ln Z}{\partial V} \quad (3.B.2)$$

Diese Beziehung gilt ganz allgemein für alle Systeme. Zur Herleitung der Zustandsgleichung des idealen Gases berechnen wir im Folgenden dessen Zustandssumme.

Zur Berechnung der erlaubten Quantenzustände betrachten wir ein ideales Gas in einem Würfel der Kantenlänge a und benützen zyklische Randbedingungen, d. h. wir verlangen, dass sich alle Eigenschaften des Systems bei Verschiebungen um ganzzahlige Vielfache von a in jede der drei Raumrichtungen völlig identisch wiederholen. Dies ist ein übliches Verfahren in der Theorie der kondensierten Materie, um die mathematischen Schwierigkeiten bei der Behandlung unendlich

ausgedehnter Systeme zu umgehen. Die erlaubten Quantenzustände sind ebene Wellen

$$\psi_n = \frac{1}{\sqrt{a^3}} \exp(ik_n r)$$

mit den erlaubten Wellenvektoren

$$k_n = \frac{2\pi}{a} \begin{pmatrix} n_x \\ n_y \\ n_z \end{pmatrix}$$

wobei n_x , n_y und n_z beliebige ganze Zahlen außer Null sind. Dies sind die für die Anwendung von Gleichung (3.22) notwendigen Einteilchen-Wellenfunktionen.

Die erlaubten Energieniveaus für das ideale Gas sind:

$$E_n = \frac{\hbar^2 k_n^2}{2m} = \frac{h^2}{2ma^2} (n_x^2 + n_y^2 + n_z^2)$$

Hierbei bezeichnen h das Plancksche Wirkungsquantum ($h \approx 6,626 \cdot 10^{-34}$ Js, $\hbar = h/2\pi$) und m die Masse der Teilchen. Da jede Raumrichtung völlig unabhängig ist, ergibt sich für die Einteilchenzustandssumme:

$$Z_1 = \left(\sum_{n=-\infty}^{\infty} \exp\left(-\beta \frac{h^2}{2ma^2} n^2\right) \right)^3$$

Diese Summe kann am leichtesten als Integral berechnet werden, da die Zustände sehr dicht liegen.

$$Z_1 \approx \left[\int_{-\infty}^{\infty} \exp\left(-\beta \frac{h^2}{2ma^2} n^2\right) dn \right]^3 = \frac{a^3}{h^3} \left(\frac{2\pi m}{\beta}\right)^{3/2}$$

Somit ergibt sich am Ende für die Zustandssumme des idealen Gases:

$$Z = \frac{1}{N!} \left(\frac{a}{h} \sqrt{\frac{2\pi m}{\beta}}\right)^{3N} = \frac{V^N}{N!} \left(\frac{1}{h} \sqrt{\frac{2\pi m}{\beta}}\right)^{3N} \quad (3.51)$$

Setzen wir diesen Ausdruck in Gleichungen (3.25) und (3.7) ein und bedenken, dass a^3 das gesamte Volumen ist, so ergibt sich:

$$p = \frac{1}{\beta} \frac{\partial \ln V^N}{\partial V} = \frac{N}{\beta V}$$

bzw.

$$pV = \frac{N}{\beta} \quad (3.52)$$

Dies ist die gesuchte Zustandsgleichung für das ideale Gas. Da die absolute Temperaturskala über diese Beziehung definiert wird, ergibt sich hieraus die gesuchte Gleichung (3.21)

$$\beta = \frac{1}{k_B T}$$

Bitte beachten Sie, dass hier die Zustandsgleichung des idealen Gases als Definition der Temperatur benutzt wurde. Diese Aussage über β ist bei Weitem nicht auf ideale Gase beschränkt. Wir könnten jedes System in Kontakt mit einem idealen Gas bringen und diese Herleitung wiederholen. Wesentlich ist dabei, dass wir bei der Diskussion von Gleichung (3.18) sahen, dass die Größe β für jedes Subsystem denselben Wert hat.

Anhang 3.C

Herleitung der Gibbs-Duhem-Beziehung

Die Entropie S hat als natürliche Variablen die Innere Energie U , Volumen V und Teilchenzahl N . Wenn man ein homogenes System um einen beliebigen Faktor λ skaliert (d. h. halbiert, drittelt oder sonstwie verkleinert oder vergrößert), so wird auch die Entropie um den gleichen Faktor skaliert. Dies folgt direkt aus der thermodynamischen Definition der Entropie (Gl. 3.3) und der Tatsache, dass die Wärmekapazität eines Systems proportional zur Stoffmenge ist. Analog skalieren natürlich auch Innere Energie, Volumen und Teilchenzahl direkt mit dem Skalenfaktor λ . Es gilt also:

$$S(\lambda U, \lambda V, \lambda N_i) = \lambda S(U, V, N_i)$$

Die Ableitung dieser Gleichung nach dem Skalenfaktor λ , bei $\lambda = 1$, liefert

$$\frac{\partial S}{\partial U} U + \frac{\partial S}{\partial V} V + \sum_{i=1}^N \frac{\partial S}{\partial N_i} N_i = S$$

Da $\frac{\partial S}{\partial U} = \frac{1}{T}$, $\frac{\partial S}{\partial V} = \frac{p}{T}$ und $\frac{\partial S}{\partial N_i} = \frac{\mu_i}{T}$ gilt, folgt sofort $U - TS + pV - \sum_{i=1}^N \mu_i N_i = 0$ bzw.

$$G = \sum_{i=1}^N \mu_i N_i \quad (3.53)$$

Diese bemerkenswerte Beziehung ist als Gibbs-Duhem-Beziehung bekannt. Sie sagt insbesondere aus, dass für homogene Systeme die Freie Enthalpie einfach durch die Summe der chemischen Potentiale der Bestandteile mal deren Teilchenzahlen gegeben ist.

3.3

Weiterführende Literatur

- Becker, R. (1985) Theorie der Wärme, 3. Auflage, Springer Verlag, Berlin.
Ein sehr gutes Lehrbuch der theoretischen Physik im traditionellen deutschen Stil, das sich an fortgeschrittene Studenten wendet und eine Vielzahl an experimentell wichtigen Systemen abdeckt.
- Benedek, G.A., Villars, F.M.H. (2000) Physics with illustrative examples from medicine and biology. Statistical physics, Springer Verlag, Berlin.
Im Wesentlichen ein Nachdruck der originalen Ausgabe von 1974. Eine elementare Einführung, die sich teilweise sehr eng an wichtige Experimente anlehnt.
- Dill, K.A., Blomberg, S. (2003) Molecular driving forces. Statistical thermodynamics in chemistry and biology, Garland, New York.
Eine teilweise elementare Einführung in die Konzepte, speziell auf unser Themengebiet zugeschnitten.
- Hill, T.L. (1988) An introduction to statistical thermodynamics, Dover Publications, New York.
Eine sehr gute Einführung in die statistische Thermodynamik.
Die meisten der für die biologische Physik wichtigen thermodynamischen Fragestellungen werden sehr klar behandelt.
- Landau, L.D., Lifschitz, E.M. (1991) Lehrbuch der Theoretischen Physik., V. Statistische Physik, Akademie Verlag, Berlin.
Die Landau-Serie ist wohl eines der bekanntesten Lehrbücher der theoretischen Physik. Die meisten hier wichtigen Themen werden „im Landau“ sehr exakt behandelt. Für fortgeschrittene Studenten.
- Randall, D.J., Burggren, W., French, K. (2002) Eckert animal physiology, Palgrave Macmillan, Basingstoke.
Ein sehr gutes Lehrbuch der vergleichenden Tierphysiologie, in dem sich viele Beispiele für die Bedeutung der Thermodynamik in der Biologie finden.
- Reif, F. (1985) Statistische Physik und Theorie der Wärme, Walter de Gruyter, Berlin.
Ebenfalls ein exzellentes Lehrbuch der theoretischen Physik für fortgeschrittene Studenten.
Nicht ganz so breit in der Themenauswahl wie der „Becker“, dafür ausführlichere Erklärungen.
- Thews, G., Mutschler, E., Vaupel, P. (2007) Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
Dieses Buch wendet sich im Wesentlichen an Studenten der Medizin. Es finden sich darin sehr viele physiologische Prozesse und Phänomene, die durch die Thermodynamik bestimmt sind. Beispiele sind der Wärme- und Energiehaushalt des Körpers, Gas- und andere Stoffaustauschprozesse oder die Wirkung des Lungendetergens.
Gute Einführungen in dieses Thema findet man auch in vielen Lehrbüchern der Physikalischen Chemie. Meist decken diese Bücher ein überraschend breites Themenspektrum ab, allerdings sind die Herleitungen oft nicht so rigoros wie in den Lehrbüchern der Physik. Exemplarisch für diese Bücher sei hier ein Werk genannt, das sich vor allem auf Biomoleküle konzentriert:
- Tinoco, I., Sauer, K., Wang, J.C., Puglisi, J.D. (2002) Physical chemistry. Principles and applications in biological sciences, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.



4

Biologisch essenzielle physikochemische Reaktionen

Wie bereits in Kapitel 2 dargelegt wurde, findet in einer lebenden Zelle eine Vielzahl chemischer Prozesse gleichzeitig statt. In höheren Zellen (Eukaryonten) ist dabei der Innenraum der Zelle in viele Reaktionsräume mit unterschiedlichen Bedingungen untergliedert. Wir wollen uns in diesem Kapitel zwei Fragenkomplexen zuwenden, in denen die Physik eine große Rolle spielt: der Aufrechterhaltung eines festen Säuregrads einer Lösung sowie dem Elektronentransfer bei Reaktionen.

4.1

Das Säure/Base-Gleichgewicht

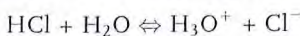
Es ist eine Alltagserfahrung, dass verschiedene Flüssigkeiten verschieden sauer schmecken. Der Säuregrad einer Flüssigkeit beeinflusst Biomoleküle, die sich in ihr befinden, sehr stark. Wer versucht, seinen Tee mit Milch und Zitronensaft gleichzeitig zu sich zu nehmen, wird ein einprägsames Beispiel für diese Tatsache erleben. In diesem „Experiment“ verändern die Proteine der Milch ihre Eigenschaften unter dem Einfluss der Zitronensäure deutlich sichtbar. Damit in Organismen nicht ähnlich destruktive Prozesse ablaufen, benötigen diese Mechanismen, um den Säuregrad ihres inneren Milieus zu kontrollieren. Zum Verständnis dieser Mechanismen werden wir uns im Folgenden den Säuren und ihrem Gegensatz, den Basen, widmen.

Säuren und Basen sind wie folgt definiert:

- Säuren sind Protonen- (H^+)-Donatoren, wobei Wasser gleichzeitig als Protonen-Akzeptor auftritt.



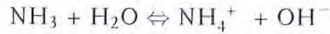
- In dieser Formel steht „ R_5H “ für jede mögliche Säure, z. B.:



- Basen sind Protonen-Akzeptoren, wobei Wasser als Protonen-Donator auftritt.



– Auch hier steht „ R_B “ für eine beliebige Base, z. B. Ammoniak in der folgenden Reaktion:



In Reaktionsgleichung (4.1) ist H_2O eine Base (d. h. H^+ -Akzeptor), in Gleichung (4.2) ist H_2O eine Säure (d. h. H^+ -Donator).

Im Gegensatz zu allen anderen Ionen besitzt ein Proton keinerlei Elektronenhülle. Deswegen ist es wesentlich kleiner als alle anderen Ionen und kann nicht frei in Wasser vorliegen. Aufgrund der extrem großen Ladungsdichte des Protons wird es chemisch an ein Wasser-Molekül gebunden. Dabei kann es in verschiedenen Strukturen vorkommen, die in Abbildung 4.1 zusammengefasst sind. Moderne quantenmechanische Rechnungen zeigen, dass diese Strukturen Grenzfälle sind. Das überschüssige Proton liegt in diesen Komplexen über die Wasserstoffbrückenbindungen verteilt vor. Der Einfachheit halber hat sich in chemischen Formeln wie (4.1) die Verwendung des Oxonium-Ions H_3O^+ eingebürgert. Die Beweglichkeit von Protonen ist in wässrigen Lösungen deutlich höher, als es ihre Größe erwarten lassen würde. Eine Hypothese zur Erklärung dieses Phänomens geht davon aus, dass in komplizierteren Strukturen wie in Abbildung 4.1c auf einer Seite ein neues Proton gebunden werden kann, während auf der anderen Seite ein gebundenes Proton abgegeben wird.

Nach Brønsted¹⁾ können die obigen Definitionen von Säuren und Basen unabhängig vom Lösungsmittel Wasser angewandt werden. Offenbar wird eine Säure, die ein Proton abgegeben hat, zu einer Base. In Reaktionsgleichung (4.1) ist R_5H eine Säure und R_5^- eine Base. Man bezeichnet die Spezies als konjugiertes Säure-Base-Paar. Tabelle 4.1 zeigt einige Säure-Basen Paare nach Säurestärke sortiert. Die Größe pK_A ist ein Maß der Säurestärke und wird in Gleichung (4.8) definiert.

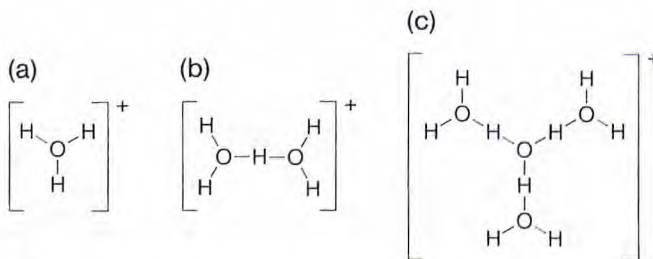


Abb. 4.1 Mögliche Strukturen der Bindung eines überschüssigen Protons in Wasser. a) H_3O^+ (Oxonium), b) $H_3O_2^+$ und c) $H_7O_3^+$. In allen Fällen ist die überschüssige positive Ladung über alle Protonen verteilt. Die mittlere Struktur wurde von Zundel vorgeschlagen, die beiden äußeren von Eigen.

1) Johannes Nicolaus Brønsted (*22. Februar 1879 in Varde; †17. Dezember 1947 in Kopenhagen) war ein dänischer Chemiker und Künstler.

Tabelle 4.1 Beispiele für Säure/Base-Paare

	Säure	Base	pK _A -Wert
Salzsäure	HCl	Cl ⁻	-7,0
Oxonium-Ion	H ₃ O ⁺	H ₂ O	-1,7
Phosphorsäure	H ₃ PO ₄	H ₂ PO ₄ ⁻	2,12
Säure-Gruppen in Proteinen	-COOH	-COO ⁻	3,5-4,5
Essigsäure	CH ₃ COOH	CH ₃ COO ⁻	4,76
Kohlensäure	H ₂ CO ₃	HCO ₃ ⁻	6,37
Dihydrogenphosphat-Ion	H ₂ PO ₄ ⁻	HPO ₄ ²⁻	7,21
Ammonium-Ion	NH ₄ ⁺	NH ₃	9,25
Hydrogencarbonat-Ion	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻	10,25
Hydrogenphosphat-Ion	HPO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	12,67
Wasser	H ₂ O	OH ⁻	14,0

4.1.1

Die Stärke von Säuren und Basen: der pH-Wert wässriger Lösungen

Benötigt wird ein quantitatives Maß für die Fähigkeit einer Säure, Protonen abzugeben. Die Dissoziation der Säure gemäß Reaktionsgleichung (4.1) wird quantitativ beschrieben durch das in Abschnitt 3.2.9 hergeleitete Massenwirkungsgesetz (Gl. 3.47):

$$K_d = \frac{[R_s^-][H_3O^+]}{[RH][H_2O]} \quad (4.3)$$

In dieser Gleichung wurde die in der Chemie übliche Nomenklatur, nach der eckigen Klammer die Konzentrationen der von ihnen eingeschlossenen Größen bezeichnen, verwendet. Der entscheidende Parameter für Säure-Basen-Gleichgewichte ist das chemische Potenzial der Protonen bzw. der Oxonium-Ionen H₃O⁺. K_d ist offenbar ein Maß für die Fähigkeit einer Säure, Protonen an Wasser abzugeben.

Man bezeichnet:

- als schwache Säuren solche mit K_d « 1 (geringe Dissoziation).
- als starke Säuren solche mit K_d » 1 (fast völlige Dissoziation).

Da Säure-Basen-Gleichgewichte allgegenwärtig sind, wird das Massenwirkungsgesetz vereinfacht: In verdünnten Lösungen ist die Wasserkonzentration konstant und beträgt [H₂O] = 55,5 mol/l. Da wir nur an einem relativen Maß der Säurestärke interessiert sind, kann die H₂O-Konzentration in Gleichung (4.3) ignoriert werden und es wird eine *Aziditätskonstante* k_A definiert gemäß:

$$k_A = \frac{[R_S^-][H_3O^+]}{[R_S H]} \quad (4.4)$$

Diese Konstante hat die Einheit mol/l.

Wichtig für eine quantitative Diskussion von Säure-Basen-Gleichgewichten ist die Selbstdissoziation des Wassers:



Auch hier wird im Allgemeinen das Massenwirkungsgesetz in einer abgewandelten Form angewandt, da die Konzentration des Wassers konstant ist. Aus Leitfähigkeitsmessungen an sehr reinem Wasser ergibt sich für das sogenannte *Ionenprodukt* (K_W) des Wassers bei 25 °C der Wert:

$$K_W = K_d \cdot [H_2O]^2 = [H_3O^+] \cdot [OH^-] = 1,016 \cdot 10^{-14} \left(\frac{\text{mol}}{\text{l}}\right)^2 \quad (4.6)$$

Wie alle chemischen Gleichgewichte ist auch dieses abhängig von der Temperatur. Bei 50 °C findet man einen fast fünffach erhöhten Wert für K_W .

In Reinstwasser, d. h. ohne jegliche Fremdionen, müssen die Konzentrationen von Hydroxid- und Oxonium-Ionen aufgrund der Ladungsneutralität gleich sein. Die Protonenkonzentration beträgt daher bei 25 °C:

$$[H^+] = 1,008 \cdot 10^{-7} \left(\frac{\text{mol}}{\text{l}}\right)$$

Dies entspricht $6,1 \cdot 10^{16}$ Teilchen pro Liter, bzw. 61 Protonen pro μm^3 .

Da die Protonenkonzentrationen in der Praxis um mehrere Größenordnungen variieren, führt man eine logarithmische Skala, den pH-Wert, ein.

$$\text{pH} = -\log \frac{[H^+]}{1 \text{ mol/l}} \quad (4.7)$$

Der pH-Wert ist also explizit an die Konzentrationseinheit mol/l gebunden.

Man definiert nun als $\text{p}K_A$ -Wert einer Säure:

$$\text{p}K_A = -\log \frac{k_A}{1 \text{ mol/l}} = -\log \frac{[H^+]}{1 \text{ mol/l}} - \log \frac{[R_S^-]}{[R_S H]}$$

In der Form

$$\text{p}K_A = \text{pH} - \log \frac{[\text{Base}]}{[\text{Säure}]} = \text{pH} - \log \frac{[R_S^-]}{[R_S H]} \quad (4.8)$$

ist diese Definition des $\text{p}K_A$ -Werts einer Säure auch als Henderson²⁾-Hasselbalch³⁾-Gleichung bekannt. Als Dissoziationsgrad α bezeichnet man:

$$\alpha = \frac{[R_S^-]}{[R_S H] + [R_S^-]} = \frac{[R_S^-]}{c_0}$$

2) Lawrence Joseph Henderson (*3. Juni 1878 in Lynn; †10. Februar 1942 in Cambridge) war ein amerikanischer Chemiker und Biologe.

3) Karl Albert Hasselbalch (*1. November 1874 in Aastrup; †19. September 1962) war ein dänischer Physiker und Chemiker.

wobei c_0 die Einwaagekonzentration der Säure in der Einheit mol/l ist. Daher lässt sich die Henderson-Hasselbalch-Gleichung auch in folgende Form bringen:

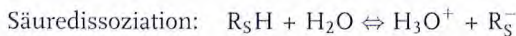
$$\text{p}K_A = \text{pH} - \log \frac{\alpha}{1 - \alpha} \quad (4.9)$$

Für $\alpha = 1/2$ ist $\text{p}K_A = \text{pH}$, d. h. der $\text{p}K_A$ -Wert ist derjenige pH-Wert, bei dem die Hälfte der Säuremoleküle dissoziiert sind. Offensichtlich ist der $\text{p}K_A$ -Wert ein quantitatives Maß für die Stärke einer Säure. In Tabelle 4.1 finden sich einige $\text{p}K_A$ -Werte aufgelistet. Zu beachten ist allerdings, dass diese Werte, wie alle Gleichgewichtskonstanten, eine Temperaturabhängigkeit aufweisen.

4.1.2

Das Säure/Base-Gleichgewicht in Gegenwart von Salzen (Pufferwirkung)

Der Grad der Dissoziation einer Säure (z. B. Essigsäure CH_3COOH) wird durch Zugabe eines Salzes dieser Säure (z. B. Natriumacetat) stark beeinflusst, da sich die Lage der chemischen Gleichgewichte verschiebt (Abb. 4.2). Dabei sind folgende Gleichgewichtsbedingungen zu beachten:



wobei M ein beliebiges Metall ist. Da das Salz zusätzliche Anionen der Säure (R_S^-) liefert, wird das Dissoziationsgleichgewicht der Säure zur undissoziierten Form hin verschoben. Die Säure ist also nur teilweise dissoziiert. Daher sind im System gleichzeitig Protonendonoren und Akzeptoren vorhanden. Wird dem System eine Base zugegeben, so dissoziiert diese ebenfalls gemäß:

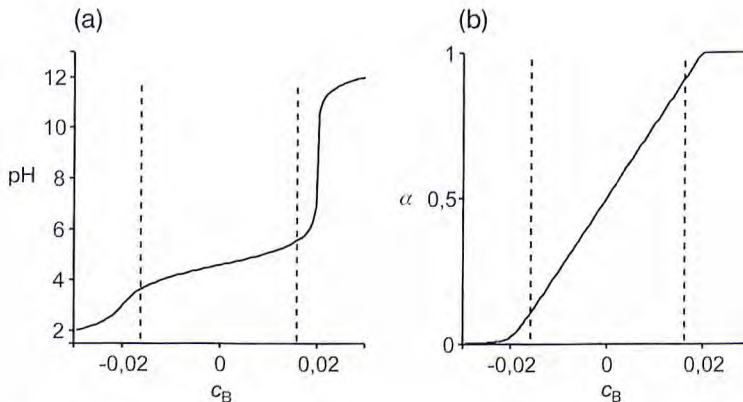
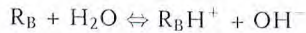


Abb. 4.2 Titrationskurve (a) und Dissoziationsgrad (b) eines Puffers mit $\text{p}K_A = 4,6$, $c_A = 0,02$ mol/l und $c_S = 0,01$ mol/l. Negative Werte von c_B bedeuten Zugabe einer voll dissoziierten Säure, positive Werte Zugabe einer Base. Die gestrichelten senkrechten Linien begrenzen den Pufferbereich, der fast bis zur Konzentration der Puffersubstanz reicht.



Aufgrund des Dissoziationsgleichgewichts des Wassers rekombinieren Hydroxid-Ionen (OH^-) und Protonen, bis $[H^+][OH^-] = K_W$ erfüllt ist. Die notwendigen Protonen werden durch Dissoziation der Säure geliefert. Dieser Mechanismus sorgt dafür, dass ein Gemisch einer Säure und ihres Salzes nahe des pK_A -Werts der Säure den pH-Wert selbst bei Zugabe von Säuren oder Basen relativ konstant halten kann. Daher heißen solche Lösungen auch „Puffer“. Sie sind von großer praktischer Bedeutung.

Selbst wenn man die Wasserkonzentration als konstant annimmt, befinden sich im System Säure + Base + Salz + Wasser acht verschiedene molekulare Spezies. Deren Konzentrationen werden von den Massenwirkungsgesetzen für vier Reaktionen, der Teilchenzahlerhaltung für drei Spezies und der Ladungsneutralität der gesamten Lösung bestimmt.

Es gilt also:

$[H_3O^+] \cdot [OH^-] = K_W$	Dissoziation des Wassers
$\frac{[R_s^-][H_3O^+]}{[R_s H]} = k_A$	Dissoziation der Säure
$\frac{[R_s^-][M^+]}{[R_s M]} = k_S$	Dissoziation des Salzes
$\frac{[R_B H^+][OH^-]}{[R_B]} = k_B$	Dissoziation der Base
$[R_B H^+] + [R_B] = c_B$	Erhaltung der Basenmoleküle
$[M^+] + [R_s^- M] = c_S$	Erhaltung der Metall-Atome
$[R_s^-] + [R_s H] + [R_s M] = c_A + c_S$	Erhaltung der Säuremoleküle
$[R_s^-] + [OH^-] = [M^+] + [H^+] + [R_B H^+]$	Ladungsneutralität der Lösung

Hierbei stehen c_A , c_S und c_B für die zugegebene Menge an Säure, deren Salz und der Base in mol/l. Dieses System kann in der Praxis häufig wie folgt vereinfacht werden. Ist der pK_A -Wert der zugegebenen Base sehr weit vom pH-Wert der Lösung entfernt, so ist die Base vollständig dissoziiert.

$$[R_B H^+] \approx c_B$$

Salze aus einwertigen Ionen sind im Normalfall vollständig dissoziiert, selbst wenn die entsprechende Säure nur teilweise dissoziiert. Dies liegt letztendlich an der geringen Größe der Protonen, wodurch sich für das undissoziierte Säuremolekül eine höhere Bindungsenergie ergibt als für das entsprechende Salz. Es gilt daher in guter Näherung

$$[M^+] \approx c_S$$

Somit können die oberen acht Gleichungen auf die folgenden drei reduziert werden:

$$[\text{R}_\text{S}^-] + \frac{K_\text{W}}{[\text{H}^+]} = c_\text{S} + [\text{H}^+] + c_\text{B}$$

$$[\text{R}_\text{S}^-] + [\text{R}_\text{S}\text{H}] = c_\text{A} + c_\text{S}$$

$$[\text{R}_\text{S}^-][\text{H}^+] = k_\text{A}[\text{R}_\text{S}\text{H}]$$

Wenn man aus diesem Gleichungssystem die Konzentration der Säure und der Säure-Ionen eliminiert, erhält man folgende kubische Gleichung für die Konzentration der Protonen:

$$[\text{H}^+]^3 + [\text{H}^+]^2\{k_\text{A} + c_\text{S} + c_\text{B}\} - [\text{H}^+]\{K_\text{W} + k_\text{A}(c_\text{A} - c_\text{B})\} - K_\text{W}k_\text{A} = 0$$

Diese Gleichung kann im Prinzip noch analytisch gelöst werden. Man greift aber besser zu numerischen Verfahren. Es zeigt sich, dass nur eine der drei möglichen Lösungen positiv ist. Falls man die Zugabe einer voll dissoziierten Säure anstelle einer Base beschreiben will, so kann man einfach für c_B den negativen Wert der Säurekonzentration einsetzen. Dies beruht darauf, dass eine Säure negativ geladene Ionen liefert, während eine Base positiv geladene Ionen liefert. Die Ionen aus der Dissoziation von Säure und Base tauchen also auf verschiedenen Seiten der Gleichung für die Ladungsneutralität der Lösung auf, wodurch sich das verschiedene Vorzeichen ergibt. Der Dissoziationsgrad der Puffersäure ergibt sich aus $\alpha = \left(1 + \frac{[\text{H}^+]}{k_\text{A}}\right)^{-1}$.

Als Titrationskurve bezeichnet man die Abhängigkeit des pH-Werts der Pufferlösung von der Zugabe externer Basen bzw. Säuren. Wie man in Abbildung 4.2 erkennen kann, stabilisiert eine Pufferlösung den pH-Wert der Lösung in einem gewissen Bereich an zugegebenen Säuren oder Basen und zwar durch sich ändernde Dissoziationsgrade der Puffersäure.

In der Praxis benutzt man oft sehr viel kompliziertere Puffer, wie z. B. Mischungen aus Na_2HPO_4 und NaH_2PO_4 . In diesen sehr häufig verwendeten Phosphatpuffern kommen drei verschiedene Dissoziationsgrade der Phosphorsäure zum Tragen, entsprechend viele chemische Gleichgewichte spielen dann eine Rolle für die Pufferwirkung. Trotzdem bleibt die grundlegende Wirkung des Puffers erhalten. Ein weitere Puffersubstanz mit mehreren Dissoziationsgraden, die sowohl im Körper als auch in der Forschung sehr wichtig ist, ist die Kohlensäure. Typische Puffer sind in einem Bereich von einer pH-Einheit um die Aziditätskonstante pK_A der Puffersäure nutzbar.

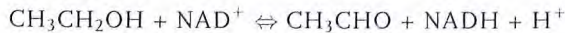
4.2

Reaktionen mit Elektronentransfer (Redoxreaktionen)

4.2.1

Zwischenspeicherung freier Elektronen

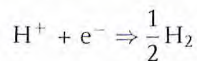
Viele biochemische Reaktionen sind mit Entzug oder Zufuhr von Elektronen verknüpft. Ein Beispiel ist der Abbau von Ethanol zu Acetaldehyd, der durch das Enzym Alkoholdehydrogenase katalysiert wird:



Bei dieser Reaktion nimmt NAD^+ (Nicotinamid-adenin-dinucleotid, Abb. 4.4) zwei Elektronen auf, d. h. es wird reduziert, während Ethanol zwei Elektronen abgibt und somit oxidiert wird. In wässriger Umgebung können solche Reaktionen, in deren Verlauf Elektronen ausgetauscht werden, nur unter Verwendung von Molekülen als „Elektronenspeicher“ ablaufen, da freie Elektronen in Wasser nicht stabil sind.

Nach der Erzeugung eines Elektrons in Wasser orientieren sich die benachbarten Wasser-Moleküle um, sodass ein Teil der Elektronenladung durch die Dipolmomente des Wassers kompensiert wird. Man bezeichnet diesen in Pikosekunden ablaufenden Prozess als *Solvatisierung* (Abb. 4.3).

Solvatisierte Elektronen sind chemisch instabil, da Wasser stets auch freie Protonen enthält, mit denen sie reagieren können.



Bei dieser Reaktion wird sehr viel Energie frei, deswegen ist sie irreversibel und läuft sehr schnell ab. Die Lebensdauer solvatisierter Elektronen hängt vom pH-Wert der Lösung ab und liegt normalerweise unterhalb von 1 msec. Da solvatisierte Elektronen ein sehr starkes Reduktionsmittel sind, können sie fast alle Biomoleküle angreifen und lebensgefährliche freie Radikale erzeugen.

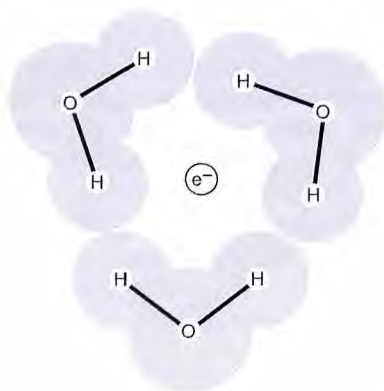


Abb. 4.3 Ein solvatisiertes Elektron.

Um Schäden an Zellen und Geweben zu vermeiden, sind in biologischen Reaktionen Elektronen-Zwischenspeicher notwendig. Diese Rolle wird häufig von Coenzymen wie dem NAD^+ übernommen. Chemische Reaktionen, bei denen Elektronen zwischen verschiedenen Molekülen ausgetauscht werden, werden als Redox-Reaktionen bezeichnet. Wir werden sie im folgenden Abschnitt eingehender behandeln.

4.2.2

Redoxreaktionen

Eine sehr häufige biologische Elementarreaktion ist der direkte Transfer eines Elektrons zwischen zwei Molekülen: dem Elektronen-Donor (D) und dem Elektronen-Akzeptor (A). Die Reaktion



heißt Redoxreaktion, da sie mit einem Oxidationsschritt (Entzug eines Elektrons)



und einem Reduktionsschritt (Aufnahme eines Elektrons)



verknüpft ist. Die Indices bezeichnen dabei die reduzierte bzw. oxidierte Form des Elektronen-Donors und -Akzeptors. Da redoxaktive Moleküle mindestens zwei Redoxstufen haben, können sie sowohl als Reduktions- als auch als Oxidations-Mittel dienen. Ob ein bestimmtes Molekül als Elektronen-Donor oder -Akzeptor wirkt, hängt von der betrachteten Reaktion und den Reaktionspartnern ab.

Einer der häufigsten Reaktionspartner biologischer Redox-Systeme ist das NADPH bzw. NADH (Abb. 4.4). Der redoxaktive Teil des Akzeptor/Donor-Systems ist der Nicotinamid-Ring. Bei der Reduktion entsteht ein organisches Kation.

Bei der Reduktion des NAD^+ müssen gleichzeitig zwei Elektronen geliefert werden, während das zusätzlich notwendige Proton aus der wässrigen Phase kommt.

4.2.3

Das Redoxpotenzial

Ein quantitatives Maß für die Fähigkeit eines Moleküls, Elektronen aufzunehmen oder abzugeben, ist das **Redoxpotenzial**. Der Elektronenfluss erfolgt stets von niedrigeren zu höheren Redoxpotenzialen. Dies ist zum Beispiel für den Metabo-

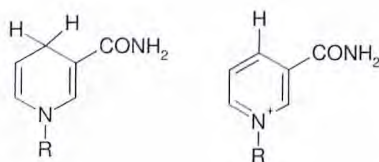


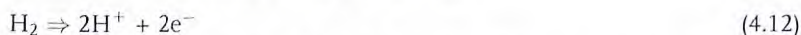
Abb. 4.4 Der Nicotinamid-Ring des NADH- bzw. NADPH-Systems. Links: reduzierte Form (NADH), rechts: oxidierte Form (NAD^+). R steht für den umfangreichen Rest des Moleküls.

lismus entscheidend. Dort wird in Glykolyse und oxidativer Phosphorylierung die Oxidation der Glucose in viele „kleine“ Teilschritte aufgeteilt, bei denen das Redoxpotenzial stets etwas ansteigt.

Den Unterschied der Redoxpotenziale zweier Moleküle kann man aus der Gleichgewichtskonstante der Redoxreaktion zwischen diesen beiden Molekülen bestimmen. Dabei wird aus der Gleichgewichtskonstante die Differenz der Freien Enthalpie unter Standardbedingungen ΔG_0 bestimmt und gemäß

$$\Delta G_0 = - e_0 \Delta U_0 \quad (4.11)$$

in Differenzen des Redoxpotenzials U_0 umgerechnet. Der Index „0“ weist darauf hin, dass wir uns hier auf den chemischen Standardzustand beziehen (alle Konzentrationen, auch $[H^+]$, sind 1 mol/l, d. h. pH 0). Da dieses Verfahren nur relative Werte des Redoxpotenzials liefert, muss der Nullpunkt der Redoxskala willkürlich festgelegt werden. Dazu dient das folgende Elektrolyse-Experiment. Als Standard dient der Elektronen-Donor H_2 gemäß:



Die Messung erfolgt durch die Kombination zweier elektrochemischer Halbzellen (Abb. 4.5).

In elektrochemischen Experimenten gleicht man meistens die äußere Spannung so lange ab, bis kein Strom mehr fließt, da so die teilweise hohen elektrischen Widerstände der ionischen Lösungen und Kontakte keine Rolle spielen. Bei geringen Strömen ermöglicht die Salzbrücke den Transfer von Ladungen von einer Zelle in die andere, ohne einen Kurzschluss zu erzeugen. Sie besteht im einfachsten Fall aus einem feuchten Filterpapierstreifen oder meistens aus mit hoch konzentrierter Salzlösung beladenem Gel (Agar). Im Prinzip könnte ihre Funktion auch durch einen verbindenden Draht erfüllt werden, jedoch kommt es an Metalloberflächen stets zur Ausbildung von Kontaktpotenzialen im mV-Bereich, die jede Messung verfälschen. Bei „guten“ Agar-Salzbrücken sind die Kontaktpotenziale dagegen im 50 μV -Bereich.

Gemessen wird die Spannung U , bei der der Strom nach Einstellung des thermischen Gleichgewichtes in der elektrochemischen Zelle zum Erliegen kommt. Das dann über die Salzbrücke wirkende Potenzial erhält man aus der Bedingung, dass das elektrochemische Potenzial der Ladungsträger in beiden Lösungen gleich sein muss (s. Kapitel 3, Gl. 3.16, 3.39).

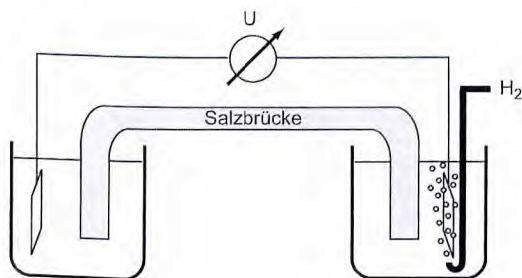


Abb. 4.5 Elektrochemische Referenz-Zelle. Die linke Zelle enthält eine unbekannte Substanz, die rechte eine mit Wasserstoff umspülte Platin-Elektrode (bei 1 atm und 25 °C, pH 0).

$$\mu_{\text{el}} = \bar{\mu} + qU = \bar{\mu} - e_0 U$$

wobei $\bar{\mu}$ für das chemische Potenzial in Abwesenheit eines Felds steht. Es gilt also

$$\mu_{\text{el}} = \mu_0 + k_B T \ln x - e_0 U \quad (4.13)$$

In dieser Gleichung ist x der Molenbruch der Elektronen (bzw. der die Elektronen tragenden Substanz). Bei der Oxidation wird der Substanz ein Elektron durch die Stromquelle zugeführt. Dabei wird ihre Energie um $-e_0 U$ abgesenkt. Es gilt also für das chemische Potenzial der oxidierten Form

$$\mu_{\text{ox}} = \mu_{0,\text{ox}} + k_B T \ln x_{\text{ox}} - e_0 U$$

und für die reduzierte Form

$$\mu_{\text{red}} = \mu_{0,\text{red}} + k_B T \ln x_{\text{red}}$$

Für das Potenzial U an der elektrochemischen Zelle, oft auch Nernst-Potenzial genannt, gilt also

$$U = \frac{\mu_{0,\text{ox}} - \mu_{0,\text{red}}}{e_0} + \frac{k_B T}{e_0} \ln \frac{x_{\text{ox}}}{x_{\text{red}}} = \frac{\Delta G_0}{F} + \frac{RT}{F} \ln \frac{x_{\text{ox}}}{x_{\text{red}}} \quad (4.14)$$

Wegen der Gibbs-Duhem-Beziehung (hergeleitet im Anhang zu Kapitel 3) kann die Differenz der chemischen Potenziale durch die Freie Enthalpie der Reaktion unter Standardbedingungen ersetzt werden, F steht für die Faradaysche Konstante: $F = N_A e_0 \approx 9,648 \frac{\text{As}}{\text{mol}}$.

Die obere Gleichung zeigt uns die Größenordnung elektrochemischer Potenziale: Bei Raumtemperatur entspricht $k_B T / e_0$ 26 mV, Freie Enthalpien unter Standardbedingungen betragen höchstens wenige Elektronenvolt. Daher liegen elektrochemische Potenziale im Bereich von einem Volt. Da sich die elektrochemische Zelle im thermodynamischen Gleichgewicht befindet, muss das elektrische Potenzial auch von den Konzentrationen und der Temperatur abhängen. Unter Standardbedingungen betragen alle Konzentrationen 1 mol/l, deswegen ergibt sich für das Redoxpotenzial einer Substanz unter Standardbedingungen:

$$U_0 = \frac{\Delta G_0}{F}$$

Jedes Molekül kann in oxidiert oder reduzierter Form auftreten. Daher kann man ihm ein Redoxpotenzial U_0 zuordnen, das gegenüber dem des Wasserstoffs positiv oder negativ sein kann. Negatives Potenzial bedeutet: Der Donor gibt leicht Elektronen an H^+ gemäß folgender Reaktion ab:



Der Donor ist in diesem Fall ein gutes Reduktionsmittel. Positives Potenzial bedeutet: Das Molekül nimmt leicht Elektronen auf. Es ist ein gutes Oxidationsmittel.

Tabelle 4.2 Standardwerte der Redoxpotenziale einiger wichtiger Partner der Elektronentransferkette, gemessen bei pH 7 und 25 °C. Bei diesem pH-Wert ist das Potenzial der H₂-Reduktion um 0,42 V zu negativeren Werten verschoben. Dies ist durch den Index 0' markiert. Werte für Cytochrome variieren beträchtlich je nach experimentellen Bedingungen. Cytochrom aa₃ wird in der modernen Literatur meist als Cytochrom c-Oxidase bezeichnet. Abkürzungen: NADH, Nicotinamid-adenin-dinucleotid, NADPH, Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat.

Reduzierte Form	Oxidierte Form	Zahl der Elektronen	U _{0'} (Volt)
H ₂ (pH 7)	2 H ⁺ + 2 e ⁻	2	-0,421
NADH	NAD ⁺ + H ⁺ + 2 e ⁻	2	-0,320
NADPH	NADP ⁺ + H ⁺ + 2 e ⁻	2	-0,324
Ubichinon (Coenzym Q)	Ubihydrochinon + 2 H ⁺ + 2 e ⁻	2	+0,110
Cytochrom b _{red}	Cytochrom b _{ox} ⁺ + e ⁻	1	+0,07
Cytochrom c _{red}	Cytochrom c _{ox} ⁺ + e ⁻	1	+0,254
Cytochrom aa _{3red}	Cytochrom aa _{3ox} ⁺ + 2 e ⁻	2	+0,385
H ₂ O	1/2 O ₂ + 2 H ⁺ + 2 e ⁻	2	+0,816

Aufgrund obiger Messvorschrift wurden für alle biologisch wichtigen Moleküle Standard-Redoxpotenziale bestimmt. Einige wichtige Beispiele, die bei der Elektronen-Transferkette der oxidativen Phosphorylierung und bei der Photosynthese eine Rolle spielen, sind in Tabelle 4.2 zusammengestellt. Dabei wurden die Potenziale nicht auf die in der Chemie übliche H⁺-Konzentration 1 mol/l (entsprechend pH 0), sondern auf die in der Biochemie häufiger benutzte H⁺-Konzentration 10⁻⁷ mol/l (entsprechend pH 7) bezogen. Bei diesem pH-Wert ist das Potenzial der H₂-Oxidation nicht U₀ = 0, sondern (wegen pH = -log[H⁺]):

$$U_0 = 0 + 0,026 \text{ V} \ln(10^{-7}) = -0,42 \text{ V} \quad (4.16)$$

Fast alle biologischen Redoxreaktionen werden durch Enzyme vermittelt. Ein Enzym kann nicht die relative Lage der Redoxpotenziale der beteiligten Moleküle und deren Konzentrationen ändern. Deswegen bleibt das chemische Gleichgewicht zwischen den Redoxpaaren unverändert. Allerdings kann ein Enzym die Reaktionsraten um viele Größenordnungen erhöhen. Meistens geschieht das durch Bildung eines ternären Komplexes aus beiden Reaktionspartnern und dem vermittelnden Enzym. Gleichzeitig wird durch das Enzym die lokale Umgebung, in welcher der Elektronentransfer stattfindet, so verändert, dass die Aktivierungsenergie (d. h. die energetische Barriere, die bei der Reaktion überwunden werden muss) verringert wird. In lebenden Zellen erfolgen chemische Prozesse in vielen Teilschritten. Dabei wurden die Reaktionsraten der einzelnen Teilschritte im Laufe der evolutionären Optimierung aufeinander abgestimmt. Daher kann der Ausfall eines Enzyms in der Zelle zu einer starken Erhöhung

der Konzentration seines Substratmoleküls und zur völligen Verarmung seines Produkts führen, obwohl die *Gleichgewichtskonzentrationen* durch ein Enzym *nicht* verändert werden.

Elektronentransfer-Reaktionen werden wir im Kapitel über Photobiophysik noch genauer studieren.

4.3

Literatur

- Bignold, G. H., Brewer, A. D., Hearn, B. (1971) Specific conductivity and ionic product of water between 50 and 271°C. *Trans. Faraday Soc.*, **67**, 2419–2430.
- Eigen, M. (1964) Proton transfer, acid-base catalysis, and enzymatic hydrolysis. *Angewandte Chemie, International Edition*, **3**, 1–19.
- Kohlrausch, F., Heydweiller A. (1894) Über reines Wasser. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, **14**, 317–330.
- Marx, D., Tuckerman, M.E. Hutter, J.Parrinello M. (1999) The nature of the hydrated excess proton in water. *Nature*, **397**, 601–604.
- Schindewolf, U. (1968) Formation and properties of solvated electrons. *Angewandte Chemie International Edition*, **7**, 190–203

4.4

Weiterführende Literatur

Säure-Base Gleichgewichte und Redoxreaktionen werden in jedem Lehrbuch der physikalischen Chemie beschrieben. Die Autoren haben folgende Lehrbücher der Physikalischen Chemie verwendet:

- Levine, I. (2002) *Physical chemistry* Tata McGraw-Hill, New Delhi. Eine sehr fundierte Einführung in die Physikalische Chemie. Richtet sich im Wesentlichen an Chemiestudenten.
- Tinoco, I., Sauer, K., Wang, J.C., Puglisi, J.D. (2002) *Physical chemistry. principles and applications in biological sciences*, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ. Ein Lehrbuch der Physikalischen Chemie mit spezieller Betonung biologischer Aspekte.
- Wedler G. (2004) *Lehrbuch der Physikalischen Chemie*, Wiley-VCH, Weinheim. Ebenfalls eine sehr fundierte Einführung für Chemiestudenten.

Diese Themen werden auch in fast allen Lehrbüchern der Biochemie behandelt. Auch hier stellen wir eine rein subjektive Auswahl vor.

- Berg, J., Tymoczky, J., Stryer, L. (2003) *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. "Der Stryer" ist eines der am weitesten verbreiteten Lehrbücher der Biochemie. Er ist in sehr klarem Stil geschrieben.
- Doenecke, D., Koolman, J., Fuchs, G. (2005) *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie* Thieme Verlag, Stuttgart. Ein ebenfalls sehr gutes Lehrbuch der Biochemie. Da es sich im Wesentlichen an Studenten der Medizin richtet, enthält es sehr viele medizinisch relevante Beispiele.

Die folgenden beiden Werke sind umfassende und weit verbreitete Lehrbücher der Elektrochemie.

- Bockris, J. O. M., Reddy, A. K. H. (2000) *Modern electrochemistry*, Kluwer Academic / Plenum Press, New York.
- Kortüm, G., Braun, W. (1972) *Lehrbuch der Elektrochemie*, Verlag Chemie, Weinheim.



5

Wichtige Bausteine lebender Systeme und deren Polymerisation

Obwohl lebende Organismen außerordentlich vielseitig sind, bestehen sie nur aus erstaunlich wenigen chemischen Elementen. Von den 81 natürlich vorkommenden, stabilen chemischen Elementen sind nur elf (C, H, O, N, S, P, Na, K, Mg, Ca, Cl) für 99,9% der Körpermasse eines Menschen verantwortlich. In bedeutenden Mengen kommen sogar nur fünf Elemente (C, H, N, O, P) vor. Jeder Organismus nutzt nur ca. ein Viertel der natürlich vorkommenden chemischen Elemente.

In lebenden Organismen werden diese wenigen chemischen Elemente allerdings zu einer unglaublichen Anzahl verschiedener Biomoleküle umgesetzt. So besitzen höhere Zellen (d. h. Eukaryonten) 10 000 bis 50 000 verschiedene Gene, die Proteine codieren. Davon werden in einer gegebenen Zelle nur ungefähr die Hälfte genutzt. Allerdings kann in Eukaryonten die in einem Gen vorgegebene Information noch in den nachfolgenden Schritten bis zur Proteinsynthese bearbeitet und verändert werden (beispielsweise durch Spleißen der RNA). Dieser Prozess erhöht die Anzahl der verschiedenen Proteinmoleküle auf ungefähr das Zehnfache. Insgesamt schätzt man, dass tierische Zellen ungefähr 100 000 verschiedene Proteine aufweisen. Diese molekulare Vielfalt wird aber noch von unserem Immunsystem in den Schatten gestellt. Unser Körper ist in der Lage, die Aminosäuren der Antigen-Erkennungsstellen der Antikörper beliebig zu variieren. Aus diesem Grund kann jeder von uns ungefähr zehn Milliarden verschiedene Antigene erkennen und gegen diese Antikörper bilden, die oft das ganze Leben in unserem Körper zirkulieren. Dies erlaubt es der Menschheit, mit der fortlaufenden Veränderung von Krankheitserregern Schritt zu halten.

Einfachere Zellen (Prokaryonten) weisen weniger Gene auf (600 bis 7000), deren Information auch bis zur Proteinsynthese nicht mehr verändert wird. Doch selbst diese vergleichsweise geringe Zahl führt zu einer beachtlichen Komplexität, da jedes vorhandene Protein mit mehreren anderen Proteinen wechselwirken kann. Zum Beispiel können Proteine in Zellen sich gegenseitig chemisch verändern, bei der Synthese oder dem Abbau anderer Proteine mitwirken oder sich gegenseitig in ihrer Funktion unterstützen. Somit bildet das „Protein-Inventar“ jeder Zelle ein hochdimensionales Netzwerk aus gegenseitigen Abhängigkeiten.

Die Situation wird glücklicherweise dadurch vereinfacht, dass der größte Teil der Biomoleküle durch Kombinationen von kleinen Molekülen aus vier Familien

Tabelle 5.1 Biologisch relevante Moleküle und ihre Funktion

Biologische Funktion	Molekülfamilie
(1) Informationsspeicherung und -übertragung:	Poly-Nukleinsäuren (DNA, RNA)
(2) Steuerung biochemischer Reaktionen:	Poly-Aminosäuren (= Proteine)
(3) Signalübertragung:	Hormone, sekundäre Botenmoleküle wie cAMP (zyklisches Adenosin-monophosphat), Ca^{2+} , Inositol-triphosphat (IP_3)
(4) Energiespeicherung und -umsatz:	Adenosin-triphosphat (ATP), „energiereiches“ Polyphosphat, Polyzucker, Fette
(5) Erkennung auf molekularer Ebene:	Proteine, Poly-Aminosäuren, Oligo-Saccharide, Poly-Saccharide, Oligo-Peptide
(6) Zell-Zell-Erkennung, Fremdstoff-Abwehr (Immunantwort):	Glykoproteine, Glykolipide
(7) zelluläre Strukturbausteine:	Proteine, Polysaccharide, Lipide

entsteht. Diese sind Aminosäuren, Nukleotide, Fettsäuren und Zucker. Eine Zusammenstellung einiger wichtiger Klassen solcher Moleküle und ihrer Aufgabe zeigt Tabelle 5.1.

Wie wir an diesem kurzen Abriss sahen, sind Biomoleküle und ihre Funktionen sehr vielfältig. Ein roter Faden in dieser Vielfalt ist der Aufbau der Biomoleküle aus einfacheren Untereinheiten, die durch die Gesetze der Biochemie bestimmt werden.

5.1

Die Aminosäuren und ihre Polymere

Aminosäuren sind die molekularen Bausteine der Proteine. Sie besitzen in wässriger Lösung die in Abbildung 5.1 gezeigte Struktur.

Die Amino- ($-\text{NH}_2$) und die Säuregruppe ($-\text{COOH}$) der Aminosäuren sind in Wasser bei neutralem pH-Wert dissoziiert, da die Aziditätskonstante (pK_A) der Aminogruppe im Bereich von 9 bis 10 liegt, während diejenige der Säuregruppe 1,8 bis 2,4 beträgt. R ist eine variable Seitengruppe. Dabei kann es sich um unpolare, polare oder (positiv oder negativ) geladene Gruppen handeln. Eine Sonderrolle nimmt Prolin ein, bei dem die Seitengruppe einen Ringschluss an die

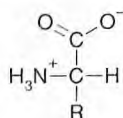
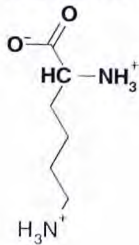


Abb. 5.1 Allgemeine Struktur der Aminosäuren. Die verschiedenen Aminosäuren unterscheiden sich nur in der Seitengruppe R.

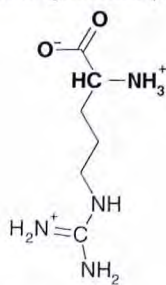
Aminogruppe aufweist. Daher ist Prolin streng genommen gar keine Aminosäure, sondern eine Iminosäure. Durch die mit diesem Ringschluss verbundene geringere Anzahl an frei drehbaren chemischen Bindungen spielt Prolin als „Helix-Brecher“ eine wichtige Rolle für die Sekundärstruktur der Proteine (s. Kapitel 6). In der Natur kommen überwiegend nur 20 verschiedene Seitengruppen,

Tabelle 5.2 Struktur der Aminosäuren. Die 20 natürlich in Proteinen vorkommenden Aminosäuren sind mit ihren ionisierten Amino- und Carboxylgruppen dargestellt, wie sie bei pH 7 vorliegen. Die hervorgehobenen Teile sind bei allen Aminosäuren (außer Prolin) gleich. In Klammern sind die 3-Buchstaben- und 1-Buchstaben-Abkürzungen für die betreffenden Aminosäuren sowie ihre relative Häufigkeit in natürlichen Proteinen angegeben. Die vereinfachten Strukturformeln werden in Anhang Anhang 5.A erläutert.

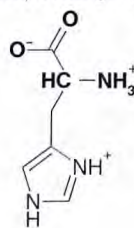
Aminosäuren mit positiv geladenen (basischen) Seitengruppen:



Lysin
(Lys, K, 5,7 %)

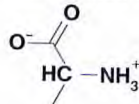


Arginin
(Arg, R, 5,7 %)

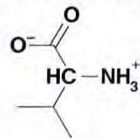


Histidin
(His, H, 2,2 %)

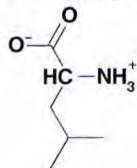
Aminosäuren mit apolaren (hydrophoben) Seitengruppen:



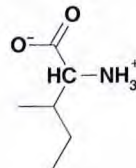
Alanin
(Ala, A, 8,3 %)



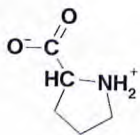
Valin
(Val, V, 6,6 %)



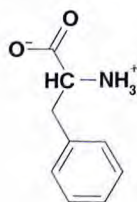
Leucin
(Leu, L, 9,0 %)



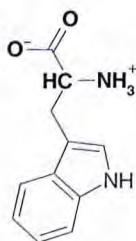
Isoleucin
(Ile, I, 5,2 %)



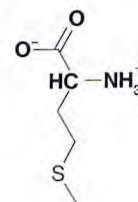
Prolin
(Pro, P, 5,1 %)



Phenylalanin
(Phe, F, 3,9 %)



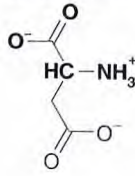
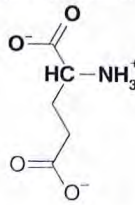
Tryptophan
(Trp, W, 1,3 %)



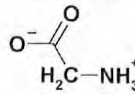
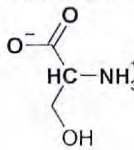
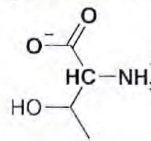
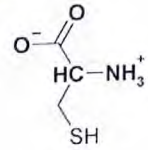
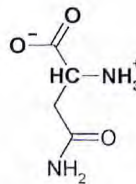
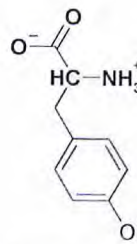
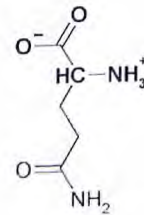
Methionin
(Met, M, 2,4 %)

Tabelle 5.2 Fortsetzung

Aminosäuren mit negativ geladenen (sauren) Seitengruppen:

Asparaginsäure
(Asp, D, 5,3%)Glutaminsäure
(Glu, E, 6,2%)

Aminosäuren mit polaren (hydrophilen), aber ungeladenen Seitengruppen:

Glycin
(Gly, G, 7,2%)Serin
(Ser, S, 6,9%)Threonin
(Thr, T, 5,8%)Cystein
(Cys, C, 1,7%)Asparagin
(Asn, N, 4,4%)Tyrosin
(Tyr, Y, 3,2%)Glutamin
(Gln, Q, 4,0%)

d. h. 20 verschiedene Aminosäuren vor. Davon sind acht unpolar, sieben polar, drei positiv (d. h. basisch) und zwei negativ geladen (d. h. sauer). Eine Zusammenstellung gibt Tabelle 5.2.

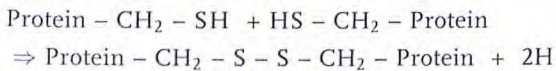
Der Ladungszustand der Seitengruppen der Aminosäuren hängt vom pH-Wert der Umgebung ab. In Tabelle 5.2 werden die bei neutralem pH-Wert vorherrschenden Strukturen gezeigt. Histidin ist die einzige Aminosäure, deren Nebengruppe mit 6,4–7,0 einen pK_A -Wert im neutralen Bereich aufweist. Somit können Histidine als Protonen-Donoren und -Akzeptoren in Enzymen wirken.

5.1.1

Die Polyaminosäuren (Proteine)

Eine besonders wichtige Eigenschaft der Aminosäuren ist ihre starke Tendenz zur Polymerisation; beispielsweise beim Erhitzen. Dabei verbindet sich die Säuregruppe der einen mit der Base der anderen Aminosäure unter Wasserabspaltung, d. h. es handelt sich um eine Kondensationsreaktion (Abb. 5.2). Die beiden Aminosäuren gehen dabei eine so genannte Peptidbindung ein. In einer solchen Polykondensation entsteht ein Kettenmolekül oder Polypeptid (Polyaminosäure). In lebenden Systemen erfolgt die Polymerisation unter ATP-Verbrauch an den Ribosomen. Die Aminosäuresequenz wird bei der Biosynthese sehr genau durch den genetischen Apparat gesteuert. Die Sequenz eines Polypeptids ist auch gerichtet, d. h. sie hat eine *vorgeschriebene Leserichtung*. Der Grund hierfür ist, dass in jeder Peptideinheit des Polymers das Kohlenstoff-Atom, an dem der Rest R hängt, ein chirales Zentrum ist, also einen definierten Drehsinn aufweist. Da sich bei einer Richtungsumkehr der Drehsinn ändert, unterscheidet sich die Aminosäuresequenz PHYSIK von ihrem Spiegelbild KISYHP fundamental auf molekularer Ebene. Sequenzen werden immer in der Reihenfolge von der terminalen Amino- gruppe zur terminalen Säuregruppe angegeben.

Ein Polypeptid kann sehr viele verschiedene räumliche Konformationen annehmen, die sich energetisch nur wenig unterscheiden. Die meisten Proteine besitzen jedoch eine bevorzugte Struktur mit niedrigster Freier Enthalpie. Dies ist die natürliche oder *native Konformation*. Diese Konformation wird oft durch Disulfidbrücken zwischen Cysteinen in verschiedenen Positionen im Polypeptid stabilisiert. Die Reaktion erfolgt gemäß



Auf die Fragestellung der Proteinfaltung werden wir später noch zurück kommen.

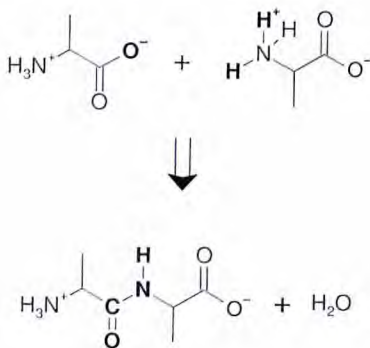


Abb. 5.2 Kondensation zweier Aminosäuren. Die hervorgehobenen Atome in den Edukten verbinden sich zu einem Wassermolekül, das abgespalten wird. Im entstehenden Dipeptid sind die an der Peptidbindung beteiligten Atome fett gedruckt.

5.2

Die Purin- und Pyrimidinbasen

Die Purin- und Pyrimidinbasen sind wesentliche Bestandteile der Desoxyribonukleinsäure (DNA) und der Ribonukleinsäure (messenger-RNA, transfer-RNA). Letztere enthalten den genetischen Code und erfüllen zentrale Aufgaben bei der Proteinbiosynthese. Außerdem sind Vertreter dieser Gruppe in Coenzymen, in den Botenmolekülen der Hormonübertragung (z. B. zyklisches AMP) und in energiereichen Triphosphaten (ATP, GTP) anzutreffen (Abb. 5.3).

Während Pyrimidin eine einfache Ringstruktur aufweist, ist Purin ein Bicyklus. Sein kondensiertes Ringsystem kann als Zusammensetzung aus den beiden Heterozyklen Pyrimidin und Imidazol angesehen werden. Purin, Pyrimidin und die daraus abgeleiteten Nucleobasen unterscheiden sich physikalisch von Aminosäuren durch ihre scheibenartige Form als Folge der ausgedehnten π -Elektronensysteme. Diese Eigenschaft ist entscheidend für die Struktur der doppelsträngigen DNA.

Die innerhalb der DNA bzw. RNA vorkommenden Vertreter dieser Molekülgruppen werden als Basen bezeichnet. Für die Gruppe der Purine handelt es sich dabei um Adenin und Guanin, für die Gruppe der Pyrimidine um Thymin bzw. Uracil und Cytosin (Abb. 5.4).

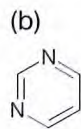
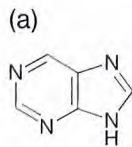
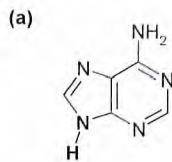
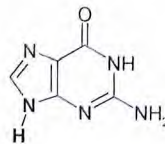


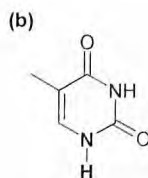
Abb. 5.3 Strukturformel von Purin (a) und Pyrimidin (b). Aus diesen Molekülen leiten sich die Basen ab, die in den Nucleinsäuren vorkommen.



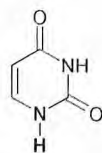
Adenin (A)



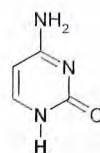
Guanin (G)



Thymin (T)



Uracil (U)



Cytosin (C)

Abb. 5.4 Die in den Nucleinsäuren vorkommenden Nucleobasen sowie deren Einbuchstaben-Abkürzungen. (a) Purinbasen, (b) Pyrimidinbasen. An den hervorgehobenen Aminofunktionen erfolgt die chemische Ankopplung der Nucleobasen an den Rest der Nucleinsäuren.

Adenin, Guanin und Cytosin kommen sowohl in Ribonukleinsäuren (RNA) als auch in Desoxyribonukleinsäuren (DNA) vor, während Thymin nur in der DNA vorkommt und in RNA durch Uracil ersetzt wird.

5.2.1

Nukleoside und Nukleotide

Die Bausteine der RNA und der DNA entstehen aus den Nucleobasen durch Verknüpfung mit Ribose bzw. Desoxyribose. An diesen Zucker werden noch eine oder mehrere Phosphatgruppen gekoppelt. Die Verknüpfung aus Zucker und Nucleobase heißt Nucleosid. Die Phosphorsäureester der Nucleoside heißen Nucleotide (Abb. 5.5 und 5.6). Die Namen der Nucleoside enden für Pyrimidin-Abkömmlinge auf -idin (Cytidin, Uridin, Thyminidin) und für Purin-Basen auf -osin (Adenosin, Guanosin).

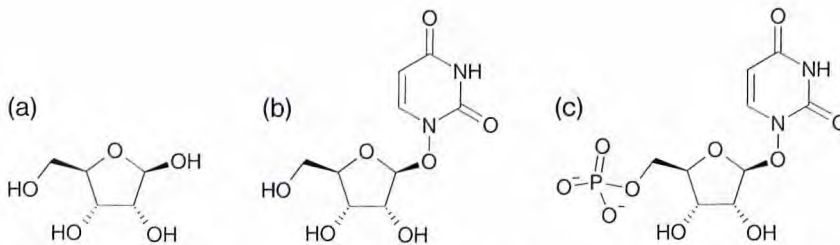


Abb. 5.5 Bausteine der Ribonukleinsäure (RNA). a) β -D-Ribose, b) das Nucleosid des Uracils (Uridin), c) das entsprechende Nucleotid (Uridin-monophosphat).

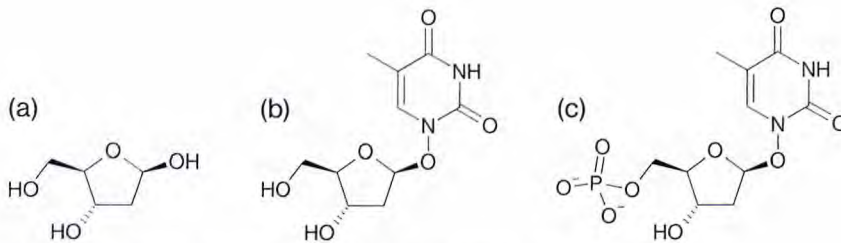
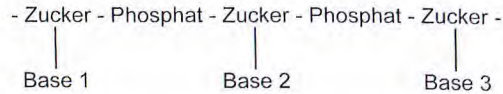


Abb. 5.6 Bausteine der Desoxyribonukleinsäure (DNA). a) 2'-Desoxyribose, b) das Desoxy-Nucleosid des Thymins (Thyminidin), c) das entsprechende Nucleotid (Thyminidin-monophosphat).

5.2.2

Polynukleotide

Durch alternierende Verknüpfung von Zucker und Phosphat in einer Kondensationsreaktion (d. h. unter Abspaltung von Wasser) entstehen Polynukleotide mit folgender prinzipieller Struktur:



Nach diesem Schema entsteht aus Desoxyribose-Abkömmlingen die Desoxyribonukleinsäure (DNA) als Trägerin der genetischen Information (Abb. 5.7). Ebenso entsteht aus Ribose-Abkömmlingen die Ribonukleinsäure (RNA, Abb. 5.8). Zur Synthese von Proteinen wird die entsprechende Information von der DNA in RNA umgeschrieben (Boten-RNA, englisch *messenger-RNA* oder kurz mRNA) und in dieser Form an den Ort der Proteinbiosynthese transportiert (siehe auch Kapitel 9 und 36). Ebenso erfüllen bestimmte Ribonukleinsäuren als so genannte „Ribozyme“ enzymatische Aufgaben. Man kann DNA als Langzeit-speicher der genetischen Information ansehen, während Arbeitskopien der gerade benötigten Informationen aus RNA bestehen.

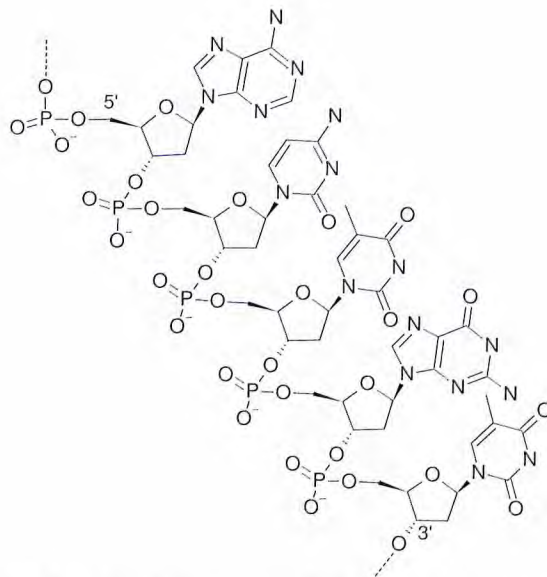


Abb. 5.7 Ausschnitt aus einem DNA-Strang. Die skizzierte Sequenz lautet, von oben (5'-Ende) nach unten (3'-Ende) gelesen, Adenin, Cytosin, Thymin, Guanin, Thymin, oder in Kurzform: ACTGT.

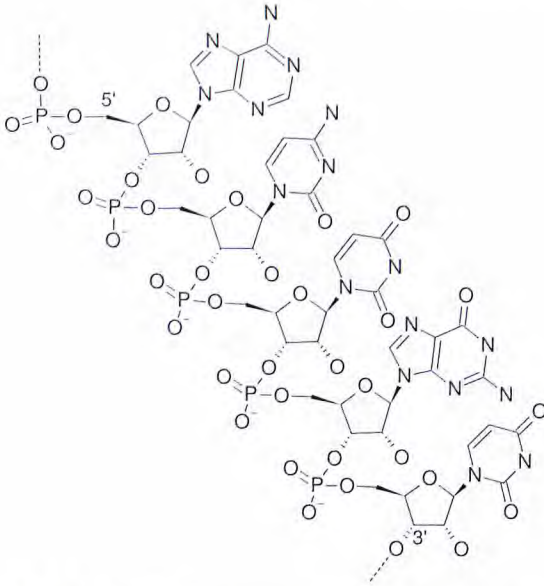


Abb. 5.8 Ausschnitt aus einem RNA-Strang. Die gezeigte Sequenz lautet, wieder von oben nach unten (5'- zu 3'-Ende), Adenin, Cytosin, Uracil, Guanin, Uracil, oder in Kurzform: ACUGU.

5.3

Zucker spielen eine vielfältige Rolle als Energiespeicher, Strukturelement und molekulare Erkennungsgruppe

Zuckermoleküle, oft auch Kohlenhydrate oder Saccharide genannt, spielen eine vielfältige Rolle in der Biologie. In monomerer Form sind sie wichtige Nährstoffe. In polymerisierter Form, d. h. als Polysaccharide, fungieren sie als Reserve-Energiespeicher oder als Strukturelemente. Beispiel für Energiespeicher sind die Stärke in Pflanzen- und das Glykogen in tierischen Zellen. Beispiele für Strukturelemente sind das Chitin als Haupt-Bauelement des äußeren Stützskeletts der Insekten sowie die Cellulose als Hauptbaustein von Holz und Pflanzenfasern.

Monosaccharide besitzen die empirische Formel $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Chemisch leiten sich Zuckermoleküle aus Poly-Alkoholen ab, indem eine der Alkohol-Gruppen zur Carbonyl-Gruppe dehydriert wird. Die Carbonyl-Gruppe kann sich mit Hydroxyl-Gruppen unter Wasser-Abspaltung verbinden (Abb. 5.9). Lineare Saccharide können auch einen innermolekularen Ringschluss vollführen (Abb. 5.10).

Zwei wichtige Beispiele für ringförmige Zuckermoleküle (Mannose und Neuraminsäure, auch Sialinsäure genannt) zeigt Abbildung 5.11. Die Sialinsäure ist ein Kohlenhydrat, das durch Seitengruppen verändert ist. Sie trägt eine negative Ladung, ist vor allem in den Glykoproteinen (Rezeptoren) und Glykolipiden (z. B. Gangliosiden) der Plasmamembran enthalten und sorgt für den Aufbau eines negativen Potentials an der Zelloberfläche. Sie ist aber auch ein wesentliches Element der Erkennungsdomänen der Zellrezeptoren und Blutgruppen-Antigene.

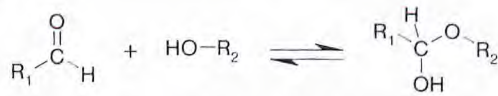


Abb. 5.9 Die Reaktion eines Aldehyds mit einem Alkohol. Im Produkt (Hemiacetal genannt) ist das Kohlenstoff chiral, d. h. die Hydroxyl-Gruppe kann nach oben oder unten stehen.

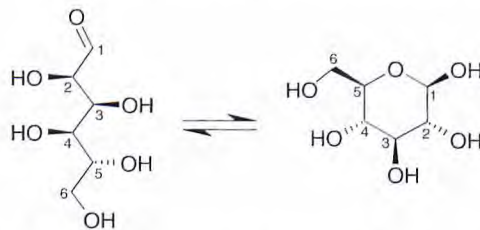


Abb. 5.10 Ringschluss der D-Glucose. Das Kohlenstoff-Atom 2 ist ein chirales Zentrum, die Abkürzung "D" besagt, dass die Hydroxyl-Gruppe an demjenigen asymmetrischen Kohlenstoff-Atom, das am weitesten von der Aldehyd-Gruppe entfernt ist, nach rechts orientiert ist (C5 bei Glucose). In L-Glucose, die spiegelbildlich zu D-Glucose ist, steht

diese Gruppe nach links. Im resultierenden Ring kann die beim Ringschluss neu entstandene OH-Gruppe am Kohlenstoff-Atom 1 sowohl nach unten (α -D-Glucose) als auch, wie hier gezeigt, nach oben stehen (β -D-Glucose). Natürliche Glucose ist in der D-Konformation, α - und β -Form können sich über die lineare Form ineinander umwandeln.

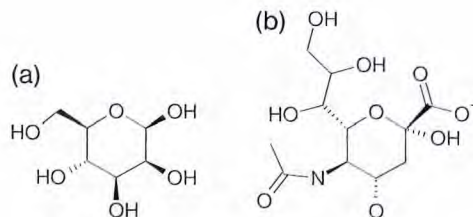


Abb. 5.11 Zwei wichtige Monosaccharide mit sechs Kohlenstoff-Atomen in der Grundstruktur. a) β -D-Mannose, b) N-Acetyl-Neuraminsäure (Sialinsäure).

Da die Ringsysteme der Saccharide aus C-C- oder C-O-Einfachbindungen aufgebaut sind, liegen die Bindungen nicht in einer Ebene. Das folgende Schema zeigt die beiden wichtigsten räumlichen Konformationen: Sessel- (links) und Wannenform (rechts):



In Zuckern mit sechs Kohlenstoff-Atomen (Hexosen) ist meist die Sesselform stabiler.

Die Hydroxyl-Seitengruppen der Saccharide können mit weiteren Hydroxyl-Gruppen, z. B. von Alkoholen, unter Wasserabspaltung reagieren. Dabei entsteht eine kovalente Bindung, die so genannte *glykosidische Bindung* (Abb. 5.12).



Abb. 5.12 Bildung einer glykosidischen Bindung zwischen Saccharid und Alkohol. Im Produkt, dem so genannten Acetal, sind die Positionen von R_2 und R_3 nicht äquivalent. Man unterscheidet die beiden Möglichkeiten der glykosidischen Bindung durch ein α - oder β - vor der Bindungsbezeichnung.

Besonders wichtig sind glykosidische Bindungen für die Bildung von Disacchariden (Abb. 5.13) und Polysacchariden. Letztere können lineare oder verzweigte Ketten aufweisen, wodurch eine Vielzahl von Makromolekülen entsteht.

Glykogen (Abb. 5.14) wird durch das Enzym Glykogensynthase aus Glucose gebildet und spielt eine wichtige Rolle als Energie-Zwischenspeicher in der Leber

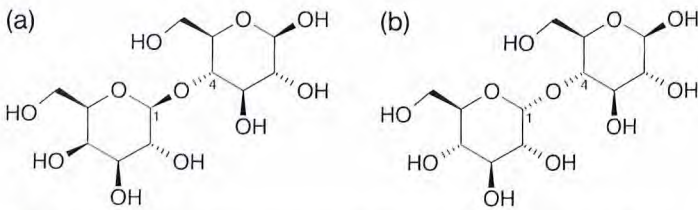


Abb. 5.13 Zwei häufig vorkommende Disaccharide. (a) Lactose besteht aus Galactose, die an Kohlenstoff-Atom 1 mit dem Kohlenstoff-Atom 4 von Glucose verknüpft ist. Beachten Sie, dass die Richtung einer Bindung bezüglich der Ebene des Rings, von dem sie

ausgeht, bezeichnet wird. Deswegen ist die $\beta(1 \rightarrow 4)$ -glykosidische Bindung in Lactose insgesamt von unten nach oben orientiert, d. h. der rechte Ring liegt über dem linken. (b) Maltose besteht aus $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen.

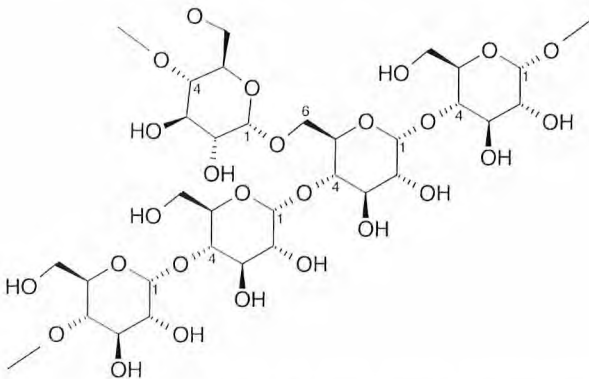


Abb. 5.14 Glykogen besteht aus einem linearen Polymerrückgrat aus Glucose-Molekülen, die $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -glykosidisch verbunden sind. Verzweigungen entstehen durch zusätzliche $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Bindungen, von denen aus neue Ketten wachsen.

und im Muskel. Leber und Muskelzellen können bei einem Glucose-Überangebot im Blut sehr schnell große Mengen des Polysaccharids synthetisieren. Dieses kann bei Bedarf schnell wieder zu Glucose abgebaut werden. Glucose selbst dient allen Zellen als Energielieferant für die Synthese von ATP. Dass eine makromolekulare Form der Glucose als Speicherform dient, hat einen physikalischen Hintergrund: Glykogen kann bis zu 5 % der Masse der Leber ausmachen. In der Form von Glykogen (Molekulargewicht von 10^5 bis 10^7 Da) ist die Konzentration einer 5 %igen Lösung¹⁾ rund $50 \mu\text{M}$. Nach Aufspaltung in Glucose (Molekulargewicht 180 Da) würde die Konzentration derselben Lösung auf 0,28 M steigen. Der osmotische Druck (Abschnitt 3.2, Gl. 3.44) einer 5 %igen Glykogenlösung beträgt nur 120 Pa, während die entsprechende Glucoselösung einen osmotischen Druck von 670 kPa, bzw. fast 7 Atmosphären, ausüben würde. Ein so großer osmotischer Druckunterschied wäre für eine Zelle tierischen Ursprungs nur sehr schwer zu beherrschen.

Die Zuckerchemie ist aufgrund der außerordentlich großen Zahl von Verknüpfungsmöglichkeiten extrem vielfältig. Die Trennung der vielen verschiedenen Isomere ist außerordentlich schwierig. Dies ist der wesentliche Grund dafür, dass noch recht wenig über die strukturellen und mikroskopisch-physikalischen Eigenschaften der Polyzucker bekannt ist. Die strukturelle Vielfalt wird noch durch die Bildung dreidimensionaler Isomere (wie Sessel- und Wannenförmig) gesteigert.

Manche Polysaccharide weisen eine ausgeprägte Überstruktur auf. Ein bekanntes Beispiel ist Zellulose. Diese besteht aus β -D-Glucosemolekülen, die $\beta(1\rightarrow4)$ -glykosidisch verbunden sind. Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen benachbarten Glucose-Einheiten des Polymers stabilisieren eine ausgestreckte Konformation des Polymers (Abb. 5.15). In einer Zellulosefaser wird die teilkristalline Struktur zusätzlich durch Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen verschiedenen Polymeren stabilisiert (siehe auch Kapitel 23). In der Tat ist Zellulose als Hauptbestandteil von Holz eines der häufigsten Polysaccharide in der Natur, was sicher in den hervorragenden mechanischen Eigenschaften dieses teilkristallinen Polymers begründet ist.

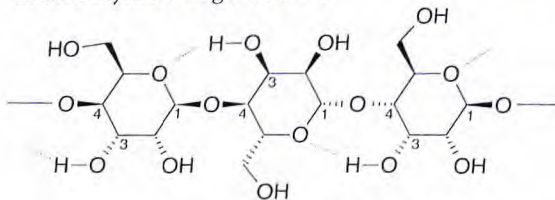


Abb. 5.15 Struktur von Zellulose. Hier bilden sich Wasserstoffbrücken-Bindungen (als gepunktete Linien angedeutet) von der Hydroxyl-Gruppe an Kohlenstoff-Atom 3 zum Sauerstoff-Atom im Ring der benachbarten Glucose-Einheit. Diese zusätzlichen Verbindungen versteifen das Molekül.

1) 5 %ig bezieht sich hier auf den Massenanteil und nicht auf den Molenbruch.

Ein anderes Beispiel ist Stärke, bzw. Amylose (ein Polymer aus Glucose, die, wie in Maltose, $\alpha(1\rightarrow4)$ -glykosidisch gebunden ist). Obwohl das Molekül fast identisch zu Zellulose ist, können hier keine Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen benachbarten Glucose-Einheiten aufgebaut werden. Stattdessen bildet Amylose mit vielen kleinen Substanzen helikale Komplexe, wie zum Beispiel mit Jod. Hierbei bildet sich eine Helix mit sechs Glucose-Einheiten pro Umdrehung, einer Ganghöhe von 0,8 nm und einem Durchmesser von 14 nm. Im hohlen Kern dieser Helix werden die Jod-Ionen komplexiert. Sie bilden gemeinsam mit der Amylose einen Farbstoff, worauf der bekannte Farbnachweis der Stärke mit Jod beruht.

Ein für die biochemische Praxis wichtiges Polysaccharid ist die Agarose. Sie besteht aus polymerisierter Galactose und kann in Wasser selbst bei geringen Konzentrationen gelieren. Solche Agarose-Gele werden für die Trennung von Proteinen und Polynukleinsäuren, als Unterlage für Zellwachstum und als Einbettungsmedium für Zellen benutzt.

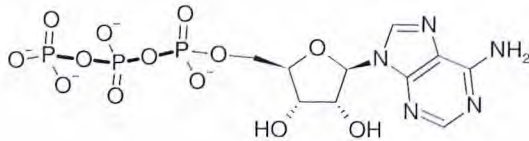
Von besonderem Interesse ist die Rolle der Zucker für Erkennungsprozesse zwischen Proteinen und für die Zell-Zell-Wechselwirkung. Zu diesem Zweck hat die Natur die Glykoproteine und -lipide erfunden, die durch Kombination der Polyzucker mit Proteinen bzw. Lipidmolekülen entstehen. Zu dem interessanten Problem der Verknüpfung der Zuckermoleküle mit der Peptidkette wird auf die Einführung in die Membranbiophysik verwiesen oder auf Biochemielehrbücher. Als Bestandteil der Glykoproteine und -lipide sind die Oligozucker-Reste im Allgemeinen nicht sehr lang. Sie erreichen zwei bis einige Dutzend Monomereinheiten, wobei häufig Sialinsäure die Endgruppe bildet. Allerdings sind Sequenz (d. h. Abfolge der Zuckereinheiten entlang der Kette), Art der Bindung (z. B. $\beta(1\rightarrow4)$ oder $\alpha(2\rightarrow3)$) und Verzweigungen genau kontrolliert. Diese vielfältigen Kombinationsmöglichkeiten führen zu einer sehr großen Zahl an unterscheidbaren Molekülen, die aus einer kleinen Anzahl an monomeren Einheiten hergestellt werden kann: Aus vier verschiedenen Nukleotiden oder Aminosäuren können nur 24 verschiedene Sequenzen hergestellt werden, aus vier verschiedenen Monosacchariden aber 35 560 unterscheidbare Tetrasaccharide. Daher spielen Oligosaccharide eine große Rolle bei der Erkennung von Spezies, Zellart, Entwicklungszustand einer Zelle und sogar bei der Unterscheidung zwischen Individuen.

Allgemein gilt, dass alle Exportproteine sowie alle Membranproteine Glykoproteine sind oder es zumindest während ihrer Biosynthese einmal waren. Es wird vermutet, dass es in Tieren mehr glykosilierte als nicht glykosilierte Proteine gibt (siehe auch Kapitel 9).

5.4

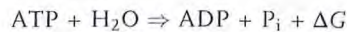
**Der Träger der biologischen Energie (biologisches Energiequant):
ATP (Adenosin-triphosphat)**

Wie oben erwähnt, erreicht die Natur die ungeheure Vielfalt funktioneller Bausteine durch Kombination der Grundelemente Aminosäuren, Basen und Zucker. Ein lebenswichtiges Beispiel für ein Kombinationsmolekül ist das Adenosin-triphosphat (ATP), das den allgegenwärtigen Kurzzeitspeicher der Energie darstellt.



ATP (Adenosin-triphosphat) besteht aus einem Grundkörper aus D-Ribose (Mitte), an den einerseits die Nucleobase Adenin (rechts) gekoppelt ist und andererseits ein Triphosphat (links). Die hervorgehobenen Säureanhydrid-Bindungen im Triphosphat sind energiereich.

Die Energie ist in den kovalenten Bindungen der endständigen Phosphatgruppe gespeichert und kann durch Hydrolyse (= Spaltung unter Wassereinbau) freigesetzt werden:



ADP steht für Adenosin-diphosphat und P_i für eine freie Phosphatgruppe, die dreifach negativ geladen ist. Die gebräuchliche Abkürzung P_i leitet sich her von *inorganic phosphate*.

Die Freie Enthalpie der Spaltungsreaktion ist unter Standardbedingungen

$$\Delta G^0 = -7,9 \text{ kcal/mol} = -32,9 \text{ kJ/mol}$$

Unter typischen Bedingungen in lebenden Zellen liegen die Reaktionspartner in wesentlich geringeren Konzentrationen vor, außerdem komplexiert die vierfach negativ geladene Triphosphat-Gruppe mit mehrwertigen Ionen. Diese Effekte machen Abschätzungen der verfügbaren Freien Enthalpie durch ATP-Spaltung unter physiologischen Bedingungen extrem unsicher. Meistens werden Werte von ungefähr 50 kJ/mol angegeben.

5.5

Die Topologie der Moleküle bestimmt die Funktion

Zahlreiche Beobachtungen zeigen, dass die Form der Isomere eines Moleküls ihre Funktion bestimmt. Ein Beispiel bilden die Hexosen (Zucker mit sechs Atomen im Ring). Von den vielen möglichen Isomeren sind für die Biologie am wichtigsten die Glucose, die Galactose und die Mannose (Abb. 5.16). Diese unterscheiden sich nur in der Anordnung der OH-Gruppen in der 2- und 4-Stellung. Sie erfüllen aber völlig verschiedene Aufgaben. Glucose ist eine wesentliche Form der Nahrung, während die beiden anderen Isomere vorwiegend bei Erkennungsprozessen eine Rolle spielen; beispielsweise als Bestimmungsgruppe der Antigene.

Die drei isomeren Hexosen in Abbildung 5.16 haben sehr ähnliche physikalische Eigenschaften, aber völlig unterschiedliche biologische Funktionen. Der Grund hierfür ist, dass praktisch jede biologisch wichtige Reaktion molekulare Erkennung beinhaltet. Dies gilt sowohl für chemische Umsetzungen durch Enzyme als auch bei der Bildung von molekularen Komplexen. Wie in Kapitel 8 gezeigt wird, erfordert dies, dass die Stärke der zwischenmolekularen Kräfte optimiert wird, indem als Liganden fungierende Molekülgruppen genau in die Bindungstaschen der Enzyme passen. Dabei spielt es natürlich eine große Rolle, ob eine Hydroxyl-Gruppe nach oben oder nach unten aus dem Ring ragt.

Manche kleinen chemischen Moleküle weisen Isomere mit so unterschiedlichen Eigenschaften auf, dass dies technisch bedeutsam wird. So besitzen die isomeren Moleküle 1-Propanol und 2-Propanol (auch Isopropylalkohol genannt) deutlich verschiedene Siedetemperaturen: 97 °C für 1-Propanol und 82 °C für 2-Propanol. Dies (und die leichtere Herstellbarkeit) macht 2-Propanol zum besseren Lösungs- und Reinigungsmittel.

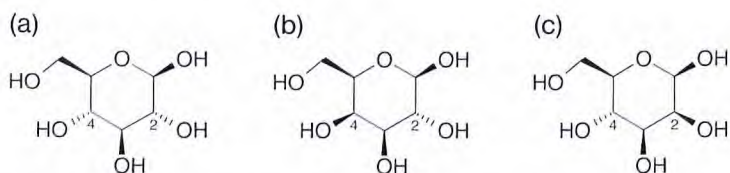


Abb. 5.16 Die drei wichtigsten Isomere der ringförmigen Hexosen. (a) β -D-Glucose, (b) β -D-Galactose und (c) β -D-Mannose.

Anhang 5.A

Chemische Strukturformeln

Chemische Strukturformeln beinhalten viele Vereinfachungen. Zum einen ist es unmöglich, die dreidimensionale Struktur korrekt in einer Ebene darzustellen. Zum anderen kann man meist gar nicht alle Atome explizit in der Struktur zeigen, ohne die Übersichtlichkeit der Struktur zu opfern. Die wesentlichen Abkürzungen sind in den Abbildungen 5.A.1 und 5.A.2 kurz erklärt.

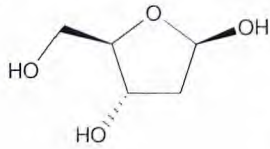


Abb. 5.A.1 Richtungen von Bindungen am Beispiel von 2-Desoxyribose. Der Ring des Zuckers ist hier flach in der Papierebene gedacht. Gefüllte Dreiecke symbolisieren Bindungen, die nach oben über die Ebene des Rings ragen, während gestrichelte Dreiecke Bindungen darstellen, die nach unten ragen.

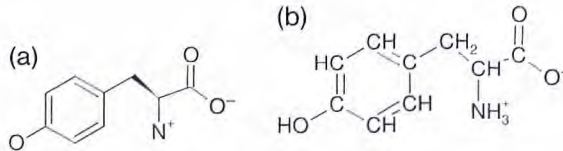


Abb. 5.A.2 Implizite Atome am Beispiel von Tyrosin, (a) Darstellung mit impliziten Atomen, (b) alle Atome gezeigt. Da sowohl Kohlenstoff als auch Wasserstoff sehr häufige Atome sind, wird ihre Benennung oft weggelassen. Dabei wird an jedem Ende bzw. an

jeder Ecke einer Bindung ein Kohlenstoff-Atom angenommen, sofern nicht ein anderes Element explizit gezeigt wird. Noch offene Valenzen der Atome werden als mit Wasserstoff abgesättigt angenommen. Der Gewinn an Übersichtlichkeit ist beachtlich.

5.6

Literatur

McCaldon, P., Argos, P. (1988) Oligopeptide biases in protein sequences and their use in predicting protein coding regions in nucleotide sequences. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, 4, 99–122.

5.7

Weiterführende Literatur

Der Stoff dieses Kapitels wird in vielen Lehrbüchern für Studenten der Biologie und der Chemie, meistens in deutlich größerer Tiefe, behandelt. Nur Bücher, die von den Autoren verwendet wurden, sind zitiert.

Berg, J., Tymoczky, J., Stryer, L. (2003) *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg. Eines der klassischen Lehrbücher der Biochemie. Hervorragende Stoffauswahl und klare Darstellung.

Beyer, H., Walter, W. (2004) *Lehrbuch der organischen Chemie*, 24. Auflage, Hirzel Verlag, Stuttgart. Ein sehr klarer Überblick über die organische Chemie für Studenten der Chemie.

Karlsön, P., Doenecke, D., Koolman, J., Fuchs, G., Gerok, W. (2005) *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie*, Thieme Verlag, Stuttgart. „Der Karlson“ ist eine sehr klare Einführung in die Biochemie mit vielen medizinisch relevanten Beispielen.

Creighton, T.E. (1993) *Proteins*, 2nd ed., Freeman, New York. Ein hervorragendes Buch, das die Eigenschaften der Proteine in sehr breiter Auswahl und mit hohem Anspruch darstellt.

Metzler, D.E. (2001) *Biochemistry Volume 1*, 2nd ed., Harcourt, San Diego. Ein ebenfalls hervorragendes Lehrbuch der Biochemie. Deutlich „chemischer“ als das Buch von Stryer.

6 Physikalische Eigenschaften von Proteinen

6.1 Grundlegendes zur Struktur der Proteine

Nachdem wir im vorhergehenden Kapitel einen Überblick über die verschiedenen Klassen an Biomakromolekülen gegeben haben, wollen wir in diesem Kapitel einen genaueren Blick auf Proteine werfen. Proteine machen 50–60% des Trockengewichts einer lebenden Zelle aus. Sie vollbringen eine unglaubliche Vielzahl an biologischen Funktionen vom Aufbau von Strukturen, über die Katalyse von chemischen Reaktionen, bis hin zur molekularen Erkennung. Proteine sind molekulare Maschinen mit faszinierenden physikalischen Eigenschaften, auf die wir im Rest dieses Buches immer wieder zurückkommen werden.

Als Proteine bezeichnet man lineare Polymere der Aminosäuren mit einer bestimmten Sequenz (d. h. einer eindeutigen Abfolge der Aminosäuren) ab einer Größe von ca. 50 Aminosäuren. Dies entspricht einem Molekulargewicht von ungefähr 5 kDa. Das größte derzeit bekannte Protein ist Titin mit einem Molekulargewicht von 3,0 MDa und 27 000 Aminosäuren. Dieses ungefähr einen Mikrometer lange Protein ist wichtig für den Aufbau der Muskulatur. Die meisten Proteine sind jedoch mit Molekulargewichten im Bereich von 100 kDa und Durchmessern von ungefähr 5 nm wesentlich kleiner.

Neben den Proteinen gibt es noch andere Polymere der Aminosäuren: Oligomere mit einer Sequenzlänge von unter ca. 10 Aminosäuren bezeichnet man im Allgemeinen als Peptide, solche mit einer Länge von 10 bis 50 Aminosäuren als Polypeptide. Sowohl Peptide als auch Polypeptide weisen eine bestimmte Sequenz auf und erfüllen in der Natur z. B. als Hormone wichtige Funktionen. Lange Polymere der Aminosäuren zufälliger Sequenz werden nur chemisch hergestellt und als Polyaminosäuren bezeichnet. Sie liegen meist ungeordnet vor. Im Gegensatz dazu falten die meisten natürlichen Proteine in eine definierte räumliche Struktur, ein Beispiel ist in Abbildung 6.1 gezeigt. Proteinstrukturen sind dynamisch, die einzelnen Atome fluktuieren normalerweise mit Bewegungsamplituden von ca. 0,1 nm um ihre Ruhelage. Als *native Konformation* eines Proteins bezeichnet man diejenige räumliche Struktur, in der es seine biologische Funktion erfüllt.

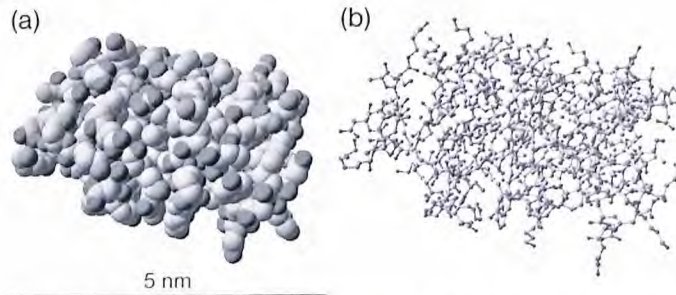


Abb. 6.1 Die Konformation von Myoglobin. (a) Alle Atome sind raumfüllend gezeichnet, (b) kovalente Bindungen in dieser Struktur. Die Strukturdaten sind unter 1BZP in der *Protein Data Bank* (PDB) öffentlich zugänglich (s. Anhang 6.A).

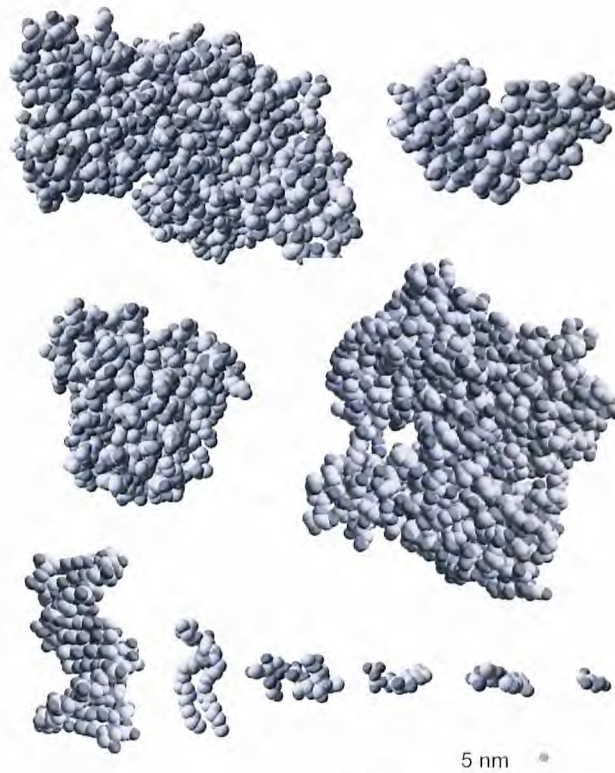


Abb. 6.2 Größenvergleich einiger biologischer Moleküle. Jeweils von links nach rechts werden gezeigt in der ersten Zeile: Seralbumin (2VBD), RNase A (1KF4); in der zweiten Zeile: Myoglobin (1BZP), Aktin (3CIP); und in der dritten Zeile: DNA (460D), Dipalmitoyl-phosphatidylcholin (ein Phospholipid) (1LSH), Sialyl-LewisX (ein Oligosaccharid aus vier Zuckern) (2R61),

Adenosintriphosphat (ATP) (1B0U), Zyko-Adenosin-monophosphat (cAMP) (3PBZ) und Glucose (1BDG). Neben dem Maßstab ist schematisch ein Wasser-Molekül dargestellt. Die Vier-Ziffern-Codes in Klammern geben an, aus welchem Datensatz der Proteindatenbank (PDB) die Koordinaten der Moleküle entnommen wurden.

In Abbildung 6.2 sind einige biologische Moleküle maßstäblich gezeigt. Neben Proteinen (Serumalbumin, RNase A, Myoglobin und Aktin) sind auch DNA, Zucker (Glucose und Sialyl-Lewis-X), ein Phospholipid und chemische Abkömmlinge der Nukleotide (ATP und cAMP) gezeigt. Die hier gezeigten Konformationen wurden durch Röntgenkristallografie bestimmt. Es handelt sich also um gemittelte Geometrien, die sich unter Einfluss der hohen Packungsdichte im Kristall eingestellt haben. Einige Molekülstrukturen, z. B. das Phospholipid, sind auch in den originalen Daten nur ein Bestandteil einer größeren Struktur und daher in der Form an diese angepasst. Sämtliche Moleküle können leicht durch Drehung um Einfachbindungen ihre Geometrie ändern.

Die beiden Abbildungen 6.1 und 6.2 zeigen auch sehr deutlich, dass Proteinstrukturen sehr komplex sind. Ordnung in diese Vielfalt bringt eine hierarchische Betrachtung (oder Klassifizierung) der Struktur. Dabei ist die niedrigste Hierarchie-Ebene die der Sequenz. Die lineare Abfolge der Aminosäuren in einem Protein bezeichnet man auch *Primärstruktur*. Diese wurde bereits in Abschnitt 5.1. vorgestellt, weitere Details folgen später in diesem Kapitel. Auf der nächsthöheren Ebene liegen *Sekundärstrukturen* vor. Dies sind bestimmte Muster, wie sich benachbarte Aminosäuren räumlich zueinander anordnen können (Abb. 6.3). Am bekanntesten sind die α -Helix, bei der das Proteinrückgrat schraubenförmig gewunden vorliegt, sowie die Faltblattstrukturen, bei denen das Proteinrückgrat längere parallele Bereiche aufweist. Beide Strukturelemente werden durch Wasserstoffbrücken-Bindungen stabilisiert. Als zufälliges Knäuel bezeichnet man normalerweise alle Geometrien des Proteinrückgrats, die sich dieser Klassifizierung entziehen. Weitere Informationen über Sekundärstrukturen findet man in Abschnitt 7.2 oder in den meisten Lehrbüchern der Biochemie oder der Strukturbiologie.

Als *Tertiärstruktur* bezeichnet man die Anordnung der Sekundärstrukturelemente zu relativ kompakten Domänen. Kleinere Proteine, wie das Myoglobin, bestehen nur aus einer Domäne. Größere Proteine bestehen aus mehreren

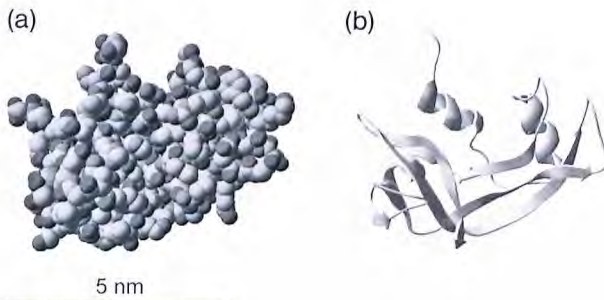


Abb. 6.3 RNase A, ein RNA schneidendes Enzym. (a) Volumenfüllende Darstellung aller Atome; (b) Bändermodell der Sekundärstruktur-Elemente. Flache Bänder stehen für Faltblattstrukturen, gewundene Bänder für α -

helikale Bereiche und dünne Linien für Bereiche ohne klare Sekundärstruktur. In dieser Darstellung folgen die Bänder dem Proteinrückgrat und die Seitengruppen werden vernachlässigt. PDB-Datensatz 1KF5.

Domänen, wobei die Verbindungen zwischen den Domänen meistens aus relativ flexiblen Peptidsequenzen bestehen. Isoliert man solche Proteindomänen von den benachbarten, zum Beispiel indem man sie durch gentechnische Verfahren isoliert herstellt oder durch enzymatische Verdauung der verbindenden Sequenzen von den Nachbarn trennt, so falten sie immer noch in eine native Konformation, die derjenigen im natürlichen Protein sehr stark ähnelt.

Als *Quartärstruktur* bezeichnet man den Aufbau großer Proteine aus Domänen oder die Aneinanderlagerung kleinerer, globulärer Proteine, die miteinander einen größeren Funktionskomplex bilden. Ein Beispiel für die Domänenstruktur eines großen Proteins ist in Abbildung 6.4 gezeigt. Auch das in der Einleitung genannte Riesensmolekül Titin besteht aus sich wiederholenden Domänen, d. h. sein Aufbau ist nicht so komplex, wie seine Größe vermuten lässt. Interessanterweise finden sich bestimmte Domärentypen, wie WD40-Domänen oder SH-Domänen, als Bestandteile vieler Proteine wieder. Häufig haben diese Domänen immer wieder dieselbe oder eine nahe verwandte Funktion. Man nennt sie deswegen auch homologe Domänen. Zum Beispiel wirken WD40- und SH-Domä-

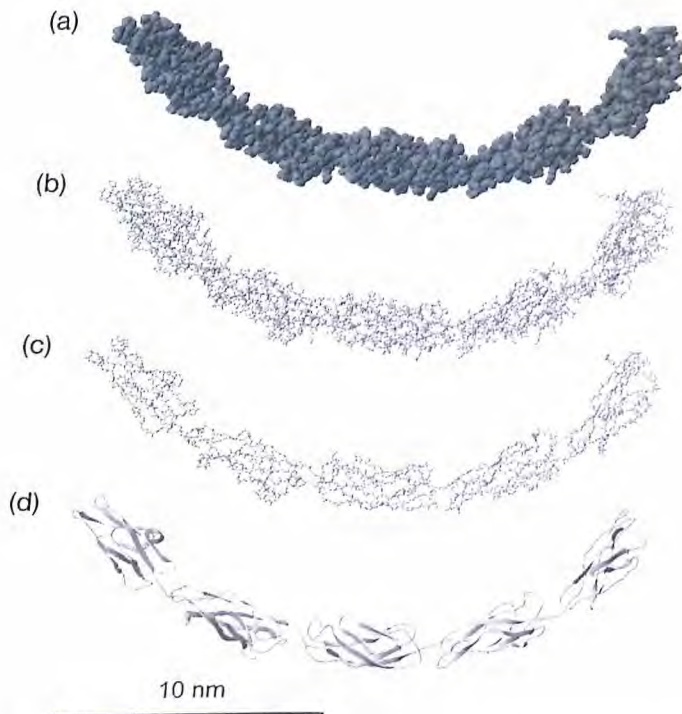


Abb. 6.4 E-Cadherin, ein Zelladhäsionsprotein, in vier verschiedenen Ansichten. (a) Van der Waals-Radien aller Atome, (b) Kugel-Stäbchen Modell aller Atome, (c) Kugel-Stäbchen-Modell der Atome des Rückgrats

und (d) Bändermodell. Mit zunehmender Abstrahierung der Darstellung wird die Domänenstruktur des Proteins deutlicher. Hier sind nur die extrazellulären Domänen des Moleküls gezeigt. PDB-Datensatz 1Q5B.

nen oft als Bindungsstellen für andere Proteine, welche eine Regulierung der Aktivität ermöglichen. Man kann also Proteindomänen als Funktionsmodule verstehen, die je nach den Bedürfnissen des Organismus im Verlauf der Evolution zu größeren Funktionseinheiten oder „Maschinen“ kombiniert werden. Proteindomänen und ihre Funktion werden uns in den Kapiteln 7, 18 und 19 wieder begegnen.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass nicht alle Proteine eine einzige native Konformation besitzen. Manche Proteine, insbesondere aus höheren Organismen, besitzen mehrere alternativ gefaltete Formen oder sind in manchen Bereichen völlig ungeordnet. Solche Proteine heißen *intrinsisch ungeordnete Proteine*, (s. Abschnitt 7.1).

Über die Quartärstrukturen von Proteinen ist wesentlich weniger bekannt als über die anderen Hierarchieebenen der Struktur, da sie deutlich schwieriger zu untersuchen sind. Primärstrukturen von Proteinen kann man über chemische Sequenzierung des Proteins oder des Gens leicht und eindeutig bestimmen. Heute wird dies sogar als Serviceleistung kommerziell angeboten. Sekundärstrukturen werden meistens spektroskopisch bestimmt, da sie sich in den Drehwinkeln zwischen den Peptidbindungen (s. unten) unterscheiden. Diese verschiedenen Drehwinkel führen zu unterschiedlichen Schwingungsspektren (Infrarotabsorption oder Ramanstreuung) was ihre Identifikation ermöglicht. Einzelne Domänen können meistens kristallisiert werden und dann in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Alternativ kann die Struktur auch mit NMR-Spektroskopie bestimmt werden. Quartärstrukturen hingegen können nur in wenigen Fällen durch Kristallografie aufgeklärt werden, da so große Moleküle selten kristallisiert werden können und, falls dies doch gelingt, durch Packungseffekte im Kristall stark verformt werden können. Die wichtigsten Techniken für die Aufklärung von Quartärstrukturen sind Elektronenmikroskopie und Elektronentomografie, die jedoch im Vergleich zu den bisher genannten Techniken sehr arbeitsaufwändig und anfällig für Artefakte sind. Die Daten in Abbildung 6.4 sind zum Beispiel durch Vergleich von hochauflösenden Elektronenmikroskopie-Aufnahmen des gesamten Komplexes mit den durch Röntgenkristallografie bestimmten Konformationen der einzelnen Domänen gewonnen worden. Zurzeit besteht die Hoffnung, dass sich diese Situation in den nächsten Jahren durch die rasante Weiterentwicklung höchstauflösender lichtmikroskopischer Techniken ändern wird. Eine Beschreibung der genannten Messtechniken würde leider den Rahmen dieses Buches bei Weitem sprengen. Zudem werden diese Themen in hervorragenden spezialisierten Lehrbüchern behandelt, siehe die Literaturhinweise am Ende des Kapitels.

Im weiteren Verlauf dieses und in den beiden darauf folgenden Kapiteln werden wir genauer auf Proteine eingehen. Wir beginnen mit einer Beschreibung der physikalischen Wechselwirkungen in und zwischen Proteinen, da diese den folgenden Aspekten zugrunde liegen. Danach widmen wir uns in Kapitel 7 den Prinzipien der Proteinfaltung und in Kapitel 8 der molekularen Erkennung durch Proteine sowie einigen physikalischen Schlüsselexperimenten zu Proteinen.

Domänen, wobei die Verbindungen zwischen den Domänen meistens aus relativ flexiblen Peptidsequenzen bestehen. Isoliert man solche Proteindomänen von den benachbarten, zum Beispiel indem man sie durch gentechnische Verfahren isoliert herstellt oder durch enzymatische Verdauung der verbindenden Sequenzen von den Nachbarn trennt, so falten sie immer noch in eine native Konformation, die derjenigen im natürlichen Protein sehr stark ähnelt.

Als *Quartärstruktur* bezeichnet man den Aufbau großer Proteine aus Domänen oder die Aneinanderlagerung kleinerer, globulärer Proteine, die miteinander einen größeren Funktionskomplex bilden. Ein Beispiel für die Domänenstruktur eines großen Proteins ist in Abbildung 6.4 gezeigt. Auch das in der Einleitung genannte Riesenzellmolekül Titin besteht aus sich wiederholenden Domänen, d. h. sein Aufbau ist nicht so komplex, wie seine Größe vermuten lässt. Interessanterweise finden sich bestimmte Domänentypen, wie WD40-Domänen oder SH-Domänen, als Bestandteile vieler Proteine wieder. Häufig haben diese Domänen immer wieder dieselbe oder eine nahe verwandte Funktion. Man nennt sie deswegen auch homologe Domänen. Zum Beispiel wirken WD40- und SH-Domä-

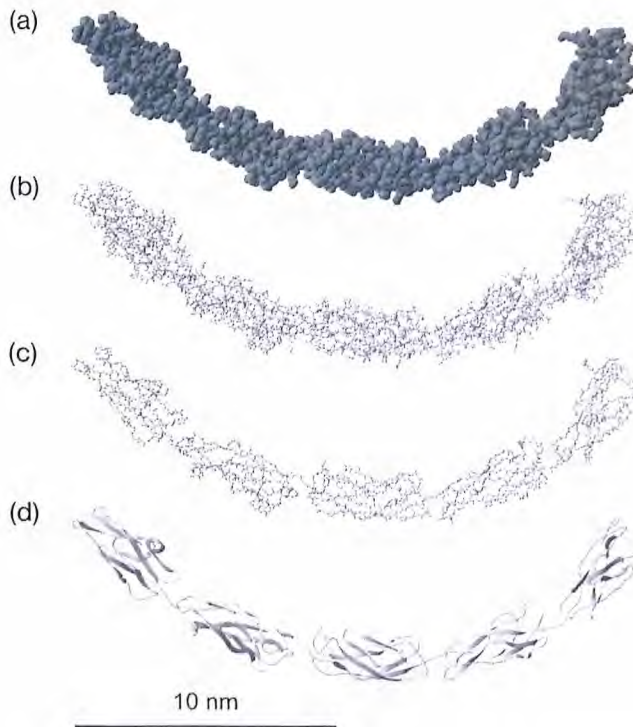


Abb. 6.4 E-Cadherin, ein Zelladhäsionsprotein, in vier verschiedenen Ansichten. (a) Van der Waals-Radien aller Atome, (b) Kugelstäbchen Modell aller Atome, (c) Kugelstäbchen-Modell der Atome des Rückgrats

und (d) Bändermodell. Mit zunehmender Abstrahierung der Darstellung wird die Domänenstruktur des Proteins deutlicher. Hier sind nur die extrazellulären Domänen des Moleküls gezeigt. PDB-Datensatz 1Q5B.

nen oft als Bindungsstellen für andere Proteine, welche eine Regulierung der Aktivität ermöglichen. Man kann also Proteindomänen als Funktionsmodule verstehen, die je nach den Bedürfnissen des Organismus im Verlauf der Evolution zu größeren Funktionseinheiten oder „Maschinen“ kombiniert werden. Proteindomänen und ihre Funktion werden uns in den Kapiteln 7, 18 und 19 wieder begegnen.

An dieser Stelle sei darauf hingewiesen, dass nicht alle Proteine eine einzige native Konformation besitzen. Manche Proteine, insbesondere aus höheren Organismen, besitzen mehrere alternativ gefaltete Formen oder sind in manchen Bereichen völlig ungeordnet. Solche Proteine heißen *intrinsisch ungeordnete Proteine*, (s. Abschnitt 7.1).

Über die Quartärstrukturen von Proteinen ist wesentlich weniger bekannt als über die anderen Hierarchieebenen der Struktur, da sie deutlich schwieriger zu untersuchen sind. Primärstrukturen von Proteinen kann man über chemische Sequenzierung des Proteins oder des Gens leicht und eindeutig bestimmen. Heute wird dies sogar als Serviceleistung kommerziell angeboten. Sekundärstrukturen werden meistens spektroskopisch bestimmt, da sie sich in den Drehwinkeln zwischen den Peptidbindungen (s. unten) unterscheiden. Diese verschiedenen Drehwinkel führen zu unterschiedlichen Schwingungsspektren (Infrarotabsorption oder Ramanstreuung) was ihre Identifikation ermöglicht. Einzelne Domänen können meistens kristallisiert werden und dann in ihrer Struktur aufgeklärt werden. Alternativ kann die Struktur auch mit NMR-Spektroskopie bestimmt werden. Quartärstrukturen hingegen können nur in wenigen Fällen durch Kristallografie aufgeklärt werden, da so große Moleküle selten kristallisiert werden können und, falls dies doch gelingt, durch Packungseffekte im Kristall stark verformt werden können. Die wichtigsten Techniken für die Aufklärung von Quartärstrukturen sind Elektronenmikroskopie und Elektronentomografie, die jedoch im Vergleich zu den bisher genannten Techniken sehr arbeitsaufwändig und anfällig für Artefakte sind. Die Daten in Abbildung 6.4 sind zum Beispiel durch Vergleich von hochauflösenden Elektronenmikroskopie-Aufnahmen des gesamten Komplexes mit den durch Röntgenkristallografie bestimmten Konformationen der einzelnen Domänen gewonnen worden. Zurzeit besteht die Hoffnung, dass sich diese Situation in den nächsten Jahren durch die rasante Weiterentwicklung höchstauflösender lichtmikroskopischer Techniken ändern wird. Eine Beschreibung der genannten Messtechniken würde leider den Rahmen dieses Buches bei Weitem sprengen. Zudem werden diese Themen in hervorragenden spezialisierten Lehrbüchern behandelt, siehe die Literaturhinweise am Ende des Kapitels.

Im weiteren Verlauf dieses und in den beiden darauf folgenden Kapiteln werden wir genauer auf Proteine eingehen. Wir beginnen mit einer Beschreibung der physikalischen Wechselwirkungen in und zwischen Proteinen, da diese den folgenden Aspekten zugrunde liegen. Danach widmen wir uns in Kapitel 7 den Prinzipien der Proteinfaltung und in Kapitel 8 der molekularen Erkennung durch Proteine sowie einigen physikalischen Schlüsselexperimenten zu Proteinen.

6.2

Physikalische Wechselwirkungen in und zwischen Proteinen

Die Existenz einer bevorzugten Struktur der Proteine wirft die Frage nach den Ursachen dieser Struktur auf. Ebenso führt die Existenz einer definierten Struktur zu physikalischen Eigenschaften der Proteine, die man in dieser Form für synthetische Makromoleküle nicht kennt. Um beide Fragenkomplexe zu verstehen, muss man bei den physikalischen Wechselwirkungen zwischen den Atomen und Atomgruppen, aus denen die Proteine bestehen, beginnen. Im Rest dieses Kapitels behandeln wir die mikroskopischen Wechselwirkungen zwischen den Bestandteilen eines Proteins. Auf dieser Basis können wir uns dann im nächsten Kapitel der Proteinfaltung unter thermodynamischen und kinetischen Aspekten zuwenden. Dabei zeigt sich, dass selbst ein kleines Protein aus nur fünfzig Aminosäuren schon ungefähr 10^{200} verschiedene Konformationen annehmen kann. Die zentrale Frage, die wir für die Proteinfaltung diskutieren werden, ist, wie der Faltungsprozess so verlaufen kann, dass er in endlichen Zeiten zum nativen Zustand des Proteins führt.

Hier werden wir zunächst die Wechselwirkungen, die für den Aufbau und die Eigenschaften der Proteine wichtig sind, kurz beschreiben. Auf weiterführende Literatur wird im Einzelfall verwiesen.

6.2.1

Kovalente Bindungen

Proteine werden in ihrer Grundstruktur durch kovalente Bindungen stabilisiert. Kovalente Bindungen sind sehr stabil, d. h. bei ihrer Bildung werden große Energien frei, ihre Längen und ihre Bindungswinkel sind sehr genau festgelegt (Tab. 6.1).

Es kostet beträchtliche Energie, kovalente Bindungen zu strecken (Abb. 6.5). Für kleine Auslenkungen beträgt die Federkonstante einer Einfachbindung ungefähr 200 N/m. Für eine Änderung der Bindungslänge einer Einfachbindung um 10 % muss also eine Energie aufgebracht werden, die ungefähr 5 % der Bindungsenergie beträgt. Nach dem Gleichverteilungssatz der Thermodynamik (s. Übungsaufgabe 4.5) hat ein Oszillator mit der Federkonstante κ im thermischen Gleichgewicht eine mittlere Auslenkung von $\sqrt{k_B T / \kappa}$, d. h. in unserem Fall 4 pm oder 3 % der Bindungslänge. Die Federkonstanten von Doppelbindungen sind im Schnitt doppelt so hoch, was zu entsprechend geringeren Fluktuationen führt.

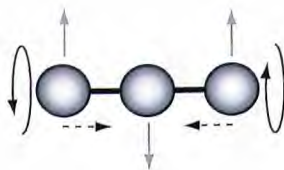


Abb. 6.5 Drehung um die Achse (Torsion, Kreise), Verbiegung der Bindungswinkel (graue Pfeile) und Veränderung der Bindungslänge (gestrichelte Pfeile) sind die drei grundlegenden Moden der Deformation einer kovalenten Bindung.

Tabelle 6.1 Eigenschaften ausgewählter kovalenter Bindungen (Daten aus [1]). 1 kJ/mol entspricht einer Energie pro Teilchen von $1,6695 \cdot 10^{-21}$ J oder 0,01036 Elektronvolt. Dies entspricht gemäß $E = k_B T$ einer Temperatur von 120,27 K.

Bindung	Bindungsenergie (kJ/mol)	Länge (pm)
C–H	415	107
C–C	344	154
C=C	615	134
C–N	292	147
C–O	350	143
C=O	725	123
N–H	391	100
O–H	463	96

6.2.2

Veränderung der Bindungswinkel

Die Änderung von Bindungswinkeln ist ebenfalls mit beträchtlichen Energien verknüpft. Die Federkonstanten für diese Mode hat die Einheit Energie pro Winkel zum Quadrat. Typische Federkonstanten sind für Einfachbindungen (z. B. Einfachbindungen des Kohlenstoffs) 190 kJ/rad^2 . Die thermische Energie führt hier zu Winkelfluktuationen von $0,11 \text{ rad}$ bzw. 7° . Doppelbindungen z. B. des Kohlenstoffs sind mit ca. 290 kJ/rad^2 wesentlich steifer gegen Veränderung der Bindungswinkel.

6.2.3

Drehungen von kovalenten Bindungen

Je nachdem, ob es sich um Einfach- oder Doppelbindungen handelt, ist die Torsion um die Achse der Bindung mit mehr oder weniger Energieaufwand verknüpft. Das einfachste Beispiel für ein Molekül mit Einfachbindungen ist Ethan, C_2H_6 . Da die Orbitale des Kohlenstoffs tetraedrisch orientiert sind, ergibt sich eine dreizählige Symmetrie bei Drehung um die C–C-Bindungsachse. Normalerweise stehen die Wasserstoff-Atome so, dass sie den größten Abstand haben, bei einer Rotation um 60° kommen sie sich aber maximal nahe. Das Potenzial für eine Torsion um den Winkel Θ kann also als $U = V_t/2[1 + \cos(3\Theta)]$ angenähert werden. Die Größe V_t ist auch als Rotationsbarriere bekannt. In Ethan ergeben Experimente für V_t einen Wert von ca. 12 kJ/mol . Wir werden in Kapitel 10 sehen, dass die gehinderte Rotation um C-C-Bindungen eine wichtige Rolle für die Eigenschaften von Biomembranen spielt. Die Rotation der C–O-Bindung in Methanol ist mit einer deutlich geringeren Energiebarriere von ca. 5

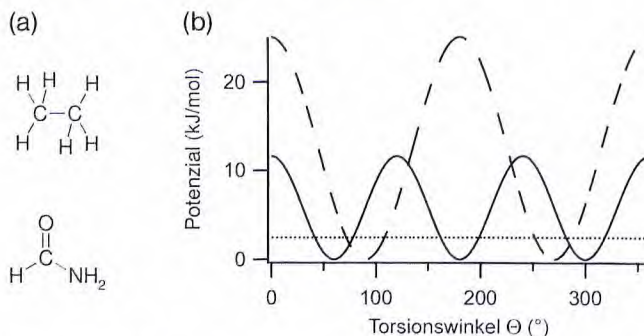


Abb. 6.6 (a) Strukturformeln von Ethan und Formamid; (b) die Potentiale bei Torsion um die C–C-Bindung in Ethan (durchgezogene Linie) bzw. um die C–N-Bindung in Formamid (unterbrochene Linie). Ebenfalls markiert ist die thermische Energie als gestrichelte Linie.

In beiden Molekülen fluktuiert der Torsionswinkel aufgrund der thermischen Bewegung um ca. 12°. Die Barrieren können aber durch thermische Anregung überwunden werden. Wie wir in Kapitel 9 sehen werden, führt dies zu gehinderten Rotationen um C–C-Bindungen.

kJ/mol verknüpft. Für Einfachbindungen mit trigonaler Symmetrie, wie die C–N-Bindung in Formamid, ergibt sich eine zweizählige Symmetrie sowie eine wesentlich höhere Rotationsbarriere von 25 kJ/mol.

Drehungen um Einfachbindungen sind durch thermische Anregungen bis hin zum Übergang von einem Minimum zum anderen möglich. Drehungen um Doppelbindungen jedoch nicht. Für diese ist die Rotationsbarriere höher als die Bindungsenergie. Dies ist in der quantenmechanischen Struktur der Doppelbindungen begründet. Eine kovalente Bindung entsteht aus der Überlagerung von Wellenfunktionen der Elektronen, den so genannten Orbitalen. Für Einfachbindungen sind diese Wellenfunktionen symmetrisch bei Drehung um die Bindungsachse. Diese Orbitale werden auch σ -Orbitale genannt, siehe auch Kapitel 31. Daher ist eine Einfachbindung leicht drehbar. Bei einer Doppelbindung ist eines der beteiligten Elektronen ebenfalls in einem σ -Orbital, das andere aber im energetisch höher liegenden π -Orbital. Dieses ist antisymmetrisch bei Spiegelung an einer Ebene durch die Bindung. Deswegen muss dieses Orbital verlassen werden, um eine Rotation um die Bindungsachse zu ermöglichen. In anderen Worten, eine Doppelbindung muss gebrochen werden, um eine komplette Rotation zu ermöglichen.

6.2.4

Sterische Abstoßung

Zwischen zwei Molekülen mit abgeschlossenen Elektronenschalen kommt es zu sehr starken Abstoßungskräften, falls sich die Elektronenhüllen überlappen. Diese Abstoßung setzt abrupt ein und wächst sehr schnell mit sinkendem Abstand an. Sie wird *sterische Abstoßung* genannt. Für viele praktische Zwecke kann man die Abstoßung kurzer Reichweite zwischen nicht bindenden Atomen als Wechselwirkung harter Kugeln modellieren. Dabei hat jedes Atom einen cha-

Tabelle 6.2 Van der Waals-Radien einiger Atome und Atomgruppen (Daten aus [2])

Atom(-gruppe)	H	CH ₃	N	O	P
van der Waals-Radius (pm)	110	200	150	140	190

Tabelle 6.3 Van der Waals-Radien einiger Ionen (Daten aus [2])

Ion	F ⁻	Cl ⁻	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
Radius (pm)	136	181	95	133	65	99

rakteristischen Radius (Tab. 6.2). Dieser wird zu Ehren von Johannes D. van der Waals, der die endliche Größe von Atomen bei seinen Untersuchungen zur Zustandsgleichung realer Gase entdeckte, *van der Waals-Radius* genannt. Das Volumen, das diese Kugeln ausfüllen, heißt auch van der Waals-Volumen. Ganz analog lassen sich auch den stabilen Ionen Radien zuordnen (Tab. 6.3).

Natürlich ergeben sich bei genauerer Analyse von Molekül- und Kristallstrukturen Abweichungen von diesem einfachen Bild, die sich durch Abweichungen von der Kugelform erklären lassen. Diese sind jedoch unter den meisten Umständen nicht besonders bedeutsam.

6.2.5

Ramachandran-Diagramm und Geometrie der Peptid-Bindung

Die Geometrie der Peptid-Bindung ist durch zahlreiche Untersuchungen mit sehr großer Genauigkeit bekannt (Abb. 6.7).

Die vier Atome der Peptidbindung liegen stets innerhalb einer Ebene. Die Ursache dafür ist der partielle Doppelbindungscharakter der Peptidbindung. Da der Sauerstoff stark elektronegativer ist, befindet sich eines der Elektronen aus der Doppelbindung der Carbonylgruppe (C=O) bevorzugt beim Sauerstoff. Die Orbitale der Peptidbindung sind eine quantenmechanische Mischung zweier Strukturen. Solche gemischten Strukturen werden in der Chemie auch als *Resonanz* zwischen zwei *mesomeren Grenzstrukturen* bezeichnet (Abb. 6.8).

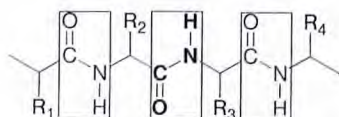


Abb. 6.7 Ein Peptid. Atome, die eine Peptidbindung bilden, liegen in einer Ebene. Diese Bindungsebenen sind durch Rechtecke angedeutet.



Abb. 6.8 Diese beiden Konfigurationen der Elektronenorbitale mischen in der Peptidbindung. Die rechte Struktur trägt zu ungefähr 40% zur mesomeren Grenzstruktur bei.

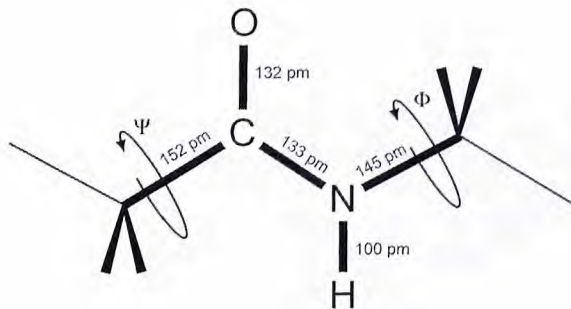


Abb. 6.9 Zur Geometrie der Peptidbindung. Die grauen Umrisse kennzeichnen die van der Waals-Radien der Atome der Peptidbindung sowie der benachbarten Kohlenstoff-Atome. Kovalente Bindungen innerhalb der Peptidbindung (fett) sind in korrekter Geometrie gezeichnet, dünne Bindungen skizzieren die

Fortsetzung der Kette, Keile symbolisieren die Bindungen des zusätzlichen Kohlenstoff-Atoms des Peptids (zu einem Wasserstoff-Atom und zur Seitengruppe). Ebenso sind die Drehwinkel um die beiden Einfachbindungen im Rückgrat der Einheit gezeigt.

Aufgrund dieser besonderen Struktur ist z. B. die Länge der C–N Bindung von den normalen 145 pm auf 133 pm verkürzt. Die Geometrie der Peptidbindung zeigt Abbildung 6.9. Im Rückgrat des Polypeptids sind nur die Einfachbindungen, die von dem Kohlenstoff-Atom, an dem der Rest der Aminosäure hängt (C_{α} -Atom), ausgehen, frei drehbar. Die C–N-Bindung ist im Gegensatz dazu nicht drehbar.

Auf der Basis der ersten verfügbaren Strukturdaten von Peptiden und Proteinen waren Ramachandran und Mitarbeiter in der Lage, die van der Waals-Radien der beteiligten Atome zu bestimmen. Dazu verwendeten sie normal-erlaubte und grenzwertige Minimalabstände der Atome. Aus diesen Werten lässt sich berechnen, bei welchen Drehwinkeln Φ und Ψ es nicht zur Kollision von Atomen kommt. Nur diese Winkel sollten in den Strukturen von realen Proteinen vorkommen. Dies ist in der Tat in guter Näherung der Fall. Ein Diagramm der (Φ , Ψ)-Ebene mit eingezeichneten Grenzen der erlaubten Gebiete heißt Rama-

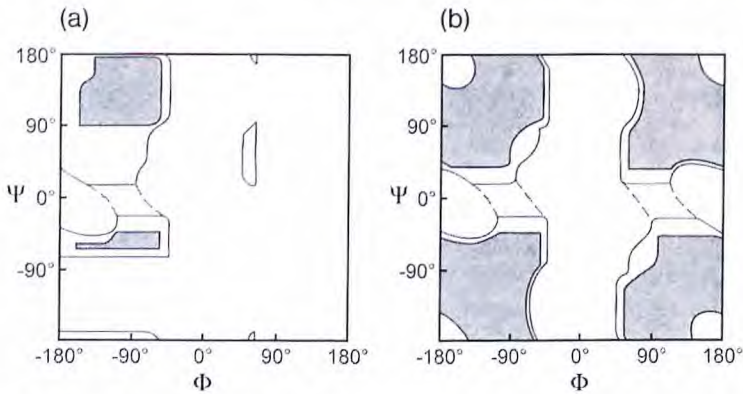


Abb. 6.10 Ramachandran-Diagramme von Alanin (a) und Glycin (b). Winkel-Paare (Φ , Ψ) innerhalb der grauen Flächen sind bei Verwendung durchschnittlich beobachteter van der Waals-Radien erlaubt. Bei Verwendung

der kleinsten, normalerweise in Proteinstrukturen beobachteten van der Waals-Radien können diese Gebiete bis zu den Umrandungen erweitert werden (Daten aus [3]).

chandran-Diagramm (Abb. 6.10). Unter Verwendung der kompletten Wechselwirkungspotenziale aller beteiligten Atome lassen sich mit heutigen Simulationsverfahren verfeinerte Ramachandran-Diagramme, in denen die Freie Enthalpie der jeweiligen Konfiguration eingezeichnet ist, berechnen.

Der Bereich an zugänglichen Winkeln ist für alle Aminosäuren außer Glycin, dessen gesamte Seitengruppe aus einem Wasserstoff-Atom besteht, erstaunlich klein. Glycin ist daher diejenige Aminosäure, die in der Proteinstruktur die größten strukturellen Freiheiten schafft.

Die erlaubten Bereiche in den Ramachandran Diagrammen entsprechen Sekundärstruktur-Motiven, siehe Kapitel 7. Die α -Helix weist einen (Φ , Ψ)-Wert von $(-57^\circ, -47^\circ)$ auf, für die Faltblattstrukturen betragen die Winkel bei parallelem Verlauf der Rückgrate $(-119^\circ, 113^\circ)$ und bei antiparallelem Verlauf $(-139^\circ, 135^\circ)$. Diese Werte liegen innerhalb der erlaubten Inseln des Ramachandran-Diagramms (Abb. 6.10 a).

Für Proteine, deren Struktur aufgeklärt ist, kann man sämtliche vorkommenden Drehwinkel (Φ , Ψ) in ein Ramachandran-Diagramm auftragen. Dabei zeigt sich, dass die überwiegende Mehrheit der Werte innerhalb der erlaubten Bereiche liegt, aber durchaus „Ausreißer“ vorkommen. Diese lokal ungünstigen Geometrien werden durch Deformation von kovalenten Bindungen möglich. Die dafür notwendige Energie wird durch Optimierung der restlichen Struktur gewonnen.

6.3 Elektrostatische Wechselwirkungen

6.3.1 Punktladungen in Dielektrika

Biomoleküle enthalten in der Regel viele geladene Gruppen. Daher sind elektrostatische Wechselwirkungen von großer Bedeutung.

Die Wechselwirkungsenergie zwischen zwei Punktladungen der Ladung $Z_1 e_0$ ist durch das Coulomb-Gesetz bestimmt.

$$W = \frac{e_0^2}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_1 Z_2}{\epsilon_r r} \quad (6.1)$$

Hierbei steht e_0 für die Elementarladung ($e_0 = 1,6022 \cdot 10^{-19}$ C), ϵ_0 für die Dielektrizitätskonstante des Vakuums ($\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12}$ C/Vm, auch elektrische Feldkonstante genannt), ϵ_r für die relative Dielektrizitätskonstante (oder auch nur kurz Dielektrizitätskonstante) und r für den Abstand der beiden Ladungen. Dieses Gesetz gilt für Ladungen in allen dielektrischen Medien. In diesen Materialien sind keine frei beweglichen Ladungen vorhanden, allerdings können durch elektrische Felder innerhalb der Moleküle des Mediums die Ladungsschwerpunkte leicht gegeneinander verschoben werden. Man nennt solche Moleküle polarisierbar, d. h. durch ein elektrisches Feld E wird in ihnen ein elektrischer Dipol p induziert: $p = \alpha E$. Die Größe α wird als Polarisierbarkeit bezeichnet, siehe Abschnitt 6.3.4. Neben solchen induzierten Dipolmomenten spielt auch die Ausrichtung von permanenten Dipolmomenten der Moleküle im elektrischen Feld eine große Rolle. In kondensierten Medien (Flüssigkeiten und Festkörpern) wird der Zusammenhang zwischen der Polarisierbarkeit der Atome α und der relativen Dielektrizitätskonstante ϵ_r des Mediums durch die Clausius-Mossotti-Beziehung verknüpft:

$$\frac{\epsilon_r - 1}{\epsilon_r + 2} = \frac{1}{3} n\alpha$$

Hierbei steht n für die Teilchendichte der polarisierbaren Moleküle.

Für die Biologie bemerkenswert ist, dass Wasser mit einem Wert von rund 80 eine extrem große Dielektrizitätskonstante ϵ_r aufweist. Dies hat zwei Gründe: Zum einen besitzt das Wasser-Molekül ein großes statisches Dipolmoment, das im elektrischen Feld ausgerichtet werden kann. Zum anderen weist das Sauerstoff-Atom in diesem Molekül zwei gefüllte Orbitale auf, deren Ladungen relativ leicht verschoben werden können. Daher ist das Wasser-Molekül nicht nur polar, sondern auch leicht polarisierbar (Abb. 6.11).

Im Vergleich zu Wasser haben apolare Materialien wie Alkane eine geringe Dielektrizitätskonstante von 2–3. Die elektrostatische Wechselwirkung ist also in wässriger Umgebung allein schon durch die hohe Dielektrizitätskonstante des Wassers stark abgeschwächt im Vergleich zu apolaren Medien oder gar zu Vakuum.

Bitte beachten Sie, dass die Dielektrizitätskonstante ein Konzept aus der Kontinuumsphysik ist. Bei der Anwendung auf Proteine stößt diese Konzept



Abb. 6.11 Das Wasser-Molekül: Bindungslängen 95,8 pm, Bindungswinkel $104,54^\circ$, Dipolmoment $6,20 \cdot 10^{-30}$ Cm. Das Dipolmoment entspricht einer Ladung von $+0,33 e_0$ im Zentrum der Wasserstoff-Atome und $-0,66 e_0$ im Zentrum des Sauerstoff-Atoms. Die grau gefüllte Form entspricht den van der Waals-Radien der Atome.

an Grenzen. In den allermeisten Proteinen ist ein innerer Bereich des Moleküls apolar, und das Protein ist von einer Hülle aus polaren Aminosäuren umgeben. Deswegen muss sich auch die Dielektrizitätskonstante im Inneren einer Proteinstruktur ändern. Allerdings ist bei Weitem nicht klar, in welcher Weise hier ϵ_r variiert. In Simulationen behilft man sich im Allgemeinen damit, dass man Atomen im Molekül partielle Ladungen zuschreibt (wie oben) und somit die Polarisierbarkeit des Materials explizit mit betrachtet. Auf dieselben Probleme trifft man in jedem heterogenen System auf der Nanometerskala.

6.3.2

Bornsche Selbstenergie

Mit dem elektrischen Feld, das ein Ion in seinem Lösungsmittel erzeugt, ist eine Energie verbunden. Die Energiedichte w_e eines statischen elektrischen Feldes beträgt

$$w_e = \frac{1}{2} \mathbf{E} \mathbf{D}$$

hierbei symbolisiert \mathbf{E} das elektrische Feld und \mathbf{D} die dielektrische Verschiebung. In ungeordneten Dielektrika gilt $\mathbf{D} = \epsilon_0 \epsilon_r \mathbf{E}$. Das elektrische Feld einer punktförmigen Ladung vom Betrag ze_0 im Ursprung des Koordinatensystems beträgt $\mathbf{E} = \frac{ze_0}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r r^2} \frac{\mathbf{r}}{r}$. Somit ergibt sich sofort für die Gesamtenergie des elektrischen Feldes eines Ions

$$W = \int \frac{1}{2} \frac{e_0^2 z^2}{(4\pi)^2 \epsilon_0 \epsilon_r r^4} d^3 r$$

wobei das Integral über das gesamte Volumen außerhalb des Ions (Radius R_i) verläuft. Somit ergibt sich für die Energie des Feldes eines Ions

$$W = \frac{z^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r R_i} \quad (6.2)$$

Diese Energie ist als Bornsche Selbstenergie des Ions bekannt. Sie ist unweigerlich mit der Existenz eines Ions verknüpft und wird normalerweise stillschweigend in das chemische Potenzial des Ions unter Standardbedingungen aufgenommen. Wenn das Ion von einem Medium in ein anderes transferiert wird, treten aber die Differenzen der Bornschen Selbstenergie explizit auf. Gleichung (6.2) ist nur eine grobe Näherung, eine genaue Rechnung müsste die molekulare

Tabelle 6.4 Bornsche Selbstenergien für ausgewählte Ionen, berechnet nach Gleichung (6.2)

Ion	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Mg ²⁺	Ca ²⁺
R _i	102 pm	138 pm	181 pm	72 pm	100 pm
W (ε _r = 2)	3,5 eV	2,6 eV	2,0 eV	20 eV	14,4 eV
W (ε _r = 80)	0,088 eV	0,13 eV	0,050 eV	0,50 eV	0,36 eV

Natur der jeweiligen Lösungsmittel berücksichtigen. Trotzdem beschreibt sie den zugrunde liegenden physikalischen Effekt qualitativ sehr gut.

Wie die Tabelle 6.4 zeigt, beträgt der Energieaufwand zum Transfer eines Ions aus wässriger Umgebung (ε_r = 80) in apolare Umgebung (ε_r = 2) mehrere Elektronenvolt. Dies ist von derselben Größenordnung wie die Bindungsenergie kovalenter Bindungen und sehr viel größer als die thermische Energie (~25 meV). Dies ist der Grund, warum freie Ionen nicht in apolaren Medien auftreten können und warum Wasser ein ausgezeichnetes Lösungsmittel für Ionen ist.

Über die Bildladungseffekte wirkt diese Energie über die Grenzfläche zwischen Dielektrika hinaus. Ladungen werden somit von hoch polaren Lösungsmitteln angezogen und von apolaren abgestoßen. Ebenso sind geladene Gruppen im apolaren Inneren von Proteinstrukturen oder Membranstrukturen energetisch sehr ungünstig und kommen deswegen sehr selten vor.

6.3.3

Punktladungen in Elektrolyt-Lösungen

Salze lösen sich ausgezeichnet in Wasser und dissoziieren dabei in die einzelnen Ionen (Abb. 6.12). Diese sind frei beweglich und führen zu einer Leitfähigkeit der Elektrolyte. Diese frei beweglichen Ladungsträger führen zu einer wesentlich kürzeren Reichweite der elektrostatischen Wechselwirkungen, da jede Ladung eine diffuse „Wolke“ an Gegenionen an sich bindet, welche die Ladung kompensiert. Ähnliche Effekte treten in Plasmen und Halbleitern auf, da dort ebenfalls freie Ladungsträger vorliegen, die näherungsweise mit klassischer Physik beschrieben werden können.

Wir nehmen an, dass in der Lösung die Ionensorten i ($i = 1, 2, 3, \dots, n$) mit der Ladungszahl z_i vorkommen. Die Konzentration der Ionensorte i (in der Einheit Teilchen/m³) sei im Gleichgewicht (d. h. weit weg von allen Ladungen) $c_{i,0}$. Da die Lösung als ganzes ungeladen ist, gilt Elektroneutralität:

$$\sum_{i=1}^n c_{i,0} z_i = 0$$

Wir betrachten jetzt die Ladungsverteilung in der Umgebung eines Ions. Dieses hat die Ladung q und wird als Kugel mit Radius R_i betrachtet. In homogenen, isotropen, dielektrischen Medien (also insbesondere in Wasser) gilt die Poisson-

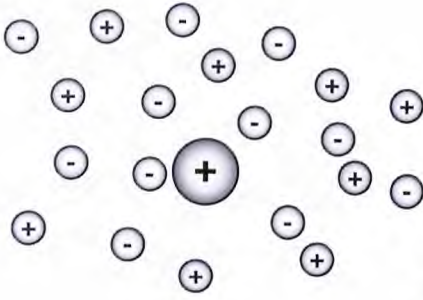


Abb. 6.12 In einer Salzlösung reichern sich in der Nähe eines Ions die Gegenionen an. Hier wurde willkürlich ein positiv geladenes Ion ausgewählt und größer gezeichnet.

Gleichung, welche das elektrische Potenzial U und die Ladungsdichte ρ verknüpft.

$$\nabla^2 U = - \frac{\rho}{\epsilon_0 \epsilon_r}$$

Die Verteilung im Inneren des Ions muss uns nicht weiter interessieren, da jede kugelsymmetrische Ladungsverteilung auch durch eine Punktladung im Ursprung ersetzt werden kann. Die Ladungsverteilung in der Umgebung des Ions wird allerdings von den frei beweglichen Gegenionen bestimmt. Deren Dichte ist gegeben durch die Boltzmann-Verteilung (Gl. 3.20):

$$c_i(r) = c_{i,0} \exp\left(- \frac{z_i e_0 U(r)}{k_B T}\right) \quad (6.3)$$

In der oberen Formel haben wir explizit die Abhängigkeit von Potenzial und Konzentration vom Ort angegeben. Da die Ladungsdichte jeder Ionensorte durch das Produkt aus Konzentration und Ladung gegeben ist, gilt:

$$\Delta U = - \sum_{i=1}^n \frac{z_i e_0 c_{i,0}}{\epsilon_0 \epsilon_r} \exp\left(- \frac{z_i e_0 U(r)}{k_B T}\right) \quad (6.4)$$

Diese Gleichung ist als *Poisson-Boltzmann-Gleichung* bekannt. Sie ist nicht geschlossen lösbar. Sie kann aber durch Entwicklung der Exponentialfunktion nach Potenzen von $\frac{z_i e_0 U(r)}{k_B T}$ linearisiert werden. Aufgrund der Ladungsneutralität verschwindet der Term nullter Ordnung und es ergibt sich näherungsweise:

$$\Delta U = \sum_{i=1}^n \frac{z_i^2 e_0^2 c_{i,0}}{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T} U(r)$$

Mit der Abkürzung $\kappa = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{z_i^2 e_0^2 c_{i,0}}{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}}$ kann die Gleichung wesentlich kompakter geschrieben werden. Benützt man weiterhin die radiale Symmetrie und die Darstellung des Laplace-Operators in Kugelkoordinaten, so erhält man:

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial U}{\partial r} \right) = \kappa^2 U(r)$$

Da das Potenzial im Unendlichen auf Null abfallen muss, hat diese Differenzialgleichung die Lösung:

$$U(r) = \frac{a}{r} \exp(-\kappa r)$$

Der Faktor a kann aus dem Gaußschen Satz berechnet werden. Dazu integrieren wir das elektrische Feld über die Oberfläche des Ions. Da das Feld aufgrund der radialen Symmetrie nur eine radiale Komponente haben kann und die Ladung innerhalb dieser Oberfläche genau der Ladung des Ions entspricht, gilt:

$$4\pi R_i^2 E(r) = \frac{q}{\epsilon_0 \epsilon_r}$$

Das elektrische Feld des oberen Potenzials beträgt $E = a \frac{\exp\{-\kappa r\}}{r} (\kappa + r^{-1})$. Somit ergibt sich die Konstante a zu:

$$a = \frac{q}{4\pi \epsilon_0 \epsilon_r} \frac{\exp\{\kappa R_i\}}{1 + \kappa R_i}$$

und das Potenzial eines Ions mit Ladung q im Elektrolyten zu:

$$U(r) = \frac{q}{4\pi \epsilon_0 \epsilon_r} \frac{\exp\{\kappa R_i\}}{1 + \kappa R_i} \frac{\exp\{-\kappa r\}}{r} \quad (6.5)$$

Das elektrische Potenzial einer Ladung in einem Elektrolyten wird also exponentiell abgeschirmt. Es fällt somit wesentlich schneller ab als in einem Dielektrikum. Statt der Abklingkonstanten κ gibt man oft deren Inverses, die so genannte Debye-Länge κ^{-1} an.

Als Beispiel berechnen wir die Debye-Länge eines voll dissoziierten 1:1-Elektrolyten. Ein Beispiel wäre eine Kochsalzlösung. Hierbei ergibt sich als Komplikation, dass normalerweise Konzentrationen in mol/l und nicht als Teilchen/m³ angegeben werden. Mit der entsprechenden Umrechnung ergibt sich:

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{k_B T \epsilon_0 \epsilon_r}{e_0^2 N_A 2000 C}}$$

wobei hier die Konzentration C in Molaritäten ($[M] = \text{mol/l}$) angegeben ist. Bei 20 °C und $\epsilon_r = 80$ (Wasser) ergibt sich:

$$\kappa^{-1} = \frac{0,305 \text{ nm}}{\sqrt{C}}$$

Dies ist eine hilfreiche Gleichung, die wir öfter für Abschätzungen benutzen werden. In physiologischer Kochsalzlösung ($C = 150 \text{ mM}$) beträgt $\kappa^{-1} = 0,79 \text{ nm}$. Unter physiologischen Bedingungen klingt das elektrische Feld auf Längenskalen ab, die deutlich unterhalb der Größe eines Proteins liegen. In anderen Worten: In biologischen Flüssigkeiten ist die elektrostatische Wechselwirkung von relativ kurzer Reichweite. Dies ist ein sehr wichtiger und überraschender Befund.

Die Tabelle 6.5 zeigt den Einfluss der Umgebung auf die elektrostatische Wechselwirkung zwischen zwei Ionen. Hierbei wurde der Ionenradius zu 100 pm angenommen, er spielt aber fast keine Rolle für die Zahlenwerte. Natürlich ist aufgrund der Selbstdissoziation von Wasser „ionenfreies Wasser“ ein rein hypothetisches Medium. Die Werte sind in Elektronenvolt gegeben.

Diese Zahlenwerte zeigen eindrucksvoll, dass die elektrostatische Energie in Vakuum oder apolaren Medien auf molekularen Längenskalen zu Energien führt, die von derselben Größenordnung wie die Bindungsenergie kovalenter Bindungen sind. Im Gegensatz dazu ist die elektrostatische Energie in Elektrolyten nur auf der Längenskala von einzelnen kovalenten Bindungen von großer Bedeutung.

Die Anwesenheit der Gegenionen beeinflusst das elektrische Potenzial am Ort des Ions. Daher erwarten wir auch eine Veränderung der Selbstenergie W_i . Zur Berechnung der Selbstenergie eines Ions mit Ladung $z_i e_0$ führen wir folgendes Gedankenexperiment durch: Wir laden das Ion langsam auf. Zu einem Zeitpunkt habe das Ion bereits die Ladung q . Mit dem Feld dieser Ladung ist auf der Oberfläche des Ions ein Potenzial von

$$U(R_i) = \frac{q}{4\pi\epsilon_0\epsilon_r(1 + \kappa R_i)R_i}$$

verknüpft. Um zu dieser Ladung eine zusätzliche, infinitesimal kleine Ladung dq aus dem Unendlichen zu bringen, ist die Energie $U(R_i) dq$ notwendig. Daher erhalten wir die Selbstenergie des Ions im Elektrolyt durch Integration des Potenzials über die Ladung und erhalten:

$$W_i = \frac{z_i^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r(1 + \kappa R_i)R_i} \approx \frac{z_i^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r R_i} - \frac{z_i^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r R_i} \kappa + \dots$$

Der erste Term in der Reihenentwicklung der Selbstenergie in Elektrolytlösungen ist die Bornsche Selbstenergie, erst im zweiten Term spielen die Gegenionen eine Rolle. Die Selbstenergie W_i ist ein Bestandteil des chemischen Potenzials μ eines Ions im Elektrolyt (s. Gl. 3.11 und 3.43). Diese beträgt:

$$\mu_i = \tilde{\mu}_{0,i} + k_B T \ln x_i + W_i$$

Tabelle 6.5 Elektrostatistische Wechselwirkungen zwischen Ionen in verschiedenen Medien. Die Zahlenwerte wurden nach Gleichung (6.5) berechnet. Zum Vergleich: 1 eV = 96,5 kJ/mol. $k_B T \approx 25$ meV.

Abstand	Vakuum $\epsilon_r = 1,$ $\kappa = 0 \text{ nm}^{-1}$	apolares Medium $\epsilon_r = 2,5,$ $\kappa = 0 \text{ nm}^{-1}$	ionenfreies Wasser $\epsilon_r = 80,$ $\kappa = 0 \text{ nm}^{-1}$	Physiologische Kochsalzlösung $\epsilon_r = 80,$ $\kappa = 1,27 \text{ nm}^{-1}$
0,1 nm	14,4 eV	5,76 eV	0,180 eV	0,160 eV
1 nm	1,44 eV	0,576 eV	0,0180 eV	$5,11 \cdot 10^{-3} \text{ eV}$
10 nm	0,144 eV	0,0576 eV	$1,80 \cdot 10^{-3} \text{ eV}$	$5,77 \cdot 10^{-9} \text{ eV}$

Da sich die Bornsche Selbstenergie eines Ions auch bei Konzentrationsänderungen nicht ändert, schlägt man sie im Allgemeinen dem Standardpotenzial zu und erhält:

$$\mu_i = \bar{\mu}_{0,i} + k_B T \ln x_i + W_i - \frac{z_i^2 e_0^2}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r R_i} = \mu_{0,i} + k_B T \ln x_i - \frac{z_i^2 e_0^2 \kappa}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r (1 + \kappa R_i)}$$

Die inverse Abklinglänge des Felds, κ , hängt bei einfachen Elektrolyten von der Wurzel der Ionenkonzentration ab. Dieser funktionale Zusammenhang kann für kleine Konzentrationen nicht linearisiert werden. Um trotzdem kompakte Gleichungen zu erhalten und die einfache Form des chemischen Potenzials wenigstens formal zu retten, führt man die *Aktivitäten* a_i der Ionen ein. Diese sind nichts anderes als der Molenbruch (bzw. die Konzentration), bei dem eine ideale Lösung dasselbe chemische Potenzial hätte wie die reale Lösung des Molenbruchs x_i . Formal führt man den *Aktivitätskoeffizienten* γ_i ein gemäß:

$$\mu_i = \mu_{0,i} + k_B T \ln a_i = \mu_{0,i} + k_B T \ln(x_i \gamma_i) \quad (6.6)$$

mit

$$\gamma_i = \exp \left\{ - \frac{z_i^2 e_0^2 \kappa}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r (1 + \kappa R_i) k_B T} \right\} \quad (6.7)$$

Die oberen Gleichungen beziehen sich natürlich auf die Ionen der Sorte i , allerdings gehen in die reziproke Abklinglänge κ alle Ionen in der Lösung ein.

Abbildung 6.13 zeigt, dass die Debye¹⁾-Hückel²⁾ Theorie eine gute Beschreibung von Elektrolyten bei geringen Konzentrationen darstellt. Allerdings hatten wir bei der Herleitung vorausgesetzt, dass die Energie der Gegenionen im Feld des Zentralions viel kleiner als die thermische Energie sein soll. Betrachtet man die Potenziale auf der Oberfläche der Ionen, so stellt man fest, dass die elektrostatische Energie dort ein Mehrfaches der thermischen Energie ist (z. B. für Natrium ca. das 7-fache). Somit sollte die Debye-Hückel-Theorie eigentlich nicht gültig sein. Dass sie doch erfolgreich ist, liegt daran, dass im Mittel die Gegenladungswolke nur eine einzige Überschussladung enthält, die gerade ausreicht, um die Ionenladung selbst zu kompensieren. Dieses Gegenion befindet sich im Mittel in einem wesentlich größeren Abstand vom Ion als dessen Durchmesser. Die Bindungsenergie des Gegenions kann man aus der Selbstenergie der Ionen abschätzen. Sie ist gerade die Selbstenergie W minus der Bornschen Selbstenergie, da letztere aufgebracht werden muss, um die Ionen in die wässrige Lösung weit von den Gegenionen entfernt zu bringen. Somit ergibt sich als Abschätzung der Bindungsenergie des Gegenions $k_B T \ln \gamma$, welches wesentlich kleinere Werte liefert als die elektrostatische Energie auf der Oberfläche des Ions selbst.

1) Petrus Josephus Wilhelmus Debye (* 24. März 1884 in Maastricht; † 2. November 1966 in Ithaca) war ein niederländischer Physiker, theoretischer Chemiker und Nobelpreisträger für Chemie.

2) Erich Armand Arthur Joseph Hückel (* 9. August 1896 in Berlin; † 16. Februar 1980 in Marburg) war ein deutscher Chemiker und Physiker.

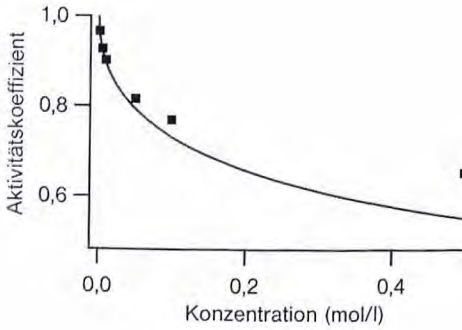


Abb. 6.13 Vergleich gemessener (Quadrate) und mittels Gleichung (6.7) berechneter Aktivitätskoeffizienten (durchgezogene Linie) von Kaliumchlorid in Wasser. Da wir nur beide Ionensorten gleichzeitig zugeben können, ist bei einem 1:1-Elektrolyten nur das geometrische Mittel der Aktivitätskoeffizienten der einzelnen Ionen messbar.

Eine Erweiterung des Debye-Hückel-Modells für das Oberflächenpotenzial eines Makroions geht auf Stern³⁾ zurück [4]. Dieser erkannte, dass drei Arten von Ladungen für das elektrische Potenzial von Makro-Ionen oder Elektroden verantwortlich sind (Abb. 6.14):

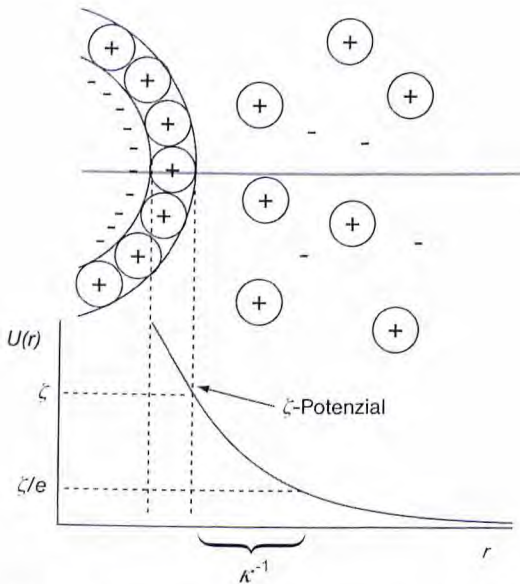


Abb. 6.14 Qualitativer Verlauf des Potentials eines Makro-Ions. Innerhalb der Stern-Schicht (gestrichelte, senkrechte Linien) fällt das Potenzial ungefähr linear ab, während es in der diffusen Gegenladungsschicht im Wesentlichen exponentiell abfällt. Im unteren Teil des Bildes ist der Verlauf des elektrischen Potentials

U entlang der grauen Linie im oberen Bildteil skizziert. Für genauere Erklärungen siehe Bockris und Reddy (2000) (zitiert in Kapitel 4). Das elektrische Potenzial an der Grenze zwischen Stern-Schicht und Gegenladungswolke heißt ζ -Potenzial.

3) Otto Stern (* 17.02.1888 in Sohrau (heute Zory, Polen), † 17.08.1969 Berkeley), deutsch-amerikanischer Physiker. Er erhielt

für die Entwicklung der Molekularstrahlmethode (z. B. das berühmte Stern-Gerlach-Experiment) 1943 den Nobelpreis für Physik.

1. die am Makro-Ion fixierten Ladungen,
2. eine fest an der Oberfläche adsorbierte Schicht von Gegenionen. Diese wird Stern- oder Helmholtz-Schicht genannt,
3. die diffuse Schicht aus mobilen Gegenionen (auch Gouy-Chapman-Schicht genannt), die von der Debye-Hückel-Theorie beschrieben wird.

Legt man über eine Elektrolyt-Lösung eine Spannung an, so werden die Ionen in Bewegung versetzt. Die auf die Ionen wirkende Kraft wird von der Gesamtladung des Ions und der Ladung in der Sternschicht, d. h. vom ζ -Potential, bestimmt. Die der Bewegung entgegenwirkende Reibungskraft hängt hingegen von der Größe des Moleküls ab. Daher können im elektrischen Feld Makro-Ionen gemäß ihrer Größe und Ladung getrennt werden. Dieses Verfahren heißt Elektrophorese und wird häufig in der Biochemie zur Trennung von Proteinen und DNA verwendet. Eine exakte Theorie der Elektrophorese ist erstaunlich kompliziert, da sich die Gegenladungswolke mit dem Makro-Ion mitbewegt und sowohl durch das elektrische Feld als auch durch die Reibung an der Flüssigkeit verformt wird. Gründliche Beschreibungen finden sich in den Büchern von Hiemenz (1997) und Bockris (2000, zitiert in Kapitel 4).

6.3.4

Dipolare oder van der Waals-Wechselwirkungen

Viele Biomoleküle besitzen hohe statische Dipolmomente (Abb. 6.15). Daher spielen die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Dipolmomenten eine große Rolle für die Energetik von Biomolekülen. Zusätzlich sind viele Biomoleküle polarisierbar. Hier sind insbesondere Moleküle mit ausgedehnten Doppelbindungssystemen (π -Elektronensystemen), wie die aromatischen Aminosäuren, zu nennen. Diese Moleküle können auch mittels ihrer induzierten Dipolmomente wechselwirken. Im Folgenden werden wir zuerst dipolare Wechselwirkungen aufgrund statischer Dipolmomente besprechen und dann die induzierten Dipole behandeln.

Aus der Elektrodynamik sind die Wechselwirkungsenergien zwischen Dipolen wohl bekannt. Für permanente Dipolmomente p in einem elektrischen Feld E ergibt sich eine Wechselwirkungsenergie von:

$$W = - pE$$

Aus diesem Gesetz kann man durch Einsetzen des elektrischen Felds einer Punktladung oder eines zweiten Dipolmoments die Wechselwirkungsenergien berechnen. Wir wollen dies nicht im Einzelnen durchführen, da man die entsprechenden Gesetze in vielen Lehrbüchern der Elektrostatik sowie im Lehrbuch von Israelachvili (2008) nachlesen kann. Generell sind diese Wechselwirkungen von den Orientierungen abhängig und können sowohl anziehend als auch abstoßend sein.

Die Wechselwirkungsenergie zwischen einer Punktladung und einem Dipol fällt in Abwesenheit von freien Ladungen mit r^{-2} ab. Im relativ apolaren Inneren

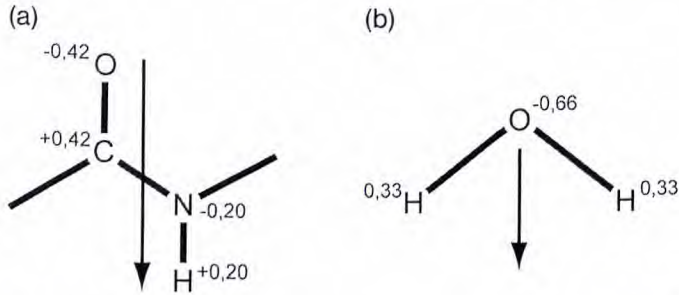


Abb. 6.15 Dipolmomente der Peptidbindung (a) und des Wasser-Moleküls (b). Eingezeichnet sind die partiellen Ladungen der beteiligten Atome. Das Dipolmoment der

Peptidbindung beträgt 4,8 Debye und das des Wassers 1,86 Debye. Ein Debye entspricht $3,336 \cdot 10^{-30}$ Cm bzw. 20,8 pm e_0 .

von Proteinen, für das Dielektrizitätskonstanten von 2,5 bis 4 abgeschätzt werden, ergibt sich zwischen einer Elementarladung und einer Peptidbindung im Abstand von 0,5 nm eine Wechselwirkungsenergie mit einem Betrag von maximal $2,6 \cdot 10^{-20}$ J bzw. 0,16 eV oder $6,5 k_B T$.

Die Wechselwirkung zwischen zwei permanenten und ortsfesten Dipolmomenten fällt noch schneller, nämlich mit r^{-3} ab. In einer häufigen lokalen Struktur der Proteine, der α -Helix, kommen sich die Peptidbindungen auf 0,5 nm nahe, wobei beide Dipolmomente und der Verschiebungsvektor parallel sind. In dieser Geometrie ergibt sich eine attraktive Wechselwirkungsenergie von $1,0 \cdot 10^{-20}$ J bzw. 66 meV oder $2,6 k_B T$.

Wie diese Beispiele zeigen, führen elektrostatische Wechselwirkungen zwischen eng benachbarten Dipolen in apolaren Medien (z. B. im Inneren von Proteinen) zu nennenswerten Energien, die jedoch mit wachsendem Abstand sehr schnell abfallen. Eine starke Reduktion der Wechselwirkung ergibt sich bei beweglichen Molekülen oder Gruppen mit statischen Dipolmomenten durch thermisch getriebene Fluktuationen. Mittelung über die thermischen Fluktuationen führt zur Keesom-Wechselwirkung⁴⁾, die proportional zu r^{-6} abfällt.

Bisher haben wir Wechselwirkungen, zu denen permanente Dipolmomente in Molekülen beitragen, besprochen. Neben permanenten Dipolen gibt es auch induzierte Dipole. Diese werden in ansonsten apolaren Molekülen durch die Wirkung externer Felder induziert. Dies geschieht durch relative Verschiebung der Schwerpunkte der positiven Ladungen (d. h. der Kerne) und der negativen Ladungen (d. h. der Elektronen) gegeneinander durch das elektrische Feld E . Die Stärke des induzierten Dipols p_i ist gegeben durch

$$p_i = \alpha E$$

4) Willem Hendrik Keesom (* 21.06.1876 in Texel, † 24.03.1956 in Oegstgeest) war niederländischer Physiker. Er entdeckte die

festen Phase von Helium und entwickelte eine mathematische Theorie der Dipol-Dipol-Wechselwirkungen.

Eine ideal leitende Kugel hat eine Polarisierbarkeit von $\alpha = 4\pi\epsilon_0\epsilon_r V$, wobei V für das Kugelvolumen steht. Polarisierbarkeiten von Atomen und molekularen Gruppen sind ebenfalls näherungsweise proportional zum molekularen Volumen. Für Atome ergeben sich Werte von $\alpha/(4\pi\epsilon_0)$ im Bereich von 5 bis 15%. Für die 20 natürlichen Aminosäuren ist die molekulare Polarisierbarkeit in sehr guter Näherung proportional zum Volumen mit einer Proportionalitätskonstante von 9,5% (Deranleau, 1985). Im Allgemeinen müssen induziertes Dipolmoment und Feld nicht parallel sein, d. h. α ist ein Tensor. Dies werden wir hier aber vernachlässigen.

Die Wechselwirkungsenergie induzierter Dipole unterscheidet sich etwas von der permanenter Dipole. Dies rührt daher, dass diese Wechselwirkungsenergie dadurch berechnet wird, dass der Dipol aus dem Unendlichen in das Feld gebracht wird bzw. das Feld stetig von Null auf den Endwert erhöht wird. Bei induzierten Dipolen wird während dieses Prozesses der Dipol erst aufgebaut. Bei einer Erhöhung des Feldes um den infinitesimal kleinen Betrag dE gilt:

$$dW = -\alpha E dE$$

Damit ergibt sich für die gesamte Wechselwirkungsenergie:

$$W = -\frac{1}{2}\alpha E^2.$$

Daraus lässt sich leicht die Wechselwirkungsenergie einer Ladung q mit einer polarisierbaren Gruppe, d. h. mit einem induzierten Dipolmoment, berechnen. Es ergibt sich:

$$W = -\frac{1}{2}\alpha \frac{q^2}{(4\pi\epsilon_0\epsilon_r)r^4}$$

Für die Wechselwirkung eines Dipols p mit einer polarisierbaren Gruppe ergibt sich:

$$W = -\frac{1}{2}\alpha \frac{p^2(3\sin^2\Theta - 1)}{(4\pi\epsilon_0\epsilon_r)r^6}$$

wobei Θ der Winkel ist, den das Dipolmoment mit der Verbindungslinie der beiden Gruppen einschließt. Als Beispiel betrachten wir eine Elementarladung sowie eine Peptidbindung (Dipolmoment 4,8 Debye bzw. $1,6 \cdot 10^{-29}$ Cm), die sich in einem Abstand von 0,5 nm von einer Tryptophan-Gruppe (Volumen $0,163 \text{ nm}^3$) befinden. Es ergeben sich attraktive Wechselwirkungsenergien von $2,33 \cdot 10^{-21}$ J ($0,58 k_B T$) für die Punktladung und von $9,3 \cdot 10^{-23}$ J ($0,023 k_B T$) für den Dipol. Das Beispiel zeigt, dass die Polarisierbarkeit von Gruppen durch Punktladungen durchaus eine Rolle für zwischenmolekulare Wechselwirkung spielt, dass aber permanente Dipolmomente als polarisierende Gruppen nachrangig sind.

Als letzte dipolare Wechselwirkung betrachten wir die so genannte Dispersions- oder London⁵⁾-Wechselwirkung. Sie entsteht, wenn zwei polarisierbare Moleküle miteinander wechselwirken. Selbst wenn das mittlere Dipolmoment des einen

5) Fritz Wolfgang London (* 7. März 1900 in Breslau; † 30. März 1954 in Durham) war ein deutsch-amerikanischer Physiker.

Moleküls verschwindet, weist seine Ladungsverteilung im quantenmechanischen Grundzustand Fluktuationen auf. Dies führt zu einem fluktuierenden Dipolmoment, das im zweiten Molekül ein Dipolmoment induziert. Die Wechselwirkung zwischen den beiden fluktuierenden Dipolen führt zu einer attraktiven Kraft. Dieser subtile Effekt wurde zuerst von London in den 20er-Jahren des letzten Jahrhunderts erkannt. Eine einfache quantenmechanische Behandlung des Effekts geht von den Wellenfunktionen der ungestörten Moleküle aus. Die Wechselwirkung der beiden Moleküle wird durch die Kopplung der elektronischen Dipoloperatoren der Moleküle vermittelt. Bei apolaren Molekülen liefert erst die Störungstheorie zweiter Ordnung einen Beitrag. Dieser kann in seinen wesentlichen Teilen abgeschätzt werden. Es ergibt sich in groben Zügen:

$$W \approx -I \frac{(\alpha_1 \alpha_2)^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$$

wobei I die Ionisierungsenergie der Moleküle symbolisiert und α_i die Polarisierbarkeiten der beiden Moleküle. Die Abhängigkeit vom Abstand ergibt sich durch die elektrische Wechselwirkung zweier Dipole, die wie r^{-3} abfällt und hier als Störung des quantenmechanischen Systems wirkt. Die Energieabsenkung aufgrund einer Störung ist nach der Störungstheorie 2. Ordnung proportional zum Quadrat des Erwartungswerts des Störoperators. Daher ergibt sich hier insgesamt ein Abfall der Wechselwirkungsenergie proportional zu r^{-6} . Ebenso muss die Wechselwirkung vom Produkt der Polarisierbarkeiten der Moleküle abhängen. Sie muss auch proportional zur Ionisierungsenergie I der Moleküle sein, da dies die einzige relevante Energieskala ist. Diese recht grobe Näherung hat den großen Vorteil, dass alle Parameter messbar sind.

Setzen wir in diese Gleichung die Polarisierbarkeit von Tryptophan ein und schätzen die Bindungsenergie der Elektronen hier zu 3 eV ab, so ergibt sich eine attraktive Wechselwirkung von 45 meV im Abstand von 0,5 nm. In anderen Worten, die London-Wechselwirkung zwischen Aminosäuren ist von ähnlicher Größenordnung wie die anderen Kräfte zwischen Dipolen.

Eine genaue Behandlung der London-Wechselwirkung muss berücksichtigen, dass die Polarisierbarkeit von Molekülen von der Frequenz abhängt. Die Polarisierbarkeit von Molekülen ist stets in den Frequenzbereichen erhöht, in denen die Moleküle auch elektromagnetische Strahlung absorbieren. Moleküle, die sehr stark Licht absorbieren, sind Farbstoffe. Diese weisen daher auch relativ große Dispersionswechselwirkungen auf.

Eine weitere Komplikation entsteht, da sich das elektrische Feld nur mit Lichtgeschwindigkeit ausbreitet und man mit retardierten Potenzialen rechnen muss. Dies führt dazu, dass die Wechselwirkung bei größeren Abständen schneller (d.h. mit höherer Potenz des Abstands) abfällt. Wie diese Aspekte zeigen, ist die London-Wechselwirkung ein facettenreiches physikalisches Phänomen, das leider den Rahmen dieses Buches bei Weitem sprengt. Dem interessierten Leser sind die Bücher von Parsegian (2006) und Israelachvili (2008) empfohlen.

Da die London-Wechselwirkung von den quantenmechanischen Fluktuationen der Elektronenhülle verursacht wird, wirkt sie zwischen sämtlichen Atomen.

Letzteres gilt auch für die sterische Abstoßung. Aus diesem Grund wird die Wechselwirkung zwischen neutralen Atomen sehr häufig durch das *Lennard-Jones*⁶⁾-Potenzial beschrieben. Es hat die Form:

$$W = 4V \left[\left(\frac{r_0}{r} \right)^{12} - \left(\frac{r_0}{r} \right)^6 \right]$$

Dieses Potenzial hat ein Minimum bei $r_0\sqrt[6]{2}$, die Bindungsenergie beträgt V . V und r_0 können zum Beispiel aus systematischen Messungen der Zustandsgleichungen von molekularen Gasen bei verschiedenen Temperaturen bestimmt werden, (s. Abschnitt 3.2 über reale Gase). Zum attraktiven Teil des Potenzials tragen neben der London-Wechselwirkung zwischen induzierten Dipolen auch die Wechselwirkungen zwischen zwei thermisch fluktuierenden permanenten Dipolen (Keesom-Wechselwirkung) und zwischen einem permanenten und einem induzierten Dipole bei, da sie alle mit r^{-6} skalieren.

Alles bisher Gesagte gilt nur für punktförmige Teilchen. Für größere Objekte und andere Geometrien, z. B. zwei unendlich dicke Platten, wird häufig angenommen, dass die Wechselwirkung zwischen zwei Atomen auf verschiedenen Objekten von der Form $W = -A \cdot r^{-6}$ ist und dass die Gesamtwechselwirkung durch Integration über alle Atome in den größeren Körpern erhalten werden kann. Dieses Verfahren wurde 1937 von Hamaker⁷⁾ vorgeschlagen. Dabei ergibt sich zum Beispiel für die Wechselwirkung zweier unendlich ausgedehnter Platten im Abstand a :

$$W = - \frac{1}{12\pi} \frac{H_a}{a^2}$$

Hierbei haben wir die Hamaker-Konstante H_a verwendet. Für diese gilt $H_a = \pi^2 n^2 A$, wobei n die Teilchendichte (Atome/Volumen) des Materials ist. Da die London-Wechselwirkung nur näherungsweise additiv ist, liefert das Hamaker-Verfahren auch nur genäherte Wechselwirkungspotenziale von größeren Partikeln. Ebenso wird hier die Retardation vernachlässigt.

Ein Verfahren, das die hier genannten Limitierungen (Frequenzabhängigkeit, Nicht-Additivität und Retardierung) exakt behandeln kann, wurde von Lifshitz⁸⁾ angegeben. Die Grundidee dieser Theorie kann am leichtesten anhand zweier paralleler idealer Spiegel erklärt werden. Die erlaubten Moden des elektrischen Felds sind in dieser Geometrie stehende Wellen zwischen den Spiegeln. Diese tre-

6) John Edward Lennard-Jones (* 27. Oktober 1894 in Leigh; † 1. November 1954) war ein Mathematiker und theoretischer Physiker.

7) Hugo Christiaan Hamaker (* 23. März 1905 in Broek op Langendijk; † 7. September 1993 in Eindhoven) war ein niederländischer Wissenschaftler, dessen Arbeit zu den van der Waals-Wechselwirkungen an Makromolekülen als Hamaker-Theorie bezeichnet wurde.

8) Jewgeni Michailowitsch Lifschitz (engl. Transliteration: Evgeny Mikhailovich Lifshitz, * 21.02.1915 in Charkow, † 29.10.1985 in Moskau), sowjetischer Physiker, wurde vor allem für seine Arbeiten zur allgemeinen Relativitätstheorie und zur Dispersionswechselwirkung bekannt.

ten nur bei diskreten Wellenlängen λ_i auf. Bei fortschreitender Annäherung werden immer weniger Moden möglich. Jede dieser Moden trägt gemäß der Quantenelektrodynamik $1/2\hbar\omega_i = 0,5hc/\lambda_i$ zur Nullpunktenergie des Vakuums bei. Diese ist somit abhängig von der Geometrie. Die Ableitung der Nullpunktenergie nach dem Abstand des Spiegels liefert somit eine Kraft. Diese wurde von H. Casimir⁹⁾ 1948 berechnet. Diesen Zugang erweiterte Lifshitz 1956 auf dielektrische Materialien. Dabei können Retardierung und Frequenzabhängigkeit der Dielektrizitätskonstanten (Dispersion) berücksichtigt werden. Das wesentliche Ergebnis dieser Theorie ist ein etwas unhandliches Integral, das es erlaubt, die Stärke der London-Wechselwirkung exakt aus der frequenzabhängigen Dielektrizitätskonstante zu berechnen. Je nach Materialkombination können sowohl anziehende als auch abstoßende Kräfte auftreten. Frequenzbereiche mit hohen Dielektrizitätskonstanten wie Absorptionsbanden tragen sehr stark zur London-Wechselwirkung bei. Daher wird sie auch Dispersionswechselwirkung genannt. Eine gute Beschreibung dieser Theorien findet man in Parsegian (2006).

Als letztes sei bemerkt, dass manchmal sämtliche elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen neutralen Molekülen als *van der Waals-Wechselwirkung* bezeichnet werden. Da Biomoleküle meistens viele statische Dipolmomente aufweisen und zudem noch oft stark polarisierbar sind, spielen van der Waals-Wechselwirkungen in biologischen Systemen eine große Rolle. Die van der Waals-Wechselwirkungen sind auch entscheidend für die Stabilität von Lösungen elektrisch geladener Kolloide. Dort sind die Paarwechselwirkungen durch eine Summe aus van der Waals-Attraktion und abgeschirmter Ladungsabstoßung (Gleichung 6.5) gegeben. Bei zunehmender Abschirmung wird die Lösung instabil. Dies ist unter dem Stichwort DLVO Theorie in Lehrbüchern der Kolloidphysik eingehend beschrieben (z. B. Evans 1999 oder Hiemenz 1997).

6.4

Wasserstoffbrücken-Bindungen

Obwohl „die Wasserstoffbrücken-Bindung“ schon seit langem bekannt ist, gibt es immer noch keine eindeutige Definition und keine einfache theoretische Beschreibung derselben. Wahrscheinlich liegt dies daran, dass Wasserstoffbrücken-Bindungen je nach betrachtetem Molekül und seiner Umgebung deutlich verschiedene Eigenschaften aufweisen.

Generell sind Wasserstoffbrücken-Bindungen (auch kurz H-Brücken genannt) eine Mischung aus dipolarer Kraft und quantenmechanischem Effekt. Sie entstehen, wenn sich ein an einem Donor (D) gebundenes Wasserstoff-Atom an einen Akzeptor annähert. Sowohl Donor als auch Akzeptor müssen stark elektronegativer sein. Somit tragen sie beide eine partielle negative Ladung, wohingegen das Wasserstoff-Atom partiell positiv geladen ist (Abb. 6.16). Außerdem muss der

9) Hendrik Brugt Gerhard Casimir (* 15. Juli 1909 in Den Haag; † 4. Mai 2000 in Heeze) war ein niederländischer Physiker.

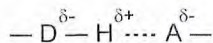


Abb. 6.16 Konformation einer Wasserstoffbrücken-Bindung (gestrichelte Linie).

H-Brücken-Akzeptor ein ungebundenes Elektronenpaar enthalten. Die wichtigsten Atome, für die diese Bedingungen gelten, sind Stickstoff, Sauerstoff, Schwefel und Fluor. Eine besondere Rolle spielt Sauerstoff, da dieses Molekül mit zwei ungebundenen Elektronenpaaren gleichzeitig in zwei H-Brücken als Akzeptor auftreten kann. Da sowohl NH- als auch OH-Gruppen in Proteinen sehr häufig vorkommen, sind H-Brücken sehr wichtig für die Form und Funktion von Biomolekülen. Generell kann man die H-Brücke beschreiben als ein Proton, das mit zwei ungebundenen Elektronenpaaren gleichzeitig wechselwirkt. In dieser etwas allgemeineren Definition kann auch ein delokalisiertes π -Elektronensystem, wie in Benzol vorhanden, als H-Brückenakzeptor auftreten.

Aus Daten über Molekülstrukturen und aus theoretischen Modellen lässt sich ableiten, dass die drei an einer Wasserstoffbrücke beteiligten Atome in sehr guter Näherung auf einer Geraden liegen. Dies ist eine wesentliche Eigenschaft der Wasserstoffbrücken-Bindungen, die in vielen biologischen Fragestellungen entscheidende Konsequenzen hat. Sie wird verursacht von der ausgeprägten Winkelverteilung der quantenmechanischen σ -Orbitale, die zur Bindung beitragen. Abweichungen der Winkel zwischen D–H und H–A von 180° liegen in den Kristallstrukturen von bekannten Proteinen im Allgemeinen bei wenigen Grad mit Maximalwerten von ca 30° . Im Allgemeinen ist der Abstand zwischen Donor und Akzeptor innerhalb einer Wasserstoff-Brücke etwas geringer als für nicht gebundene Strukturen aus den van der Waals-Radien der Atome erwartet. Somit bewegt sich das Wasserstoff-Atom unter dem Einfluss der Elektronen-Wolken von Donor und Akzeptor. Wenn der Abstand zwischen Donor und Akzeptor fast den Summen der van der Waals-Radien entspricht, bewegt sich das Wasserstoff-Atom in einem Potenzial, das zwei Minima (Proton bei D und Proton bei A) mit einem ausgeprägten Maximum dazwischen aufweist. Je kürzer die Brückenbindung wird, desto mehr mischen die Orbitale der beteiligten Atome und das Maximum zwischen den beiden Minima wird immer geringer. In kurzen Wasserstoffbrücken-Bindungen ist das Proton daher weitgehend delokalisiert. Daher tauschen in Isotopen-Austauschexperimenten Wasserstoff-Atome, die in Brückenbindungen beteiligt sind, sehr viel schneller aus als andere.

Die Stärke von Wasserstoffbrücken-Bindungen variiert von ca. 4 kJ/mol bis 35 kJ/mol, was ca. 1,5 bis 15 thermischen Energien entspricht. Über die Variation der Bindungsstärke mit dem Winkel zwischen D–H und H–A ist nur wenig bekannt, mit Sicherheit werden Wasserstoffbrücken-Bindungen durch eine Abweichung von einer kollinearen Anordnung deutlich schwächer. Die verschiedenen theoretischen Modelle stimmen darin überein, dass der größte Anteil der Bindungsenergie von H-Brücken auf die elektrostatische Anziehung des teilweise positiv geladenen Wasserstoff-Atoms an die negativ geladenen Akzeptoren und Donoren zurückzuführen ist. Dazu kommen noch Energiebeiträge von der Delokalisierung des Wasserstoff-Atoms (Tunnel-Auspaltung) sowie durch Mischung der Orbitale

aller beteiligten Atome. Diese Mischung der Orbitale führt zur ausgeprägten Richtungsabhängigkeit der Wasserstoffbrücken-Bindungen.

6.5

Hydrophobe Wechselwirkung

Es ist eine Alltagserfahrung, dass sich Öl und Wasser nicht mischen. Allgemein lassen sich Substanzen in die beiden Kategorien hydrophil und hydrophob einteilen. Hydrophobe Substanzen lösen sich gut in organischen Lösungsmitteln und sehr schlecht in Wasser, während für hydrophile Substanzen genau das Gegenteil gilt. Offensichtlich muss diese Unmischbarkeit auch mit einer Wechselwirkungsenergie verknüpft sein. Diese zu definieren ist aber durchaus kompliziert. Eine eindeutige quantitative Beschreibung der Hydrophibizität von Molekülen und Oberflächen steht bisher aus, allerdings gibt es bereits einige gesicherte Fakten, die auf thermodynamischen Messungen, Computersimulationen und hochauflösenden Röntgen- sowie Neutronenstreuexperimenten beruhen.

Ein Maß für die Hydrophobizität lässt sich aus einem Lösungsexperiment ableiten. Dazu betrachtet man die Verteilung eines Stoffs zwischen zwei unmischbaren Phasen, z. B. zwischen Wasser und Öl. Dieses thermodynamische System wurde bereits in Abschnitt 3.2 behandelt (s. Gl. 3.45 und Abb. 3.9). Dort wurde gezeigt, dass im thermodynamischen Gleichgewicht das Verhältnis der Molenbrüche der Substanz in den beiden Phasen mit der Freien Enthalpie des Transfers des Moleküls von einer Phase in die andere zusammenhängt. Für eine genaue Messung eignet sich am besten eine gesättigte Lösung (Abb. 6.17). Für hydrophobe Substanzen wird hierbei die wässrige Lösung in Kontakt mit der Reinsubstanz gebracht. In dieser ist der Molenbruch der Substanz 1. Somit kann Gleichung (3.45) umgeformt werden zu

$$x_L = \exp\left\{-\frac{\mu_L^0 - \mu_R^0}{k_B T}\right\} = \exp\left\{-\frac{\Delta\mu^0}{k_B T}\right\} \quad (6.8)$$

In dieser Gleichung symbolisieren x_L der Molenbruch der gelösten Substanz in der gesättigten Lösung, μ_L^0 das chemische Potenzial der Substanz in der Lösung unter Standardbedingungen und μ_R^0 das chemische Potenzial der Reinsubstanz. $\Delta\mu^0 = \mu_L^0 - \mu_R^0$ gibt die Freie Enthalpie des Transfers der Substanz an. Aufgrund

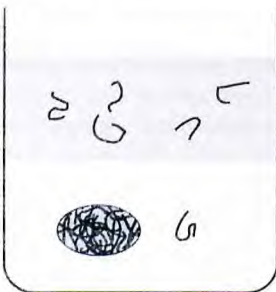


Abb. 6.17 Ein Mehrphasen-Gleichgewicht. Die Substanz liegt als Reinsubstanz sowie in organischer wie auch in wässriger Phase vor. In beiden Lösungen stellt sich im Lauf der Zeit die Sättigungskonzentration ein.

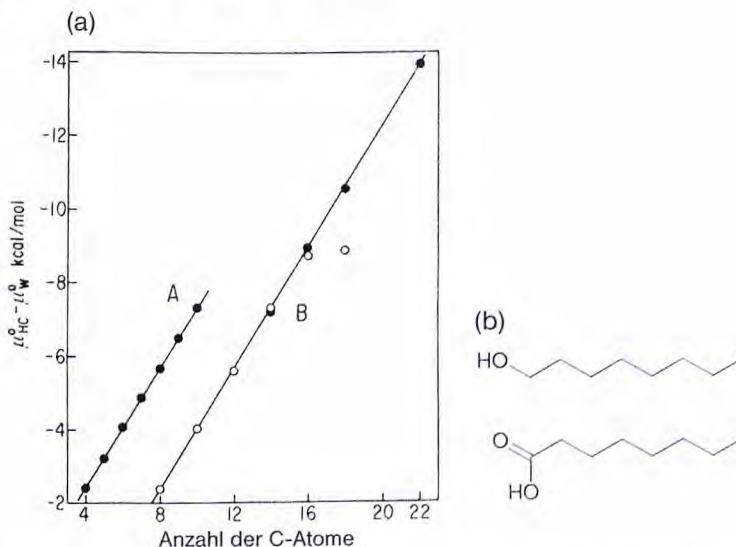


Abb. 6.18 (a) Die Freie Enthalpie des Transfers von der wässrigen Phase in hydrophobe Phasen. Kurve A: langkettige Alkohole, die hydrophobe Phase ist der jeweilige Alkohol. Kurve B: undissoziierte Fettsäuren, die hydro-

phobe Phase ist *n*-Hexan (Daten aus [5]). (b) Die chemischen Strukturformeln der Substanzen mit einer Länge von acht Kohlenstoff-Atomen.

der Gibbs-Duhem-Beziehung (s. Anhang 3.A) ist hier das chemische Potenzial gleich der Freien Enthalpie pro Teilchen, weswegen wir die beiden Ausdrücke hier als Synonyme benutzen.

Zahlreiche Messungen dieser Art wurden in der Mitte des 20. Jahrhunderts durchgeführt. Dabei ergab sich, dass in homologen Reihen (z. B. Alkane verschiedener Kettenlängen) die Freie Enthalpie des Transfers zur Länge der Kette bzw. zur Oberfläche proportional ist (Abb. 6.18). Die Qualität der linearen Näherung ist überraschend gut. Aus dieser Tatsache wurde geschlossen, dass der hydrophobe Effekt durch ein Kontaktpotenzial (d. h. dass nur molekulare Gruppen in molekularem Kontakt wechselwirken) beschrieben werden kann.

Man erkennt aus diesen Daten deutlich, dass der Transfer von hydrophoben Substanzen aus der reinen Phase in Wasser mit sehr hohen ungünstigen Änderungen der Freien Enthalpie verknüpft ist. Die isobare Lösungswärme eines Stoffes ist gegeben durch die Änderung der Enthalpie H . Diese Lösungswärme kann direkt in Kalorimetern gemessen werden. Aufgrund der Beziehung

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

und der Gibbs-Duhem-Beziehung können somit Entropie und Enthalpie des Transfers bestimmt werden. In diesen Experimenten ergibt sich, dass die Enthalpie des Transfers günstig ist, d. h. es gibt attraktive Wechselwirkungen zwischen Wasser und hydrophoben Substanzen (Abb. 6.19). Diese entstehen zum Beispiel aufgrund der attraktiven London-Wechselwirkung und bei einigen Substanzen

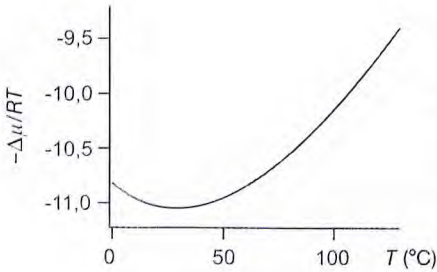


Abb. 6.19 Freie Enthalpie des Transfers von Dimethylpropan in Wasser. Die Ordinate ist gemäß Gleichung (6.8) der Logarithmus des Molenbruchs von Dimethylpropan in gesättigter wässriger Lösung. Die zugrunde liegenden thermodynamischen Werte sind aus [6] entnommen.

auch aufgrund von Wasserstoffbrücken-Bindungen. Allerdings wird diese attraktive Wechselwirkung durch einen sehr großen Beitrag der Entropie überkompensiert.

Ganz generell ergibt sich mit zunehmender Temperatur zunächst ein Abfall der Löslichkeit einer hydrophoben Substanz und dann wieder ein Anwachsen, (Abb. 6.19). Dies ist eine charakteristische Eigenschaft des hydrophoben Effekts. Im Gegensatz hierzu wächst die Löslichkeit „normaler“ Substanzen mit der Temperatur.

Bei der Zugabe einer Substanz zu einem Lösungsmittel ändert sich die Wärmekapazität der Lösung. Diese Änderungen der Wärmekapazität haben zwei verschiedene Ursachen: Sie können durch strukturelle Änderungen im gelösten Molekül oder durch Änderungen im Lösungsmittel hervorgerufen sein. Es zeigte sich in systematischen thermodynamischen Messungen an wässrigen Lösungen hydrophober Substanzen, dass hier der Beitrag des Lösungsmittels dominiert, da die Änderungen der Wärmekapazität (bezogen auf die Zahl der gelösten Moleküle) die molekulare Wärmekapazität der gelösten Moleküle in der Gasphase bei Weitem überschreitet. Die bisher besprochenen thermodynamischen Aspekte sind in dem hervorragenden Buch von Tanford (1980) wesentlich detaillierter beschrieben.

Hier stellt sich natürlich die Frage, welche Änderungen in der Wasserstruktur durch gelöste hydrophobe Moleküle verursacht werden. Um dies zu beantworten, müssen wir kurz auf die Struktur flüssigen Wassers und des Wasser-Moleküls zu sprechen kommen (s. Finney 2004). Auf die Form und das Dipolmoment des Wasser-Moleküls sind wir schon in Abbildung 6.11 eingegangen. Entscheidend für die Struktur des flüssigen Wassers ist neben der Größe und Form des Moleküls seine Fähigkeit, an Wasserstoffbrücken-Bindungen teilzunehmen. Dabei kann ein einzelnes Wasser-Molekül an insgesamt vier starken Wasserstoff-Brücken teilnehmen. Bei zweien davon tritt das Molekül als Protonen-Donor, bei zweien als Protonen-Akzeptor auf. Letzteres ist möglich, da das Sauerstoff-Atom zwei ungepaarte Orbitale besitzt. Normalerweise werden die quantenmechanischen Eigenfunktionen der Elektronen, d. h. die Orbitale, in Kugelflächenfunktionen entwickelt. Aufgrund dieser Entwicklung ergibt sich für die Geometrie der Orbitale des Sauerstoffs ein Tetraeder mit dem Sauerstoff-Atom im Zentrum. An zwei Eckpunkten des Tetraeders sitzen die gebundenen Protonen, die anderen beiden Eckpunkte weisen in die Richtungen der ungepaarten Orbitale. Diese klassische Beschreibung der Geometrie ist leider nicht ganz korrekt. Die

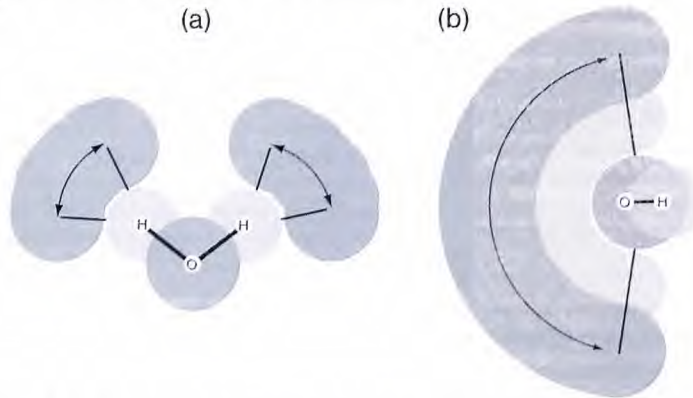


Abb. 6.20 Mögliche Richtungen der Wasserstoffbrücken-Bindungen in flüssigem Wasser. (a) In der H-O-H-Ebene sind die möglichen Lagen der als H-Brücken-Akzeptoren wirkenden Sauerstoff-Atome skizziert. (b) Senkrecht zur H-O-H-Ebene sind die möglichen Lagen der als H-Brücken-Donoren wirkenden

OH-Gruppen skizziert. Die Geometrien sind gemäß [7] abgeschätzt. Während die H-Brücken-Akzeptor-Verteilung zwei klare Maxima in Richtung der Bindungen im Wasser-Molekül aufweist, sind die Lagen der möglichen H-Brücken-Donatoren sehr breit verteilt.

beiden ungepaarten Orbitale des Sauerstoffs liegen viel enger beieinander als erwartet. Insgesamt ergibt sich eher eine trigonale Geometrie als eine tetraedrische. Aufgrund dieser Eigenschaft der atomaren Ladungsverteilung sind die möglichen Winkel, unter denen Wasserstoff-Brücken gebildet werden können, deutlich breiter verteilt als erwartet (Abb. 6.20).

In normalem Eis ist die tetraedrische Anordnung der Wasserstoff-Brücken perfekt erfüllt. Jedes Wasser-Molekül hat genau vier nächste Nachbarn, die auf den Ecken des Tetraeders liegen. Diese Struktur hat eine perfekte Fernordnung. Der Wasserkristall weist jedoch im Vergleich zu einer dichtesten Kugelpackung mit sechs nächsten Nachbarn eine relativ geringe Dichte auf. Fluktuationen der Molekülpositionen erfolgen mit geringen Amplituden um die Ruhelagen. Die in Abbildung 6.20 gezeigte Flexibilität des *Wasserstoffbrücken-Netzwerks* erlaubt das Schmelzen, d. h. den Verlust der Fernordnung, obwohl *lokal* eine tetraedrische Anordnung der H-Brücken in flüssigem Wasser immer noch deutlich bevorzugt ist. Die Zahl der nächsten Nachbarn in flüssigem Wasser beträgt ungefähr 4,4. Die Struktur von flüssigem Wasser ist also kompakter als die von Eis, was dazu führt, dass Eis auf Wasser schwimmt. In flüssigem Wasser erfolgen Richtungswechsel und Platzwechselprozesse der Wasser-Moleküle in wenigen Pikosekunden. Die Struktur von flüssigem Wasser und somit auch das Wasserstoffbrücken-Netzwerk sind hoch dynamisch.

Wie Abbildung 6.21 anschaulich zeigt, ist eine Struktur aus Kugeln mit gerichteter Wechselwirkung erstaunlich flexibel, sofern man eine gewisse Variabilität der Richtungen zulässt. Eine solche Struktur kann auch gelöste Moleküle einschließen. Manche kleinen und hydrophoben Moleküle können sogar gemeinsam mit Wasser einen Kristall bilden, in dem jedes hydrophobe Molekül von

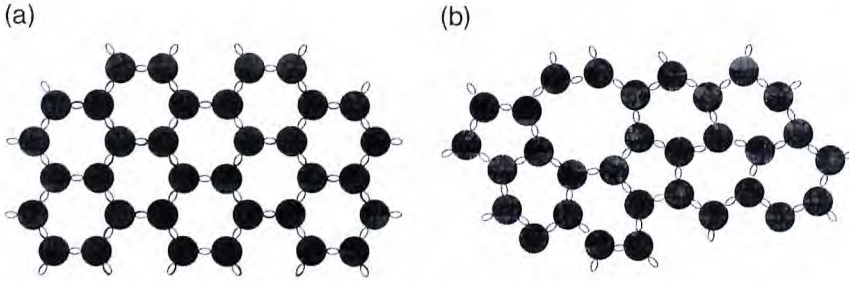


Abb. 6.21 Einfluss von Unordnung auf eine Packung von Kugeln, deren Wechselwirkung gerichtet ist. Zur Darstellung in einer Ebene wurde eine dreizählige Symmetrie gewählt. (a) Kristall (Eis), (b) Packung desselben Systems mit Variabilität der Richtungen (Glas

oder Flüssigkeit). Beachten Sie, dass in Version (a) nur sechszählige Ringe vorkommen, während (b) Ringe mit fünf bis acht Kugeln auf dem Umfang aufweist. Darstellung nach [8].

einem „Käfig“ aus Wasser-Molekülen mit entsprechenden Wasserstoffbrücken-Bindungen umgeben ist. Die Strukturen dieser *Clathrate* genannten Einschlussverbindungen werden oft zur Veranschaulichung der lokalen Struktur von in Wasser gelösten Substanzen verwendet. Allerdings erzeugt auch hier die Kristallisation eine höhere Ordnung, als sie in der Flüssigkeit vorliegt. Auf jeden Fall ist einleuchtend, dass die Notwendigkeit, ein Molekül (wie z. B. Methan oder ein Lipid) mit einer gewissen Form zu umschließen, die Zahl der möglichen Anordnungen der Wasser-Moleküle einschränkt. Diese Einschränkung ist erstaunlich schwer quantitativ zu fassen. Es herrscht sogar Unklarheit in der Frage, ob die erste Schicht Wasser in Kontakt mit der hydrophoben Substanz eine höhere oder eine geringere Dichte aufweist als ungestörtes Wasser. Letztendlich ist aber nur die Abweichung von der Struktur von freiem Wasser entscheidend für die Reduktion der Entropie und somit für den hydrophoben Effekt.

Der große entropische Beitrag zur Freien Enthalpie des Transfers und der negative Temperaturkoeffizient der Löslichkeit bei tiefen Temperaturen haben Anlass zur Beschreibung des hydrophoben Effekts als *entropischer Effekt* gegeben. Dies ist jedoch nur eine Seite der Medaille, denn es gibt auch bedeutende enthalpische Beiträge zur Löslichkeit.

Aus den bekannten Dimensionen der Moleküle und den Freien Enthalpien des Transfers in Wasser kann der Aufwand an Freier Enthalpie zur Herstellung einer Grenzfläche zwischen Wasser und hydrophober Substanz berechnet werden. Man erhält hier Energien im Bereich von 15 mJ/m^2 . Nach unseren bisherigen Überlegungen sollte dies die Oberflächenenergie der Alkan-Wasser-Grenzfläche sein. Messungen an makroskopischen Alkan-Wasser-Grenzflächen ergeben aber mehr als dreimal größere Werte. Dies zeigt uns, dass die Stärke des hydrophoben Effekts von der Längenskala abhängt. Eine Erklärung dieses Effekts kommt aus Simulationsrechnungen. In diesen findet man, dass sich das Wasserstoffbrücken-Netzwerk des flüssigen Wassers an kleine gelöste Stoffe anpassen kann. Hierbei werden H-Brücken in bestimmten Richtungen ausgeschlossen, was zur

Reduktion der Möglichkeiten des Aufbaus des Netzwerks und somit zu entropischen Kosten führt. Im Gegensatz dazu kann sich das H-Brücken-Netzwerk nur schlecht an Strukturen anpassen, die deutlich größer sind als ein Wasser-Molekül. Daher gehen hier H-Brücken verloren, was enthalpische Kosten verursacht. Die relative Bedeutung der beiden Beiträge zum hydrophoben Effekt hängt also von der Längenskala ab.

Wie diese kurzen Ausführungen zeigen, gibt es noch viele Unklarheiten in Bezug auf den hydrophoben Effekt. In Anbetracht dessen ist es schon fast enttäuschend, dass man für sehr viele Anwendungen den hydrophoben Effekt einfach als eine molekulare Kontaktwechselwirkung betrachten kann. Bei einem solchen empirischen Ansatz wird die Stärke der Wechselwirkung durch Vergleich mit Modellsustanzen bestimmt und als empirischer Parameter benutzt.

6.6

Dehydratisierungskräfte

Auch die Dehydratisierungskräfte sind stark mit der Struktur von flüssigem Wasser verknüpft. Während in der hydrophoben Wechselwirkung die attraktiven enthalpischen Beiträge nicht ausreichen, um die repulsiven Entropiebeiträge zu kompensieren, ist dies bei den Dehydratisierungskräften der Fall. Sie treten auf, wenn Wasser-Moleküle sehr stark an Oberflächen gebunden werden, z. B. durch starke H-Brücken-Bindungen oder durch Ladungen, d.h. wenn eine Hydrathülle vorliegt. Da Wasser ein dreidimensionales Netzwerk aus Wasserstoffbrücken-Bindungen aufweist, wird sich die Störung dieser Struktur durch das Netzwerk ausbreiten und zu Wechselwirkungen zwischen den gelösten Stoffen oder Oberflächen führen. Diese Wechselwirkungen resultieren in einer zusätzlichen starken Abstoßung, die neben der elektrostatischen Wechselwirkung und der van der Waals-Wechselwirkung wirkt. Maricleja und Radic entwickelten 1976 eine Theorie der Hydratisierungskräfte, die auf dieser Idee und einer Näherung des mittleren Feldes beruht.

Wechselwirkungskräfte als Funktion des Abstands a wurden gemessen für Lipidmembranen, Proteine und steife Polymere (DNA), siehe auch Kapitel 36. Für eine ebene Geometrie ist der Beitrag der Dehydratisierungskräfte zum gesamten notwendigen Druck gegeben durch:

$$P_D(a) = P_0 \exp\left\{-\frac{a}{\lambda}\right\}$$

Gemessene Vorfaktoren liegen im Bereich von 2 bis 200 MPa. Die Abklinglänge λ hängt vom untersuchten Material ab und liegt im Bereich von 0,1 nm bis 0,4 nm. Diese Abklinglängen sind ungefähr von der Größe des Wasser-Moleküls, was zur oberen Interpretation dieser Wechselwirkung als Störung der Wasserstruktur passt. Allerdings ist bisher unverstanden, wie es dazu kommt, dass nicht nur der Vorfaktor der Wechselwirkung, sondern auch die Abklinglänge von der Art der Oberfläche oder des wechselwirkenden Makromoleküls abhängt.

6.7

Depletion forces, eine durch Makromoleküle vermittelte Wechselwirkung

Hier betrachten wir Lösungen, in denen zweierlei gelöste Moleküle vorkommen: extrem große Moleküle (oder kolloidale Partikel) sowie Moleküle, die zwar deutlich kleiner sind als die erste Sorte, aber immer noch viel größer als die Lösungsmittelmoleküle. In dieser Situation kommt es zu einer attraktiven Wechselwirkung zwischen den extrem großen Molekülen, die durch den osmotischen Druck der mittelgroßen Moleküle erzeugt wird (Abb. 6.22). Diese 1954 von Asakura und Oosawa entdeckte Wechselwirkung heißt in der englischsprachigen Literatur *depletion forces*.

Die qualitativen Überlegungen aus Abbildung 6.22 können direkt in eine statistische Beschreibung umgesetzt werden. Hierzu berechnen wir die Freie Energie F der gelösten mittelgroßen Moleküle bei festgehaltenem Abstand a der Riesenkugeln. Die wirkende mechanische Kraft K wird gegeben durch:

$$K = - \frac{\partial F}{\partial a}$$

wobei F durch die Zustandssumme Z gegeben ist (s. Abschnitt 3.2.2, Gl. 4.30)

$$F = - k_B T \ln Z$$

In der einfachsten Näherung betrachten wir die beiden Molekülsorten als Massepunkte. Dann bilden die mittelgroßen Moleküle ein ideales Gas, dessen Zustandssumme gemäß Gleichung (3.25)

$$Z = \frac{1}{N!} \left(\frac{V_z}{\lambda_{th}^3} \right)^N$$

gegeben ist. Dabei bedeutet λ_{th} die thermische Wellenlänge der mittelgroßen Moleküle (Gl. 3.26). Allerdings dürfen wir hier nicht das gesamte Volumen des Sys-

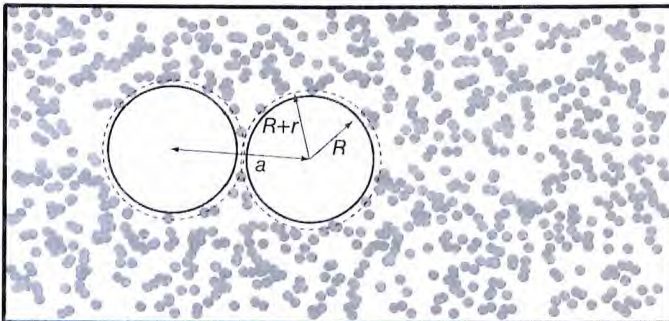


Abb. 6.22 Mittelgroße Moleküle (graue Plättchen mit Radius r) können sich nur bis auf einen Abstand r an Oberflächen nähern. Hier sind zwei kugelförmige Riesenkugeln (Radius R) gezeigt, der Ausschlussbereich

ist durch eine gestrichelte Linie markiert. Wenn sich die Ausschlussbereiche zweier Kugeln überlappen, wird das für die mittelgroßen Moleküle zugängliche Volumen größer, es resultiert eine Anziehungskraft.

tems V_0 betrachten, sondern nur das für die mittelgroßen Moleküle zugängliche. Dieses wird hier V_z genannt und hängt vom Abstand der Riesenmoleküle ab (Abb. 6.22).

Dieses Verfahren zur Annäherung der Zustandssumme ist sehr eng verwandt mit unserer Herleitung der van der Waals-Gleichung (3.32) in Abschnitt 3.2.3. Dort hatten wir ebenfalls die Atome des realen Gases als identische Partikel betrachtet und die Volumenausschluss-Wechselwirkung berücksichtigt. Die einzigen Unterschiede sind, dass wir hier einerseits direkte Wechselwirkungen der mittelgroßen Moleküle vernachlässigen und dass der Volumenausschluss nicht durch das Eigenvolumen der mittelgroßen Moleküle entsteht, sondern durch die Anwesenheit der Makromoleküle.

Es gilt:

$$V_z = V_0 - 2 \frac{4\pi}{3} (R+r)^3 \quad \text{für } a > 2(R+r)$$

und

$$V_z = V_0 - 2 \frac{4\pi}{3} (R+r)^3 + \frac{2}{3} \pi \left(R+r - \frac{a}{2} \right)^2 \left(2R + 2r + \frac{a}{2} \right)$$

für $2R < a < 2(R+r)$

Die etwas umständliche Formel im zweiten Fall ergibt sich durch die Geometrie zweier sich schneidender Kugeln. Nach Zusammenfassung aller Formeln kommt man zu folgendem Ergebnis:

$$K = - \frac{k_B T N \pi}{V_0} \frac{1}{4} \left[4(R+r)^2 - a^2 \right] \quad \text{für } 2R < a < 2(R+r)$$

$$K = 0 \quad \text{für } a > 2(R+r)$$

Hierbei haben wir im Vorfaktor ausgenutzt, dass das Gesamtvolumen der Riesenmoleküle viel kleiner ist als das Gesamtvolumen der Lösung V_0 . Das Vorzeichen dieser Kraft ist negativ, d. h. es handelt sich um eine Anziehung der Kugeln. Ihr Betrag wird im Wesentlichen durch den osmotischen Druck $p_0 = \frac{k_B T N}{V_0}$ der mittelgroßen Teilchen in der Lösung und die Größe des Überlappungsbereichs der Ausschlussbereiche bestimmt. Der Maximalwert der Kraft tritt beim Kontakt der Partikel auf und beträgt $p_0 \pi (2Rr + r^2)$, der gesamte Energiegewinn, den zwei Teilchen erhalten, wenn sie sich bis auf Kontakt annähern, beträgt $p_0 \frac{4\pi}{3} \left(\frac{3}{2} Rr^2 + r^3 \right)$.

Als Beispiel für die Bedeutung der *depletion forces* betrachten wir das Zytoplasma einer Zelle. Es besteht zu ca. 30% aus Proteinen, deren mittlerer Radius für diese Abschätzung mit 2 nm angenommen wird. Damit erhalten wir ein p_0 von 36 kPa. In Zellen gibt es sehr viele größere Gebilde, wie die Ribosomen, die Proteinsynthese-Maschinen der Zelle bestehend aus ca. 80 verschiedenen Proteinen und 4 Ribonukleinsäure-Ketten. Diese weisen einen Radius von ca. 10 nm auf. Auf sie wirkt im Kontakt eine Kraft von ca. 5 pN und eine Bindungsenergie, die das 2,5-fache der thermischen Energie beträgt. Auf Organellen mit Radien von ca. 1 μm wirkt hingegen im Kontakt bereits eine Kraft von 0,5 nN und

eine Bindungsenergie von 200 thermischen Energien. An diesen Beispielen erkennt man, dass die *depletion forces* durchaus von Bedeutung für die Aggregation von biologischen Partikeln sein können.

Für eine genauere Theorie der *depletion forces* ist es notwendig, die Hartkugelnäherung aufzugeben und die Kompressibilität der mittelgroßen Moleküle zu berücksichtigen. Die wesentlichen Ergebnisse der Beschreibung bleiben aber erhalten.

6.8

Freie Volumen-Effekte in Lösungen vieler Komponenten(molecular crowding)

Biologische Flüssigkeiten, z. B. Cytoplasma, Blutplasma oder extrazelluläre Flüssigkeit, enthalten viele Makromoleküle (Abb. 6.23). Dabei liegen typischerweise die Makromoleküle einer bestimmten Sorte in relativ geringer Dichte vor, aber aufgrund der hohen Zahl an verschiedenen Sorten ist der Gesamtvolumenbruch aller Makromoleküle im Bereich von 7 % bis 40 %. Solche Lösungen sind nicht im engen Sinne konzentriert, aber weisen dennoch einen hohen Füllgrad des Volumens auf, was zu sehr markanten Effekten führt. In der englischen Fachliteratur werden diese Effekte als *molecular crowding* bezeichnet. Wir werden hier den Begriff Freie Volumen-Effekte benutzen, eine allgemein akzeptierte Übersetzung ins Deutsche gibt es leider nicht.

Durch die hohen Füllgrade der Lösungen werden sowohl die Beweglichkeit der Moleküle als auch deren zwischenmolekulare Wechselwirkungen sehr stark verändert. Wie die folgenden Abschnitte zeigen werden, kann die Füllung der Lösung die Gleichgewichtskonstanten von Aggregationsreaktionen um mehrere Größenordnungen erhöhen. Dies führt dazu, dass Aggregate in der Zelle, wie Ribosomen oder die Polymere des Zytoskeletts, in der Zelle viel stabiler gebunden sind, als man es aus Messungen an verdünnten Proteinen erwartet. Auch die Wirkung von Hilfsproteinen für die Proteinfaltung, so genannten Chaperonen, ist ohne den hohen Füllgrad des Zytosols unverständlich. Chaperone binden mit re-

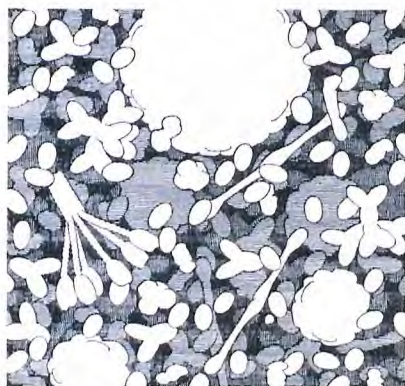


Abb. 6.23 Maßstäbliche Darstellung der Makromoleküle in Blutplasma. Der Bildausschnitt hat eine Seitenlänge von 100 nm. (Entnommen aus [9])

lativ niedrigerer Selektivität ungeordnete Proteine und schließen sie vom Zytosol ab. Dabei wird verhindert, dass ungeordnete Proteinketten aggregieren (auf dies werden wir in Kapitel 9 zurückkommen). Außerdem wird bei jedem Ablösen des Proteins vom Chaperon ein neuer Faltungsprozess begonnen, der zum korrekt gefalteten Protein führen kann. Die treibende Energie zur Bindung einer ungeordneten und daher räumlich ausgedehnten Proteinkette an das Chaperon wird zu einem nennenswerten Teil durch den hohen Füllgrad der Lösung bestimmt.

Qualitativ lässt sich der Einfluss der Volumenfüllung der Lösung verstehen, wenn man das für ein Molekül zugängliche Volumen V_z betrachtet. Genau genommen betrachten wir das Volumen der Lösung, innerhalb dessen sich der Schwerpunkt eines Moleküls befinden kann, ohne dass es zur Überlappung der Moleküle kommt. Im Folgenden wollen wir der Einfachheit halber nur kugelförmige Makromoleküle betrachten, die nur über sterische Ausschließung miteinander wechselwirken. Es wird sich zeigen, dass die Limitierung des zugänglichen Volumens durch die Anwesenheit vieler Makromoleküle in Lösungen mit hohem Volumenfüllgrad zu sehr großen Beiträgen in allen thermodynamischen Größen führt. Daher ist die Vernachlässigung aller anderen Wechselwirkungen eine vernünftige erste Annahme.

Das zugängliche Volumen V_z hängt stark von der Größe des betrachteten Moleküls ab, d. h. V_z ist eine Funktion des Partikelradius R_p (Abb. 6.24). In Abwesenheit von anderen Wechselwirkungen hat das Verhältnis des freien Volumens zum Gesamtvolumen V_0 eine einfache Deutung: V_z/V_0 ist die Wahrscheinlichkeit, ein zusätzliches Teilchen an einer beliebigen Stelle im Volumen unterbringen zu können. Somit ist die Freie Energie F eines solchen Teilchens in der gefüllten Lösung der Logarithmus des freien Volumens (abgesehen von additiven Konstanten).

$$F = -k_B T \ln \frac{V_z}{V_0} + \text{konst}$$

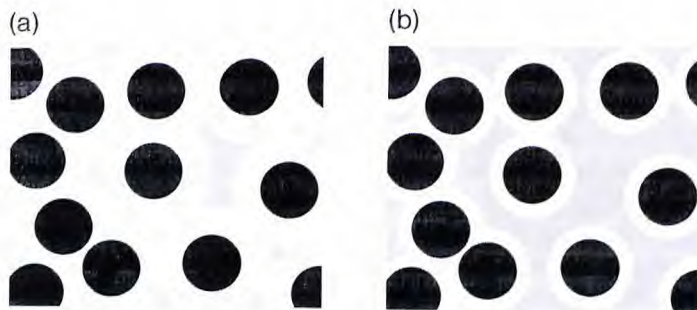


Abb. 6.24 Eine Lösung mit hohem Volumenfüllgrad und das für das Hinzufügen zusätzlicher Moleküle zur Verfügung stehende freie Volumen V_z (grau markiert). (a) Freies

Volumen für die Hinzufügung eines gleich großen Moleküls. (b) Freies Volumen für die Hinzufügung eines Moleküls mit halbem Durchmesser.

Dies kann man entweder aus der Boltzmannschen Beziehung $S = k_B \ln \Omega$ für die Entropie eines Zustands mit der Wahrscheinlichkeit Ω^{-1} ableiten oder durch eine Berechnung der Freien Energie aus dem Zustandsintegral (s. Abschnitt 3.2, Gl. 3.28). Aufgrund dieser Beziehung muss auch das chemische Potenzial der Makromoleküle in einer Lösung mit hohem Volumenfüllgrad einen Zusatzterm

$$W(R_p) = -k_B T \ln \frac{V_z(R_p)}{V_0} \quad (6.9)$$

beinhalten. In Anhang 6.B wird ein spezielles theoretisches Modell zur Berechnung von $W(R_p)$ besprochen. Es handelt sich um die Theorie der skalierten Partikel für Flüssigkeitsmischungen von Lebowitz, Helfand und Praestgard. Diese Theorie behandelt Mischungen aus verschieden großen, harten Kugeln, die nur durch Volumenausschluss wechselwirken. Sie beschreibt die Effekte hoher Volumenfüllung qualitativ richtig und liefert quantitative Ergebnisse von der richtigen Größenordnung. Eine genauere Theorie muss sowohl die nicht-sphärischen Geometrien der verschiedenen Proteine als auch ihre physikalischen Wechselwirkungen berücksichtigen. Dies ist nicht mehr analytisch, sondern nur durch Simulationsrechnungen zu leisten.

6.8.1

Gelpermeationschromatografie als Bewegung in einem „gefüllten“ Volumen

In der biochemischen Praxis werden oft Gele zur Trennung von Makromolekülen benutzt. Gele werden dabei durch Vernetzung linearer Polymere (z. B. lange Polysaccharide wie Dextran) hergestellt. Die mittleren Abstände der Polymerketten im Gel sind meistens im Nanometerbereich. Für die Säulenchromatografie werden Kugeln (Durchmesser 10 μm bis mm) aus Gel hergestellt und in ein Rohr, die so genannte Säule, gepackt (Abb. 6.25). Durch dieses Rohr wird danach eine Mischung aus Makromolekülen, die zum Beispiel durch mechanisches Zerstören einer Zellsuspension erzeugt wurde, gepumpt. Wie Laurent und Killander 1964 zeigten, kann man das Trennvermögen dieses als Gel-Permeations-Chroma-

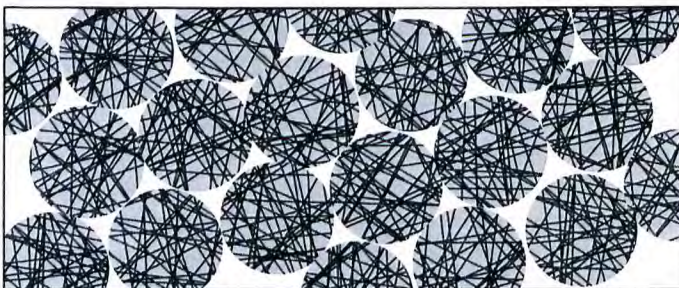


Abb. 6.25 Schematische Darstellung einer Chromatographiesäule. Gelkügelchen sind grau gezeichnet, die Polymere, aus denen sie bestehen, sind als Striche dargestellt. Sowohl Kügelchen als auch der umgebende Raum sind mit Flüssigkeit gefüllt.

tografie (GPC) oder Größen-Ausschluss-Chromatografie (SEC von *size exclusion chromatography*) bezeichnete Verfahrens quantitativ sehr genau beschreiben.

Die Flüssigkeit fließt in der Chromatografiesäule um die Kugeln herum, sie selbst werden kaum durchströmt. Dies liegt an ihrem hohen hydrodynamischen Widerstand. Nach dem Hagen-Poiseuilleschen Gesetz ist der hydrodynamische Widerstand eines Rohrs mit Radius r proportional zu r^{-4} . Ähnlich extreme Abhängigkeiten des hydrodynamischen Widerstands vom Durchmesser einer frei durchströmbaren Öffnung gelten auch in allen anderen Geometrien. Daher wird in der Säule die Strömung auf die Bereiche zwischen den Kugeln (Dimension der frei durchströmten Volumina im μm -Bereich) beschränkt und aus dem Gel (Dimension im nm -Bereich) ausgeschlossen. Allerdings können gelöste Moleküle durch Diffusion in das Innere der Kugeln eindringen. Der gesamte Innenraum aller Kugeln bildet eine Phase im thermodynamischen Sinn, während der Außenraum eine zweite Phase darstellt. Aufgrund der verschiedenen Durchströmung mit der Flüssigkeit werden diese beiden Phasen in der Chromatografie im Allgemeinen als stationäre und mobile Phase bezeichnet. Falls Kugeln und Strömungsgeschwindigkeit nicht zu groß sind, kann man die Verteilung einer Molekülart zwischen diesen beiden Phasen durch einen Verteilungskoeffizienten, d. h. ein thermodynamisches Gleichgewicht, beschreiben. Es gilt dann:

$$\frac{c_I}{c_A} = k$$

wobei der Index I für „innen“ und der Index A für „außen“ steht. In der mobilen Phase bewegen sich die zu trennenden Moleküle im Mittel mit derselben Geschwindigkeit wie das Lösungsmittel. Dessen Geschwindigkeit sei v_L . Sie befinden sich aber nur zu einem Bruchteil der Zeit in der mobilen Phase. Eine elementare Rechnung liefert für die mittlere Ausbreitungsgeschwindigkeit eines Moleküls v_M

$$\frac{v_M}{v_L} = \frac{1}{1 + k\alpha_F} \quad (6.10)$$

wobei der Füllfaktor α_F angibt, welcher Anteil des Volumens einer Säule vom Innenraum der Gelkugeln eingenommen wird. Daher werden Moleküle mit verschiedenen Verteilungskoeffizienten zwischen stationärer und mobiler Phase beim Weg durch die Säule getrennt. Gemäß Gleichung (3.45) gilt für den Verteilungskoeffizienten:

$$k = \exp\left(-\frac{\mu_I^0 - \mu_A^0}{k_B T}\right)$$

Daher kann jeder Effekt, der zu einer Verschiebung des chemischen Potentials eines Moleküls führt, zur Trennung der Moleküle in der Säulenchromatografie verwendet werden. Bei der Größenausschluss-Chromatografie ist dieser Effekt der Freie Volumen-Effekt der gefüllten Lösung im Inneren der Gelkugeln. Falls es außer der sterischen Wechselwirkung keine weitere Interaktion zwischen den Molekülen und dem Gelmaterial gibt, gilt:

$$\mu_i^0 = \mu_A^0 - k_B T \ln \frac{V_z(R_p)}{V_K}$$

d. h. der Verteilungskoeffizient ist, wie nicht anders zu erwarten war, durch den Bruchteil des für das Partikel zugänglichen Volumens am Gesamtvolumen der Kugel V_K gegeben:

$$k = \frac{V_z(R_p)}{V_K}$$

Unter der Annahme, dass ein Gel aus zufällig verteilten geraden und sehr langen Linien besteht, kann das für ein kugelförmiges Teilchen zugängliche Volumen mit elementaren Methoden berechnet werden [10]. Eine anschauliche Realisierung eines solchen Materials wäre ein Strohhaufen. Dabei ergibt sich:

$$k = \frac{V_z(R_p)}{V_K} = \exp\left(-\pi\lambda R_p^2\right) \quad (6.11)$$

Die Größe λ ist die Längendichte des Polymers, d. h. die Polymerlänge pro Volumen. Wie Laurent und Killander in sorgfältigen Messungen zeigten, hängt der Verteilungskoeffizient eines Proteins zwischen dem freien Raum und den Gelkugeln wirklich gemäß Gleichung (6.11) vom hydrodynamischen Radius ab. Ebenso lässt sich durch Vernetzung verschieden hoch konzentrierter Polymerlösungen das Trennverhalten des Materials einstellen, da λ proportional zur Polymerkonzentration in der Kugel ist. Will man Säulenmaterialien herstellen, die in einem engen Bereich an Molekülgrößen hervorragend trennen, so muss man die Verteilung der Porengrößen in den Gelkugeln gezielt verändern und zum Beispiel Materialien mit schaumartiger Mikrostruktur verwenden. In der biochemischen Praxis ist GPC ein sehr häufig verwendetes Verfahren, wobei fast ausschließlich Gelkugeln aus mit Epichlorhydrin quervernetztem Dextran (unter dem Namen *Sephadex* im Handel) verwendet werden.

6.8.2

Chemische Reaktionen und Aktivitätskoeffizienten in Lösungen mit geringem freiem Volumen

In der physikalischen Chemie führt man allgemein den Aktivitätskoeffizient γ als Maß für die Abweichung von der idealen Lösung ein, siehe Gleichung (6.6). Er ist definiert durch das chemische Potenzial:

$$\mu_i = \mu_{i,0} + k_B T \ln x_i \gamma_i$$

mit dem Molenbruch x_i der Teilchensorte i . Da jedes chemische Gleichgewicht durch die chemischen Potentiale der beteiligten Spezies bestimmt wird, geht der Aktivitätskoeffizient direkt in jede chemische Reaktion ein und ist somit von großer Wichtigkeit für biologische Systeme. Aus den vorherigen Gleichungen folgt:

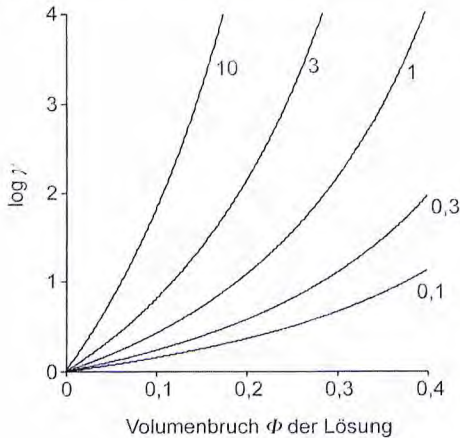


Abb. 6.26 Der Aktivitätskoeffizient einzelner Makromoleküle vor einem inerten Hintergrund an Makromolekülen berechnet aus der Theorie der skalierten Partikel (s. Anhang 6.B). Die Zahlen geben das Verhältnis der Molekulargewichte der betrachteten Teilchen und der Hintergrundteilchen an. In den Rechnungen wurde für alle Teilchen gleiche Dichte angenommen. Beachten Sie die logarithmische Skala.

$$\gamma_i = \exp\left(\frac{W(R_i)}{k_B T}\right) = \frac{V_0}{V_z(R_i)} \quad (6.12)$$

Da in den meisten biologischen Flüssigkeiten die einzelnen Teilchensorten sehr verdünnt in einem See aus anderen Makromolekülen vorkommen, betrachten wir den Aktivitätskoeffizienten eines einzelnen Makromoleküls (Radius R) in einem See aus inerten Makromolekülen (Radius R_m , Volumenbruch Φ).

In Abbildung 6.26 sind die Ergebnisse in einem für biologische Flüssigkeiten realistischen Bereich gezeigt. Beachten Sie, dass die Aktivitätskoeffizienten zum Teil extreme Werte bis zu 10^4 annehmen, obwohl die einzelnen Teilchen sehr verdünnt vorliegen. Dies gilt insbesondere für Moleküle, die größer sind als der Hintergrund, aber auch schon für die Hintergrundmoleküle selbst. Für sehr kleine Teilchen (z. B. Ionen, monomere Zucker etc.) spielt der Effekt hingegen keine Rolle. Für niedermolekulare Substanzen sind die Aktivitätskoeffizienten immer nahe bei eins, ein Beispiel dafür haben wir bei der Debye-Hückel-Theorie (Abb. 6.13) kennengelernt. Die Größe der Aktivitätskoeffizienten ist also bemerkenswert.

In Abschnitt 3.2.9 hatten wir chemische Reaktionen aus thermodynamischer Sicht betrachtet. Dabei hatten wir das Massenwirkungsgesetz hergeleitet, nach dem in einer chemischen Reaktion folgende Bedingung erfüllt sein muss (siehe Gleichung 3.46).

$$\sum_{i=1}^n \mu_i \nu_i = 0$$

ν_i sind die stöchiometrischen Koeffizienten der chemischen Reaktion (positiv bei den Produkten, negativ bei den Ausgangsstoffen bzw. Edukten) und μ_i die chemischen Potentiale der Teilchensorte i . Die Summe läuft über alle an der Reaktion teilnehmenden Molekülsorten. Unter Berücksichtigung der stöchiometrischen Koeffizienten ergibt sich daraus:

$$\prod_{i=1}^n (\gamma_i x_i)^{\nu_i} = \exp\left\{-\sum_{i=1}^n \frac{\mu_i^0 \nu_i}{k_B T}\right\} = \exp\left\{-\frac{\Delta G_0}{k_B T}\right\} = K_0$$

Diese Gleichung ergibt sich aus Gleichung (3.47) durch Hinzufügen der Aktivitätskoeffizienten. In der oberen Gleichung haben wir die Definitionen der Reaktionskonstante K_0 und der Standard-Freien Enthalpie der Reaktion ΔG_0 rekapituliert. Da in Lösungen mit hohem Volumenfüllgrad die jeweiligen Spezies in sehr geringen Konzentrationen vorkommen, wird normalerweise die scheinbare Gleichgewichtskonstante der Reaktion, K_{app} , angegeben. Sie ist definiert durch:

$$K_{app} = \frac{\prod_{\text{Produkte}} x_i^{v_i}}{\prod_{\text{Edukte}} x_j^{v_j}}$$

mit den Molenbrüchen x_i bzw. x_j . Für den Zusammenhang der scheinbaren Gleichgewichtskonstante mit der thermodynamischen Gleichgewichtskonstanten K_0 , die auch in verdünnten Lösungen gemessen werden kann, gilt:

$$K_{app} = \frac{\prod_{\text{Edukte}} \gamma_j^{v_j}}{\prod_{\text{Produkte}} \gamma_i^{v_i}} K_0 = K_0 \Gamma \quad (6.13)$$

In dieser Gleichung haben wir alle Effekte der Aktivitätskonstanten im Faktor Γ zusammengefasst. In gefüllten Lösungen kann die Abweichung vom Verhalten der idealen Mischung die Lage eines chemischen Gleichgewichts sehr stark, sogar um mehrere Größenordnungen, verschieben. Als Beispiel hierfür betrachten wir eine hypothetische Dimerisierungsreaktion, bei der wir annehmen, dass das Produkt ein doppelt so schweres, aber immer noch kugelförmiges Molekül ist. Wieder betrachten wir eine verschwindende Konzentration an reagierenden Molekülen vor einem inerten Hintergrund (Abb. 6.27).

In Lösungen mit geringem freiem Volumen ist Dimerisierung sehr stark bevorzugt. Insbesondere für Moleküle, die größer sind als die meisten Makromoleküle der Lösung, ist der Effekt sehr stark. Insgesamt gilt bei allen Reaktionen in gefüll-

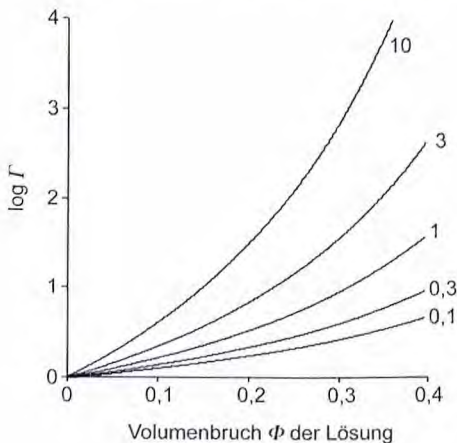


Abb. 6.27 Korrekturfaktor Γ (Gl. 6.13) für eine Dimerisierungsreaktion in Lösungen mit geringem freiem Volumen berechnet aus der Theorie der skalierten Partikel (s. Anhang 6.B). Das reagierende Molekül liegt in verschwindender Konzentration in einer inerten Lösung aus Makromolekülen vor. Die Parameter an den einzelnen Kurven geben die Verhältnisse der Molekulargewichte der reagierenden Teilchen und der Hintergrundmoleküle an. Bitte beachten Sie die logarithmische Skala.

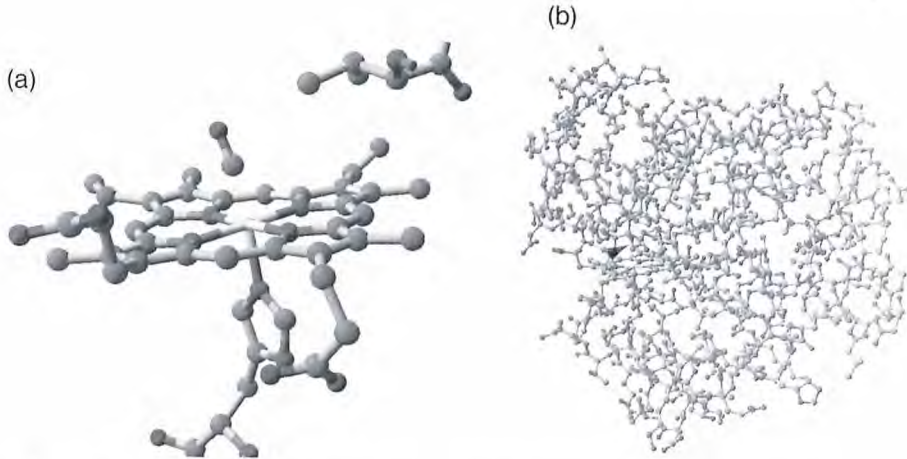


Abb. 7.25 Myoglobin mit gebundenem Kohlenmonoxid CO. (a) Die nähere Umgebung der Häm-Gruppe mit dem zentralen Eisen-Ion. Kohlenmonoxid ist oberhalb der Ebene des Häm-Rings gebunden. Das Eisen-Ion wird von vier Atomen im Häm-Ring, dem Histidin 93 sowie dem Kohlenmonoxid komplexiert. Durch einen starken Lichtblitz kann die

Bindung zwischen CO und Eisen gebrochen werden. Nachfolgend ist das CO-Molekül frei im Myoglobin-Molekül beweglich, bis es zurückbindet. (b) Das gesamte Myoglobin-Molekül. Die Pfeilspitze deutet auf das CO-Molekül. Die Bewegung des freien CO in dieser Struktur ist mit den Fluktuationen der Form gekoppelt. PDB-Datensatz 1A6G.

auch Kapitel 8), enzymatischen Prozessen und vielen anderen Prozessen in Biomolekülen, für die mikroskopische Details der Molekülstruktur wichtig sind. Eine wesentliche Lehre, die aus Molekulardynamik-Simulationen gezogen wurde, ist, dass es „die Konformation“ eines Proteins nicht gibt. Jedes Biomolekül ist dynamisch und fluktuiert stets um seine mittlere Ruhelage. Diese Fluktuationen sind wichtig für fast alle Prozesse, die in Biomakromolekülen ablaufen und an denen sie beteiligt sind.

Hier gehen wir nur auf zwei wichtige, in der Zwischenzeit schon klassische Beispiele ein. Das eine ist die Bewegung von Gasmolekülen in Myoglobin, das andere die enzymatische Reaktion von Alkoholdehydrogenase.

Myoglobin ist ein relativ kleines Protein, das hauptsächlich in Muskeln vorkommt und dort Sauerstoff speichert. Die Speicherung des Sauerstoff-Moleküls erfolgt durch eine so genannte koordinative Bindung des Moleküls an das zweifach geladene Eisen-Ion einer Häm-Gruppe innerhalb von Myoglobin. Das giftige Gas Kohlenmonoxid bindet mit noch höherer Affinität an die Häm-Gruppe (Abb. 7.25). Die Kinetik des Gasaustauschs zwischen Myoglobin und der Umgebung wurde experimentell sehr gut untersucht (s. auch Kapitel 7.3.2), zur Interpretation der Ergebnisse wurden auch Molekulardynamiksimulationen der Bewegung von CO durch die Proteinstruktur durchgeführt. Hierbei wurde gefunden, dass diese Bewegung im Wesentlichen aus „Hüpfprozessen“ zwischen verschiedenen Hohlräumen in der Proteinstruktur besteht. Durch die fortlaufenden Fluktuationen

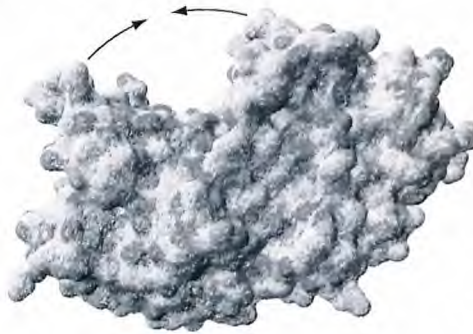


Abb. 7.26 Die Oberfläche der Alkoholdehydrogenase in der offenen Form, auch Apo-Enzym genannt. Die beiden Pfeile symbolisieren die Bewegung der beiden Untereinheiten gegeneinander. PDB-Datensatz 1YE3.

nen der Proteinstruktur fluktuieren auch die Höhen der energetischen Barrieren für den Übergang von einem Hohlraum in einen anderen. Daher sind diese „Hüpfprozesse“ mit der Dynamik des Proteins verknüpft. Insgesamt wird die Dynamik des Gasaustauschs durch die Dynamik des Proteins extrem stark beschleunigt.

Ein zweites Beispiel für die Anwendung der Molekulardynamik ist die Alkoholdehydrogenase. Dieses Enzym besteht aus zwei großen Untereinheiten. Das aktive Zentrum, d. h. die Stelle, an der das Alkoholmolekül gebunden und chemisch umgesetzt wird, befindet sich am Ende des Spaltes, der beide Untereinheiten trennt. Damit der Alkohol sowie der Kofaktor NADH binden können, muss der Spalt weit geöffnet sein. Nach erfolgter Bindung schließt sich der Spalt, so dass die Reaktion unter Wasserausschluss stattfinden kann (Abb. 7.26). Diese Scherenbewegung der beiden Untereinheiten gegeneinander ist also für die Funktion des Enzyms essenziell. Mithilfe von Molekulardynamik-Simulationen wurde berechnet, wie steif diese Struktur gegen die Bewegung der beiden Hälften gegeneinander ist. Das Ergebnis dieser Rechnung war eine Federkonstante von 0,2 N/m.

Interessanterweise zeigt Alkoholdehydrogenase auch eine Limitierung der klassischen Molekulardynamik-Simulationen auf: Bei der enzymatischen Reaktion wird ein Proton vom Alkohol auf den Kofaktor NADH übertragen. Damit wird eine Bindung gebrochen. Das Proton befindet sich also vor und nach der Reaktion in verschiedenen Potenzialen. Dies kann in klassischer Molekulardynamik nicht abgebildet werden. Falls solche Reaktionen simuliert werden sollen müssen so genannte *ab-initio*-Methoden verwendet werden. Hierbei wird für jede Konformation der Kerne die dazugehörige Wellenfunktion für den Grundzustand der Elektronen berechnet. Dies liefert die Energie dieses Mikrozustands. Es wird also kein vordefiniertes Potenzial benutzt, sondern für jede Geometrie die Energie aus quantenmechanischen Prinzipien berechnet. Daher kann hier sehr wohl eine chemische Reaktion simuliert werden. Ein weiterer Vorteil solcher Rechnungen ist, dass auch die Wellenfunktion der Protonen explizit berechnet werden kann. Somit kann auch das Tunneln des Protons als Mechanismus der chemischen Reaktion mitberücksichtigt werden. Das numerische Problem einer *ab initio*-Simulation ist wesentlich aufwendiger zu lösen als das der klassischen Mole-

kularodynamiksimulation. Dies liegt einfach daran, dass eine wesentlich größere Anzahl an Teilchen im Spiel ist. Um trotzdem zu relevanten Simulationsdauern zu gelangen, wurden und werden Hybridmethoden entwickelt, in denen ein aktives Zentrum quantenmechanisch behandelt wird und der Rest des Moleküls mit klassischer Molekulardynamik.

7.3.2

Dynamik von Proteinen bei tiefen Temperaturen

Seit den 70er-Jahren des vergangenen Jahrhunderts wurde das Verhalten von Proteinen bei tiefen Temperaturen untersucht. Hierbei entstand ein stimmiges physikalisches Konzept, das Proteine als Systeme mit vielen Zuständen, die hierarchisch gegliedert sind, beschreibt. Dieses Konzept ist nahe verwandt mit den hier schon besprochenen Prinzipien der Proteinfaltung. Obwohl Experimente an Proteinen bei Temperaturen im Bereich von wenigen Kelvin auf den ersten Blick sehr biologiefremd erscheinen, haben diese eine wichtige Rolle für das heutige physikalische Verständnis der Proteine gespielt.

Insgesamt wurde fast jede Technik der Tieftemperaturforschung auf Proteine angewandt. Die ersten experimentellen Beobachtungen der Proteindynamik gelangen mithilfe der Mößbauerspektroskopie [17]. Dies war ein Durchbruch für das physikalische Verständnis der Proteine. Konzeptuell besonders fruchtbar und zudem gut verständlich waren zeitaufgelöste Messungen der optischen Absorption von Häm-Proteinen. Die Häm-Gruppe besteht aus einem Eisen-Ion, das in einem Porphyrin-Ring gebunden ist (Abb. 7.27).

Das Eisen-Atom in der Häm-Gruppe kann seinen Redoxzustand von zweifach positiv geladen zu dreifach positiv geladen ändern. Daher dient die Häm-Gruppe in Cytochrom-Proteinen dem Elektronentransport. Außerdem kann das Eisen-Atom auch molekularen Sauerstoff binden, was in Myoglobin und Hämoglobin zum Sauerstoff-Transport ausgenutzt wird. Aufgrund ihres ausgedehnten Systems aus Doppelbindungen zeigt die Häm-Gruppe eine starke Absorption von

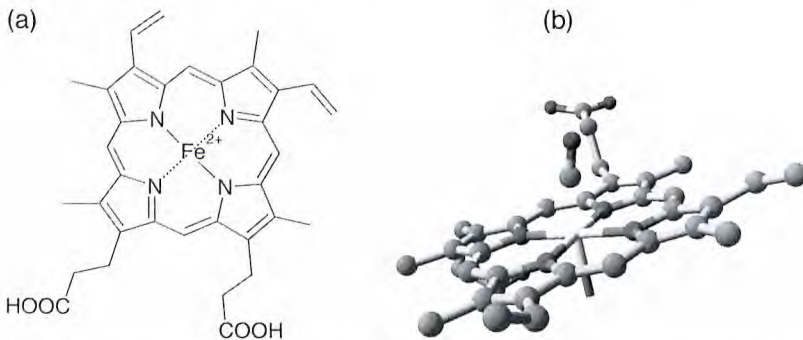


Abb. 7.27 Die Häm-Gruppe. (a) Strukturformel, (b) die dreidimensionale Struktur (PDB-Datensatz 1A6G). Hier ist auch gebundenes Kohlenmonoxid zu sehen. Die fünfte, nach unten ragende Bindung des Eisens führt zu einem Histidin-Rest in der Proteinstruktur.

Licht im blauen Spektralbereich. Die Wellenlänge der Absorption verschiebt sich mit Sauerstoff-Bindung. Derselbe Effekt tritt bei der Bindung von Kohlenmonoxid auf. Kohlenmonoxid bindet sogar noch wesentlich stärker als Sauerstoff, wofür seine Giftigkeit beruht.

Die Verschiebung der Absorptionsbande der Häm-Gruppe aufgrund von Kohlenmonoxid-Bindung wurde in unzähligen Experimenten zur Dynamik von Proteinen ausgenutzt, da optische Absorption berührungsfrei, rauscharm und mit sehr hoher Zeitauflösung gemessen werden kann. In einem typischen Experiment wird ein Häm-Protein, meist Myoglobin oder Hämoglobin, mit Kohlenmonoxid beladen, die Probe eingetrocknet und auf eine tiefe Temperatur abgekühlt. Danach wird das Kohlenmonoxid durch einen intensiven Lichtpuls bei der Wellenlänge der maximalen Absorption angeregt. Aufgrund der hohen Anregungsenergie bricht die Bindung zwischen Eisen und Kohlenmonoxid, und das Gasmolekül beginnt eine Zufallsbewegung durch das Innere des Proteins. Mit Kohlenmonoxid beladenes Myoglobin absorbiert stark bei 423 nm, reines Myoglobin bei 434 nm. Daher ist direkt nach der Anregung der Häm-Gruppe die Absorption bei 434 nm hoch und sinkt während des Rückbindens des Kohlenmonoxids ab. Wird die Absorption eines schwachen Lichtstrahls bei 434 nm gemessen, so kann aus dieser Absorption direkt der Zeitverlauf des Rückbindens des Kohlenmonoxids bestimmt werden. In diesen Experimenten wird der Verlauf einer einfachen chemischen Reaktion verfolgt. Man erwartet also folgende einfache Reaktionskinetik:

$$\frac{dN}{dt} = -k_a N$$

wobei N für die Zahl der nicht an Kohlenmonoxid gebundenen Eisen-Atomen steht, k_a die Assoziationsrate symbolisiert und zum Zeitpunkt Null N_0 nicht gebundene Eisen-Atome vorliegen. Die Lösung dieser Gleichung ist:

$$N(t) = N_0 \exp\{-k_a t\}$$

Die Assoziationsrate sollte aufgrund der allgemeinen Gesetze der Reaktionskinetik (Gl. 7.2 und 7.6) gemäß

$$k_a(T) = \nu \exp\left\{-\frac{E_a}{k_B T}\right\}$$

von der Temperatur abhängen. Hier steht E_a für die Freie Enthalpie der Anregung und ν für eine generelle Versuchsfrequenz (s. Gl. 7.2 und 7.6). Die experimentellen Ergebnisse bei tiefen Temperaturen (unterhalb von 180 K) widersprechen diesen Erwartungen allerdings fundamental (Abb. 7.28). Die Rückbindungskinetik weicht weit von einem exponentiellen Verhalten ab. Rückbindung erfolgt simultan mit vielen Ratenkonstanten, die einen weiten Bereich abdecken. Bei höheren Temperaturen kann das Gasmolekül aus dem Protein entweichen. Die Messergebnisse in diesem Temperaturbereich können durch das Vorhandensein von vier verschiedenen Minima entlang der Reaktionskoordinate von der Häm-Gruppe zur Umgebung erklärt werden.

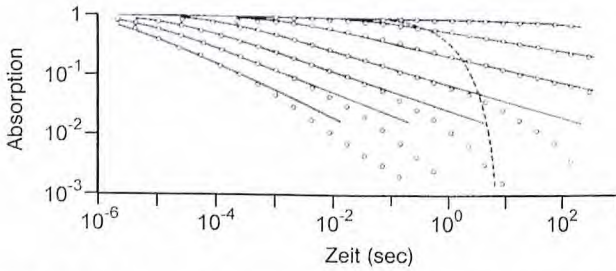


Abb. 7.28 Messung der Rückbindungskinetik von Kohlenmonoxid an Myoglobin. Die Kurven wurden von oben nach unten bei folgenden Temperaturen gemessen 40 K, 60 K, 80 K, 100 K, 120 K, 140 K und 160 K. Die gestrichelte Kurve zeigt den Verlauf einer exponentiellen Kurve in einer doppelt logarithmischen Darstellung. (Verändert aus [18].)

Für kinetische Ensemblemessungen, die mehrere Raten liefern, gibt es prinzipiell zwei alternative Interpretationen. Alle Proteinmoleküle in der Probe können sich gleich, aber nicht exponentiell, verhalten oder aber jedes einzelne Molekül reagiert zwar exponentiell, aber mit verschiedener Rate. Die letztere Alternative nennt man Populationsinhomogenität. Wiederholt man die anregenden Lichtpulse mit einer Periode, die kürzer ist als die längste Relaxationszeit (in Abbildung 7.28 also z. B. alle 10 Sekunden), so kann man zwischen diesen beiden Möglichkeiten unterscheiden. Bei Populationsinhomogenität sind die „langsamen“ Moleküle beim nächsten Lichtblitz noch nicht wieder in der Lage, Licht zu absorbieren und nehmen nicht mehr an der Reaktion teil. Also erwartet man hier, dass nach wenigen Blitzen die Relaxation nach jedem weiteren Blitz identisch verläuft. Im alternativen Fall würde nach jedem Blitz jedes angeregte Molekül mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit in die sehr langsame Kinetik überwechseln und würde für den nächsten Blitz ausfallen. Die Wahrscheinlichkeit dieses Überwechselns in den langsamen Relaxationsweg wäre bei jedem Blitz identisch. Hier erwartet man also eine von Blitz zu Blitz kontinuierlich abnehmende Amplitude der Relaxation. Experimentell findet man bei tiefen Temperaturen eindeutig eine Populationsinhomogenität. Jedes einzelne Molekül reagiert also mit seiner eigenen Rate.

Die Rückbindungskurve ergibt sich also als Summation über jede einzelne Population

$$\frac{N(t)}{N_0} = \sum_i a_i \exp\{-k_i t\} = \sum_i a_i \exp\left\{-t v_i \exp\left(-\frac{E_i}{k_B T}\right)\right\}$$

wobei a_i den relativen Anteil der Moleküle mit der Reaktionsrate k_i angibt. Jede Population besitzt ihre eigene Freie Enthalpie der Aktivierung und im Prinzip auch eine eigene Versuchsfrequenz. In der Praxis zeigt sich jedoch, dass die Versuchsfrequenz als konstant gewählt werden kann. Experimentell gibt es zu viele nahe liegende Relaxationsraten, als dass deren Beiträge getrennt werden könnten. Deswegen ist es besser, die obere Summe als kontinuierliches Integral zu schreiben und eine Zustandsdichte $g(E)$ einzuführen.

$$\frac{N(t)}{N_0} = \int_0^{\infty} g(E) \exp\{-k(E)t\} dE$$

Die kinetischen Messdaten bei vielen Temperaturen können mit einer einzigen Zustandsdichtefunktion beschrieben werden. Diese weist ein einziges breites Maximum bei ungefähr 10 kJ/mol auf.

Was bedeuten diese Ergebnisse für die Dynamik von Myoglobin? Nachdem das Kohlenmonoxid- oder Sauerstoff-Molekül durch den Lichtblitz von der Häm-Gruppe getrennt wurde, bewegt es sich innerhalb des Proteins. Dabei wechselwirkt es mit den molekularen Gruppen der Aminosäuren im Inneren. Da das Innere von Proteinen sehr dicht gepackt ist, bleibt das Gasmolekül im Wesentlichen in kleinen Hohlräumen im Inneren der Proteinstruktur gefangen, bis Fluktuationen der Proteinkonformation Verbindungen zwischen einzelnen Hohlräumen öffnen. Dieser Mechanismus wurde im Zusammenhang mit Molekulardynamik-Simulationen bereits besprochen. Unterhalb von ungefähr 180 Kelvin ist die Dynamik des Myoglobins so stark eingefroren, dass eine Bewegung langer Reichweite des Gasmoleküls nicht mehr möglich ist. Stattdessen bleibt das Gasmolekül in einem Hohlraum, der auch mit der Häm-Gruppe verbunden ist, gefangen (Abb. 7.29). Die Rate der Rückbindung an die Häm-Gruppe hängt stark von der Geometrie dieses Hohlraums ab. So kann zum Beispiel eine chemische Gruppe des Proteins etwas näher an das Eisen-Atom der Häm-Gruppe rücken und so Bindungsenergie und Zugänglichkeit der Bindungsstelle deutlich reduzieren. Ein anderer Faktor ist die Verfügbarkeit von chemischen Gruppen, an die das Gasmolekül vorübergehend binden kann, was die Rückbindung verlangsamt.

Natürlich ist dieser Hohlraum, in dem das Gasmolekül gefangen ist, keinesfalls starr. Seine Form und chemische Beschaffenheit schwankt aufgrund der Konformationsfluktuationen des Proteins. Allerdings können diese Fluktuationen bei tieferen Temperaturen höhere Energiebarrieren nicht mehr überwinden, sodass die Konformation eines bestimmten Proteins nach Abkühlung in einem lokalen Minimum der Freien Enthalpie gefangen ist. Jedes dieser Minima entspricht einer bestimmten Geometrie und somit einer bestimmten Rückbindungsrate. Bei weiter sinkender Temperatur frieren immer mehr Bewegungsmoden aus, sodass ein Protein immer mehr auf einzelne lokale Minima in seiner Fluktuation beschränkt ist (Abb. 7.30). Je nach lokaler Geometrie um die Häm-Gruppe



Abb. 7.29 Schematische Darstellung des Myoglobins (grau) mit der Häm-Gruppe (schwarzer Balken) und dem zentralen Eisen-Atom sowie einem Kohlenmonoxid-Molekül (Doppelkugel). Nach dem Bruch der Bindung zwischen Eisen und Kohlenmonoxid ist das CO bei tiefen Temperaturen im Inneren des Moleküls gefangen und führt eine Zufallsbewegung innerhalb des zugänglichen Volumens (weiße Fläche) aus. Dieses Volumen fluktuiert mit der Proteinkonformation. Außerdem gibt es sekundäre schwache Bindungsstellen für Kohlenmonoxid in dieser Struktur.

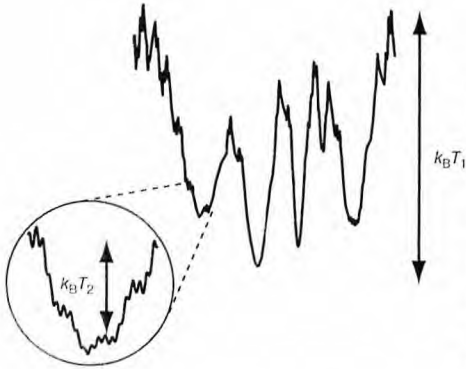


Abb. 7.30 Schematische Darstellung der Potenziellandschaft des Myoglobins. Bei hohen Temperaturen (T_1) können auch größere Barrieren überwunden werden, während bei tiefen Temperaturen (T_2) das Molekül in den Potenzialtälern effektiv gefangen ist. Bei noch weiterer Absenkung der Temperatur wird der Bereich des Phasenraums, den ein gegebenes Protein durch thermische Fluktuationen erreichen kann, immer kleiner.

ist die Rückbindungsrate für die verschiedenen lokalen Minima verschieden. Beachten Sie, dass die oben definierte Zustandsdichte $g(E)$ die Häufigkeit von energetischen Barrieren für die Rückbindung des Kohlenmonoxids angibt. Es wird also die Wahrscheinlichkeit, entlang des Reaktionspfads des Gasmoleküls eine Aktivierungsenergie von E zu finden, gemessen. Im Gegensatz dazu bestimmt die Freie Enthalpie der Proteinkonformationen, welche Geometrie das Protein einnehmen kann. Dies bestimmt zwar die Verteilung der energetischen Barrieren, die Energielandschaft entlang des Reaktionspfads des Gasmoleküls und die Energielandschaft im Konformationsraum des Proteins sind aber trotzdem zwei getrennte Konzepte.

Durch eine Vielzahl anderer spektroskopischer Methoden wurde dieses Bild im Wesentlichen bestätigt. Insbesondere stellte sich dabei heraus, dass es eine Hierarchie an Protein-Subzuständen gibt. Mit dem Begriff „Subzustand“ ist jeweils ein Zustand des Proteins in einem lokalen Minimum der Freien Enthalpie im Konformationsraum gemeint. Mit absinkender Temperatur werden die Bereiche des Phasenraums, die ein gegebenes Protein durch thermische Fluktuationen erreichen kann, immer kleiner. Dabei zerfällt ein bei einer höheren Temperatur zusammenhängendes Gebiet (also ein Subzustand) in viele kleinere Subzustände, man könnte auch Sub-Subzustände sagen. Die Situation ist nahe verwandt zur Proteinfaltung. Dort mussten wir sehr genau zwischen Mikro- und Makrozuständen vergleichen. Ein Mikrozustand ist genau ein Punkt im Phasenraum, ein Makrozustand dahingegen das gesamte Einzugsgebiet eines lokalen Minimums. Bei sinkender Temperatur verringern sich die Einzugsgebiete, die Makrozustände werden also immer mehr eingeschränkt und immer genauer definiert. Aufgrund der hohen Dimensionalität des Phasenraums spaltet ein Makrozustand wesentlich wahrscheinlicher in mehrere kleinere Zustände auf, als man dies in unserer Vorstellung naheliegenden dreidimensionalen Raum erwarten würde. In Experimenten bei verschiedenen Temperaturen konnte man vier verschiedene Hierarchie-Ebenen der Subzustände unterscheiden. Für Myoglobin liegen auf der höchsten Hierarchie-Ebene vier Subzustände vor. Wie groß die Zahl der Zustände auf den darunterliegenden Hierarchie-Ebenen ist, ist nicht klar. Die oben beschriebenen transienten Absorptionsmessungen deuten auf ein Kontinuum an Zustän-

den hin, während hochauflösende spektroskopische Messungen eher kleinere Zahlen an Zuständen wahrscheinlich machen.

Durch die hierarchische Energielandschaft und die Tatsache, dass unterhalb einer gewissen Temperatur nicht mehr der gesamte Phasenraum zugänglich ist, sind Proteine mit physikalischen Gläsern verwandt. Allerdings gibt es auch deutliche Unterschiede. Die meisten Proteine können bei höheren Temperaturen eine definierte Geometrie einnehmen bevor sie durch Denaturierung in einen quasi-flüssigen Zustand übergehen (Abschnitt 7.1), während Gläser bei höheren Temperaturen direkt in eine flüssige Schmelze übergehen.

Anhang 7.A

Genauere Betrachtung der Theorie des Übergangszustands

In diesem Anhang werden wir die Ergebnisse der Theorie des Übergangszustands herleiten. Zur Erinnerung sind hier noch einmal die Grundannahmen der Theorie aufgeführt:

1. Systeme, die den Sattelpunkt (= Übergangszustand) überschritten haben, werden immer das Minimum erreichen. Wir nehmen also an, dass eine Trajektorie im Phasenraum jenseits des Sattelpunkts nicht „umkehren“ kann (Abb. 7.A.1).
2. Im Übergangszustand kann die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate als klassische Translation beschrieben werden und von allen anderen Koordinaten separiert werden.

Aufgrund der Annahme 1. sind diejenigen Systeme, die den Übergangszustand produktiv überqueren auch im thermischen Gleichgewicht. Dies kann in einem Gedankenexperiment bewiesen werden.

In einem System mit thermisch getriebenen Übergängen sind nach langer Zeit Reaktanten, Produkte sowie alle Trajektorien im thermischen Gleichgewicht. Insbesondere auch alle nach rechts, zu den Produkten, führenden Trajektorien. Entfernen wir jetzt zu einem beliebigen Zeitpunkt sämtliche Produktmoleküle, verschwinden alle nach links (zu den Reaktanten) führenden Trajektorien. Allerdings verschwindet keine einzige nach rechts führende Trajektorie, da diese nicht umkehren dürfen (Annahme 1). Daher sind unter dieser Annahme sämtliche nach rechts über den Sattelpunkt führenden Trajektorien zu allen Zeiten im thermischen Gleichgewicht. Die Theorie des Übergangszustands wird auch oft *Theorie des aktivierten Komplexes* genannt, da ein solcher Komplex oft verwendet wird, um das thermische Gleichgewicht am Sattelpunkt zu motivieren. Dies ist jedoch irreführend. Das thermische Gleichgewicht am Sattelpunkt entsteht nicht aufgrund eines metastabilen Komplexes an dieser Stelle, sondern alleine aufgrund der Annahme, dass die Überquerung des Sattelpunkts irreversibel ist.

Zur einfachen Herleitung der Reaktionsrate legen wir um den Sattelpunkt zwei trennende Oberflächen senkrecht zum Reaktionspfad. Wegen der Stetigkeit der Freien Enthalpie gibt es ein kleines Intervall δ , innerhalb dessen alle Zustände dem Übergangszustand gleichen (Abb. 7.A.1). Die Breite des Intervalls δ spielt

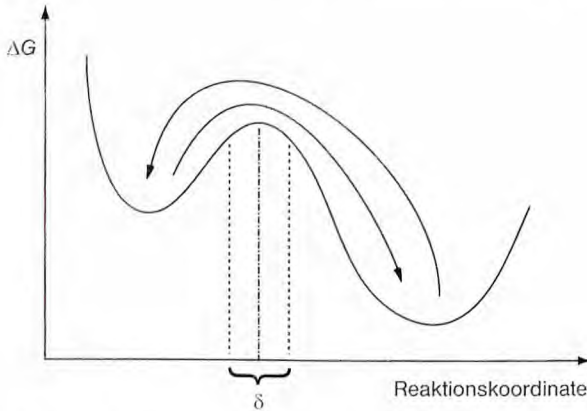


Abb. 7.A.1 Trajektorien, die über den Übergangszustand führen, dürfen nach Annahme 1 nicht umkehren. Die strichpunktierte Linie markiert den Übergangszustand. Alle Zustände innerhalb des Intervalls δ werden für die Herleitung als Teil des Übergangszustands betrachtet.

keine Rolle, sie ist nur eine Hilfsgröße für die Herleitung. Alle Punkte im Phasenraum links von $-\delta/2$ werden als Reaktanten, alle rechts von $\delta/2$ als Produkte und alle innerhalb des Intervalls von $-\delta/2$ bis $\delta/2$ als Übergangszustände betrachtet. Da eine Trajektorie innerhalb des Intervalls δ nicht ihre Richtung ändern darf, können wir folgende Größen definieren:

- N_+^\ddagger , die Konzentration der Übergangszustände, die sich zu den Produkten bewegen (vorwärts),
- N_-^\ddagger , die Konzentration der Übergangszustände, die sich zu den Reaktanten bewegen (rückwärts).

Die Gesamtkonzentration der Teilchen am Übergangszustand ist gegeben durch N_g^\ddagger mit

$$N_g^\ddagger = N_+^\ddagger + N_-^\ddagger = k^\ddagger [A]$$

wobei k^\ddagger die Gleichgewichtskonstante der unimolekularen Reaktion $A \rightarrow X^\ddagger$ ist. Da keine Trajektorie innerhalb von δ die Richtung wechseln kann, gilt im Gleichgewicht, in dem der Nettofluss verschwinden muss:

$$N_+^\ddagger = N_-^\ddagger = \frac{1}{2} N_g^\ddagger$$

Daher gilt

$$N_+^\ddagger = \frac{1}{2} k^\ddagger [A]$$

Wir kennen somit die Konzentration der zu den Produkten reagierenden Zustände. Die Rate der Reaktion ist gegeben durch

$$\frac{dN}{dt} = \frac{\text{Zahl der reagierenden Teilchen}}{\text{Volumen} \cdot \text{Zeit}} = N^{\ddagger} \frac{\bar{v}}{\delta} \quad (7.26)$$

wobei \bar{v} für die mittlere thermische Geschwindigkeit entlang der Reaktionskoordinate im Sattelpunkt steht. Es gilt:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{1}{2} k^{\ddagger} [A] \frac{\bar{v}}{\delta} \quad (7.27)$$

Zur Berechnung der Lage eines chemischen Gleichgewichts benötigen wir das chemische Potenzial jedes Moleküls. Normalerweise laufen chemische Reaktionen unter konstantem Druck und bei konstanter Temperatur ab. Daher müssten wir die chemischen Potentiale aus der Freien Enthalpie berechnen. Da aber bei Reaktionen in kondensierten Phasen die Kompressibilität des Systems sehr gering ist, kann näherungsweise auch die Freie Energie benutzt werden. Allerdings gilt diese Gleichgewichtskonstante dann streng genommen für den Fall konstanten Volumens und Drucks.

$$\mu_j(N_j, V, T) = \left. \frac{\partial F}{\partial N_j} \right|_{V, T} = - \frac{\partial k_B T \ln Z}{\partial N_j}$$

In Gemischen mehrerer Komponenten lässt sich die Zustandssumme in guter Näherung angeben als:

$$Z = \prod_i \frac{Z_i^{N_i}}{N_i!}$$

wobei i über alle Komponenten des Gemischs läuft, N_i deren Teilchenzahl angibt und Z_i die Einteilchen-Zustandssumme eines Teilchens der Sorte i ist. Diese Einteilchen-Zustandssummen beinhalten auch die Wechselwirkung zum Lösungsmittel. Normalerweise bezieht man in der Berechnung der Zustandssumme alle Energien auf den Grundzustand dieses Moleküls. Da wir hier aber verschiedene Moleküle vergleichen, müssen wir die Verschiebung dieser Energieniveaus explizit betrachten, indem wir die Energieniveaus jeder Spezies um E_j , den energetischen Abstand zum energetisch am tiefsten liegenden Molekül, anheben. Der daraus entstehende Faktor $\exp(-E_j/k_B T)$ kommt in jedem Term der jeweiligen Einteilchen-Zustandssumme vor und kann daher ausgeklammert werden. Insgesamt ergibt sich daher:

$$\mu_j = - k_B T \ln \left(\frac{Z_j \exp\left\{-\frac{E_j}{k_B T}\right\}}{N_j} \right)$$

Aus der allgemeinen Bedingung für die chemischen Potentiale in einer Reaktion (s. Gl. 3.46) folgt in diesem einfachen Fall:

$$\mu_A = \mu_{\ddagger}$$

woraus sofort folgt:

$$k_{\ddagger} = \frac{N_{\ddagger}}{N_A} = \frac{x_{\ddagger}}{x_A} = \frac{Z_{\ddagger}}{Z_A} \exp\left\{-\frac{E_0}{k_B T}\right\}$$

In dieser Gleichung gibt E_0 an, um welchen Betrag der Übergangszustand energetisch gegen den Grundzustand angehoben ist.

Zur weiteren Bearbeitung von Gleichung (7.27) benötigen wir die mittleren Geschwindigkeiten und Näherungen für die Zustandssummen. Für die Berechnung der mittleren Geschwindigkeit im Übergangszustand benutzen wir die zweite Annahme der Theorie des Übergangszustands, die besagt, dass im Übergangszustand die Bewegung entlang der Reaktionskoordinate klassisch verläuft und von allen anderen Koordinaten separiert werden kann. Daher lautet die Energie für diese Bewegung:

$$E = \frac{m_r}{2} v^2$$

In dieser Gleichung bezeichnet m_r die reduzierte Masse für diese Bewegung. Der thermische Mittelwert der Geschwindigkeit, mit der der Übergangszustand überschritten wird, beträgt:

$$\bar{v} = \frac{\int_0^{\infty} v \exp\left\{-\frac{m_r v^2}{2k_B T}\right\} dv}{\int_0^{\infty} \exp\left\{-\frac{m_r v^2}{2k_B T}\right\} dv} = \sqrt{\frac{2k_B T}{\pi m_r}}$$

Da keine Trajektorie innerhalb des Intervalls δ um den Übergangszustand die Richtung wechselt, läuft in den oberen Integralen die Integrationsvariable nur über positive Werte, d. h. von 0 bis ∞ . Ebenso kann die Energie des Moleküls im Übergangszustand als

$$E = \frac{m_r}{2} v^2 + E(\text{alle anderen Koordinaten})$$

in Beiträge entlang des Reaktionspfads und in solche senkrecht dazu getrennt werden. Damit ergibt sich für das Zustandsintegral:

$$Z_{\ddagger} = Z_{\text{RK}} Z_{\ddagger^*}$$

wobei Z_{RK} das Zustandsintegral entlang des Reaktionspfads ist und Z_{\ddagger^*} dasjenige für alle Koordinaten senkrecht zum Reaktionspfad.

$$Z_{\text{RK}} = \frac{1}{h} \int dx \int dp \exp\left\{-\frac{p^2}{2m_r k_B T}\right\}$$

Da der Übergangszustand auf das Intervall δ beschränkt ist, läuft das Ortsintervall nur von $-\delta/2$ bis $+\delta/2$, während das Impulsintegral über alle möglichen Werte verläuft. Es ergibt sich:

$$Z_{\text{RK}} = \frac{\delta}{h} \sqrt{2\pi m_r k_B T}$$

Somit kann Gleichung (7.27) umgeformt werden zu:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{k_B T}{h} \frac{Z_s}{Z_A} \exp\left\{-\frac{E_0}{k_B T}\right\} [A]$$

Die gesuchte Rate, mit der ein einzelnes Molekül die Barriere thermisch getrieben überquert, beträgt also:

$$k = \frac{k_B T}{h} \frac{Z_s}{Z_A} \exp\left\{-\frac{E_0}{k_B T}\right\}$$

Dies ist Gleichung (7.2)

Anhang 7.B

Ergänzung zur Kramersschen Theorie der Reaktionsrate

Hier wird die explizite Herleitung von Gleichung (7.5) präsentiert. Im Folgenden bezieht sich die Bezeichnung der Punkte auf Abbildung 7.5.

Für die stationäre Lösung der Smoluchowski-Gleichung ist der Fluss $j(r)$ an allen Stellen zwischen A und B gleich. Wir werden diesen im Folgenden einfach mit j_0 bezeichnen. Aus Gleichung (7.4) ergibt sich folgende Beziehung für den stationären Fluss:

$$j_0 = -\frac{x}{\gamma} \frac{\partial G}{\partial r} - \frac{k_B T}{\gamma} \frac{\partial x}{\partial r}$$

Mit der Substitution

$$x = \gamma \cdot \exp\left\{-\frac{G(r)}{k_B T}\right\}$$

folgt:

$$j_0 = -\frac{k_B T}{\gamma} \exp\left\{\frac{G(r)}{k_B T}\right\} \frac{\partial \gamma}{\partial r}$$

Setzen wir dies alles in Gleichung (7.4) ein, so erhalten wir:

$$\frac{\partial \gamma}{\partial r} = -\frac{j_0 \gamma}{k_B T} \exp\left\{\frac{G(r)}{k_B T}\right\}$$

Diese Gleichung wird nun vom Ausgangspunkt A bis zum Endpunkt B integriert. Es ergibt sich:

$$\gamma(B) - \gamma(A) = -\frac{j_0 \gamma}{k_B T} \int_A^B \exp\left\{\frac{G(r)}{k_B T}\right\} dr$$

Dieser Ausdruck verknüpft die bekannten Konzentrationen bei B und A mit dem Fluss. Wählen wir willkürlich $G(A)$ als Nullpunkt der Energieskala, d. h. $G(A) = 0$, und setzen wir die bekannten Werte der Konzentration ein, so gilt:

$$0 - \frac{1}{\int_A \exp\left\{-\frac{G(r)}{k_B T}\right\} dr} = -\frac{j_0 Y}{k_B T} \int_A^B \exp\left\{\frac{G(r)}{k_B T}\right\} dr$$

Daraus erhalten wir ein explizites Ergebnis für die Reaktionsrate, d. h. den Fluss:

$$j_0 = \frac{k_B T}{Y} \frac{1}{\int_A \exp\left\{-\frac{G(r)}{k_B T}\right\} dr} \frac{1}{\int_A^B \exp\left\{\frac{G(r)}{k_B T}\right\} dr}$$

Dies ist Gleichung (7.5).

Anhang 7.C

Der Verlet-Algorithmus zur Integration der Zeitschritte in klassischen Molekulardynamik-Simulationen

Im Verlet-Algorithmus erfolgt der Schritt vom Zeitpunkt t zum Zeitpunkt $t + \delta t$ nach folgenden Regeln:

$$r(t + \delta t) = r(t) + v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2$$

$$v(t + \delta t) = v(t) + \frac{1}{2}\delta t(a(t) + a(t + \delta t))$$

Hierbei steht v für die Geschwindigkeit des Teilchens und a für die wirkende Beschleunigung. Diese ist aus den Koordinaten zum jeweiligen Zeitpunkt berechenbar. Im Prinzip kann man den oberen Algorithmus so ausführen, dass man zuerst den Schritt in den Koordinaten ausführt und dann den in den Geschwindigkeiten. Leider benötigt man dazu die Beschleunigungen und damit auch sämtliche Koordinaten zu beiden Zeitpunkten. Aufgrund der großen Anzahl an Koordinaten ist dieses numerisch ineffizient. Stattdessen teilt man den Geschwindigkeitsschritt in zwei Teilschritte auf. Der erste Teilschritt

$$v(t + \delta t/2) = v(t) + \frac{1}{2}\delta t a(t)$$

benutzt nur Koordinaten zum Zeitpunkt t . Nach seiner Ausführung können alle Ortskoordinaten zum Zeitpunkt t durch diejenigen des Zeitpunkts $t + \delta t$ ersetzt werden. Dann wird der letzte Schritt

$$v(t + \delta t) = v(t + \delta t/2) + \frac{1}{2}\delta t a(t + \delta t)$$

ausgeführt und auch die Geschwindigkeiten für diesen neuen Zeitpunkt berechnet. Ein Integrationsschritt des Verlet-Algorithmus besteht also aus der Abfolge: erste Hälfte des Geschwindigkeitsschritts, Ortsschritt, zweite Hälfte des Geschwindigkeitsschritts. Da die Geschwindigkeiten in den Potenzialen nicht vor-

kommen, ist bei diesem Algorithmus jeweils nur ein Speicherplatz für Geschwindigkeit und Ort notwendig.

7.4

Literatur

- 1 Kramers H.A. (1949) Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions. *Physica*, **7**, 284–304.
- 2 Levinthal, C. (1968) Are there pathways for protein folding? *Journal de chimie physique et de physico-chimie biologique*, **65**, 44–45.
- 3 Hamada, D., Segawa, S.-I., Goto Y. (1996) Non-native α -helical intermediate in the refolding of β -lactoglobulin, a predominantly β -sheet protein. *Nature Structural Biology*, **3**, 868–873.
- 4 Doty, P., Yang J.T. (1956) Polypeptides. VII. Poly- γ -benzyl-L-glutamate: the helix-coil transition in solution. *Journal of the American Chemical Society*, **78**, 498–499.
- 5 Zimm, B.H., Bragg J.K. (1959) Theory of the phase transition between helix and random coil in polypeptide chains. *Journal of Chemical Physics*, **313**, 526–535.
- 6 Applequist, J. (1963) On the helix-coil equilibrium in polypeptides. *Journal of Chemical Physics*, **38**, 934–941.
- 7 Stevens, C. L., Felsenfeld, G. (1964) The conversion of two-stranded poly (A+U) to three-strand poly (A+2U) and poly A by heat. *Biopolymers*, **2**, 293–314.
- 8 Lazurkin, Y. S., Frank-Kamenetskij, M. D., Trifonov, E. N. (1970) Melting of DNA: its study and application as a research method. *Biopolymers*, **9**, 1253–1306.
- 9 SantaLucia, J., Hicks, D. (2004) The thermodynamics of DNA structural motifs. *Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure*, **33**, 415–440.
- 10 Marmur, J., Doty, P. (1959) Heterogeneity in deoxyribonucleic acids. I. Dependence on composition of the configurational stability of deoxyribonucleic acids. *Nature*, **183**, 1427–1429.
- 11 Subirana, J. A., Doty, P. (1966) Kinetics of renaturation of denatured DNA. I. spectrophotometric results. *Biopolymers*, **4**, 171–187.
- 12 Cantor, C.R., Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry, Part III*, Freeman, New York.
- 13 Hill R. (1936) Oxygen dissociation curves of muscle haemoglobin. *Proceedings of the Royal Society London, Series B*, **120**, 472–483.
- 14 Monod, J., Wyman, J., Changeux, J.-P. (1965) On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *Journal of Molecular Biology*, **12**, 88–118.
- 15 Perutz M. F. (1970) Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. *Nature*, **228**, 726–734.
- 16 Perutz, M. F. Wilkinson, A. J., Paoli, M., Dodson G.G. (1998) The stereochemical mechanism of the cooperative effects in hemoglobin revisited. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, **27**, 1–34.
- 17 Parak, F., Knapp, E. W., Kucheida, D. (1982) Protein dynamics Mössbauer spectroscopy on deoxymyoglobin crystals. *Journal of Molecular Biology*, **161**, 177–194.
- 18 Austin, R. H., Beeson, K. W., Eisenstein, L., Frauenfelder, H., Grunsalus, J. C. (1975) Dynamics of ligand binding to myoglobin. *Biochemistry*, **14**, 5355–5373.

7.5

Weiterführende Literatur

Thermisch getriebene Umwandlungen

- Steinfeld, J.I., Francisco, J.S., Hax, W.L. (1998) Chemical Kinetics and Dynamics, 2nd ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. Dieses Buch enthält eine sehr klare Behandlung der Theorie des aktivierten Zustands.
- Kramers H.A. (1949) Brownian motion in a field of force and the diffusion model of chemical reactions. *Physica*, **7**, 284–304. In dieser auch heute noch lesenswerten Arbeit stellte H. Kramers die nach ihm benannte Theorie der Reaktionsrate vor.
- Hänggi, P., Talkner, P., Borkovec, M. (1990) Reaction-rate theory: fifty years after Kramers, *Reviews of Modern Physics*, **62**, 251–341. Ein umfassender Übersichtsartikel über die möglichen Weiterentwicklungen der Kramers-Theorie.
- Schwabl, F. (2006) Statistische Mechanik, Springer Verlag Berlin. Dieses Buch enthält eine klare Behandlung der Kramers-Gleichung im Rahmen der statischen Mechanik.
- Risken H. (1996) The Fokker-Planck-Equation: methods of solution and applications, Springer Verlag, Berlin. Dieses Lehrbuch beschreibt die Kramers-Theorie und die umfassendere Fokker-Planck-Gleichung sehr klar.

Proteinfaltung durch nicht-lokale Wechselwirkungen

- Die ersten drei Arbeiten beschreiben die Rolle von nicht-lokalen Wechselwirkungen in der Proteinfaltung sehr klar und umfassend. Die folgenden Artikel sind speziellen Themen der Proteinfaltung gewidmet.
- Dill, K.A. (1999) Polymer principles and protein folding. *Protein Science*, **8**, 1166–1180.
- Tsai, C.J., Kumar, S., Ma, B., Nussinov R. (1999) Folding funnels, binding funnels, and protein function. *Protein Science*, **8**, 1181–1190.
- Bryngelson, J.D., Onuchic, J.N., Socci, N.D., Wolynes P.G. (1995) Funnels, pathways, and the energy landscape of protein folding: a synthesis. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, **21**, 167–195.
- Hamada, D., Segawa, S.-I., Goto Y. (1996) Non-native α -helical intermediate in the refolding of β -lactoglobulin, a predominantly β -sheet protein. *Nature Structural Biology*, **3**, 868–873.
- Dyson, H.J., Wright P.E. (2005) Intrinsically unstructured proteins and their functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **6** 197–208.
- Anderson, D.E., Peters, R.J., Wilk, B., Agard D.A. (1999) Alpha-lytic protease precursor: Characterization of a structured folding intermediate. *Biochemistry*, **38**, 4728–4735.
- Chiti, F., Dobson C.M. (2006) Protein misfolding, functional amyloid, and human disease. *Annual Review of Biochemistry*, **75** (2006) 333–366.

Sekundärstrukturen, Faltung durch lokale Wechselwirkungen

- Creighton T.E. (1993) Proteins. Structures and molecular properties, Freeman, New York. In diesem Buch sind die verschiedenen Sekundärstrukturen sehr klar beschrieben. In den folgenden beiden Lehrbüchern findet sich die Thermodynamik der Helix-Knäuel-Umwandlung und der Umwandlungen der DNA in sehr klarer Weise.
- van Holde, K.E., Johnson, W.C., Ho, P. S. (2006) Principles of Physical Biochemistry, Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Cantor, C.R., Schimmel, P.R. (1980) Biophysical Chemistry, Part III, Freeman, New York. Die folgenden drei Originalarbeiten waren wesentliche Schritte bei der Beschreibung der Helix-Knäuel-Umwandlung von Polypeptiden. Sie sind auch heute noch lesenswert.
- Doty, P., Yang, J.T. (1956) Polypeptides. VII. Poly- γ -benzyl-L-glutamate: the helix-coil transition in solution. *Journal of the American Chemical Society*, **78**, 498–499.
- Zimm, B.H., Bragg, J.K. (1959) Theory of the phase transition between helix and random coil in polypeptide chains. *Journal of Chemical Physics*, **31**, 526–535.

Applequist, J. (1963) On the helix-coil equilibrium in polypeptides. *Journal of Chemical Physics*, **38**, 934–941.

In den folgenden, auch heute noch lesenswerten Arbeiten wird die allosterische Bindung von Sauerstoff durch Hämoglobin beschrieben

Hill R. (1936) Oxygen dissociation curves of muscle haemoglobin. *Proceedings of the Royal Society London, Series B*, **120**, 472–483. In dieser Arbeit wurden die Sauerstoff-Bindungskurven von Hämoglobin und Myoglobin (das hier als *muscle haemoglobin* bezeichnet wird) gemessen.

Monod, J., Wyman, J., Changeux, J.-P. (1965) On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *Journal of Molecular Biology*, **12**, 88–118. In dieser Arbeit wird das nach den Autoren benannte Modell der Allosterie in sehr klarer Weise eingeführt.

Perutz M.F. (1970) Stereochemistry of cooperative effects in haemoglobin. *Nature*, **228**, 726–734. Diese und die nächste Arbeit beschreiben die strukturellen Grundlagen der kooperativen Sauerstoff-Bindung durch Hämoglobin.

Perutz, M.F., Wilkinson, A.J., Paoli, M., Dodson G.G. (1998) The stereochemical mechanism of the cooperative effects in hemoglobin revisited. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, **27**, 1–34.

Die folgenden Arbeiten sind den thermodynamischen Umwandlungen in der DNA gewidmet

Lazurkin, Y. S., Frank-Kamenetskij, M. D., Trifonov, E. N. (1970) Melting of DNA: its study and application as a research method. *Biopolymers*, **9**, 1253–1306.

Marmur, J., Doty, P. (1959) Heterogeneity in deoxyribonucleic acids. I. Dependence on composition of the configurational stability of deoxyribonucleic acids. *Nature*, **183**, 1427–1429.

SantaLucia, J., Hicks, D. (2004) The thermodynamics of DNA structural motifs. *Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure*, **33**, 415–440.

Stevens, C. L., Felsenfeld, G. (1964) The conversion of two-stranded poly (A+U) to three-strand poly (A+2U) and poly A by heat. *Biopolymers*, **2**, 293–314.

Subirana, J. A., Doty, P. (1966) Kinetics of renaturation of denatured DNA. I. spectrophotometric results. *Biopolymers*, **4**, 171–187.

Molekulardynamik-Simulationen

Sutmann, G. (2002) Classical Molecular Dynamics, in Quantum simulations of complex many-body systems: from theory to algorithms, Lecture Notes (Ed. J. Grotendorst, D. Marx, A. Muramatsu), John von Neumann Institute for Computing, Jülich, NIC Series, Vol. **10**, S. 211–254, 2002. Einführung in Molekulardynamik, frei im Internet verfügbar.

Karplus, M., McCammon, J. A. (2002) Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nature Structural Biology*, **9**, 646–652. Knapper Übersichtsartikel von zwei Pionieren der Molekulardynamik-Simulation.

MacKerell, A. D., et al. (1998) All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins. *Journal of Physical Chemistry B*, **102**, 3586–3616. Beschreibung eines bestimmten empirischen Wechselwirkungspotenzials.

Freddolino, P. L., Park, S., Roux, B., Schulten, K. (2009) Force field bias in protein folding simulations. *Biophysical Journal*, **96**, 3772–3780.

Lange, O. F., Grubmüller, H. (2006) Collective Langevin dynamics of conformational motions in proteins. *Journal of Chemical Physics*, **124**, 214903.

Die folgenden drei Artikel beschreiben konkrete Molekulardynamik-Simulationen

Elber, R., Karplus, M. (1990) Enhanced sampling in molecular dynamics: use of time-dependent Hartree approximation for a simulation of carbon monoxide diffusion through myoglobin. *Journal of the American Chemical Society*, **112**, 9161–9175.

- Bossa, C., Anselmi, M., Roccatano, D., Amadei, A., Vallone, B., Brunori, M., Di Nola, A. (2004) Extended molecular dynamics simulation of carbon monoxide migration in sperm whale myoglobin. *Biophysical Journal*, **86**, 3855–3862.
- Colonna-Cesari, F., Perahía, D., Karplus, M., Eklund, H., Brändén, C.I., Gapia, O. (1986) Interdomain motion in liver alcohol dehydrogenase. Structural and energetic analysis of the hinge bending mode. *Journal of Biological Chemistry*, **261**, 15273–15280.

Proteindynamik bei tiefen Temperaturen

- Austin, R.H., Beeson, K.W., Eisenstein, L., Frauenfelder, H., Grunsalus, J. C. (1975) Dynamics of ligand binding to myoglobin. *Biochemistry*, **14**, 5355–5373.
- Fenimore, P.W., Frauenfelder, H., McMahon, B. H., Parak, F. G (2002) Slaving: Solvent fluctuations dominate protein dynamics and functions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **99**, 16047–16051.
- Frauenfelder, H., Parak, F., Young, R.D. (1988) Conformational substates of proteins. *Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry*, **17**, 451–479.
- Leeson, D.T., Wiersma, D.A., Fritsch, K., Friedrich, J. (1997) The energy landscape of myoglobin: an optical study. *Journal of Physical Chemistry B*, **101**, 6331–6340.
- Parak, F., Knapp, E.W., Kucheida, D. (1982) Protein dynamics Mössbauer spectroscopy on deoxymyoglobin crystals. *Journal of Molecular Biology*, **161**, 177–194.
- Nadler, W., Bringer, A. T., Schulten, K., Karplus, M. (1987) Molecular and stochastic dynamics of proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **84**, 7933–7937.

8 Molekulare Erkennung

8.1 Das Konzept der spezifischen Bindung

Wie schon mehrfach in diesem Buch anklang, ist die extrem fehlerarme Erkennung von Molekülen für Struktur und Funktion von Lebewesen essenziell. Selbst in den einfachsten Einzellern befinden sich mehrere Tausend verschiedene Proteine, dazu kommen noch eine ähnliche Anzahl an Lipiden und Zuckern. Das kontrollierte Zusammenspiel dieser Moleküle im Metabolismus der Zelle basiert darauf, dass Makromoleküle ihre molekularen Bindungspartner sehr genau „erkennen“ können. So dürfen zum Beispiel Enzyme ihr Substratmolekül nur sehr selten mit anderen, aber chemisch ähnlichen Molekülen verwechseln. Ebenso müssen die DNA regulierende Moleküle exakt an ihre Zielsequenz andocken. Solche hoch selektiven Bindungen werden als „spezifische Bindungen“ bezeichnet. Diese Art der molekularen Erkennung ist ein Kernkonzept der Biologie.

Der Begriff der Spezifität bezeichnet die Fähigkeit des Systems, zwischen verschiedenen, nahe verwandten Strukturen zu unterscheiden (Abb. 8.1). Ein eindrucksvolles Beispiel für diese Fähigkeit liefert das menschliche Immunsystem. Es reagiert auf manche Moleküle, in diesem Zusammenhang auch Antigene genannt, bereits bei Konzentrationen von 10^{-12} mol/l im Blutplasma. Dieses enthält sehr viele verschiedene Proteinmoleküle in einer Gesamtkonzentration von ungefähr 1 mM. Daher ist das Immunsystem in der Lage, ein „falsches“ Molekül

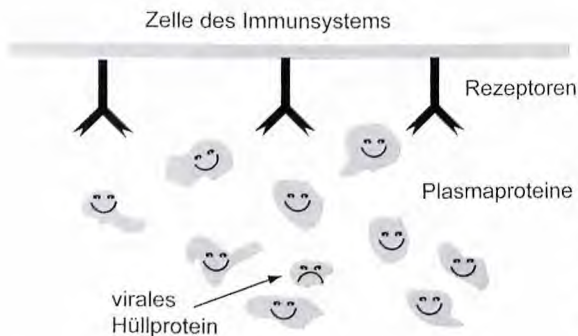


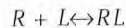
Abb. 8.1 Spezifität bedeutet, eine bestimmte Molekülart unter vielen ähnlichen Molekülen erkennen zu können. Zellen des Immunsystems erreichen hier Erfolgsquoten von bis zu $1:10^9$.

unter einer Milliarde „richtigen“ zu detektieren. Dies entspricht der Leistung, die Anwesenheit von acht Menschen mit besonderen Eigenschaften in der Weltbevölkerung zu bemerken.

Spezifität ist grundsätzlich von Affinität, d. h. der Gleichgewichtskonstante einer Bindung, zu unterscheiden. Bindungen können sehr stark, aber gleichzeitig sehr unspezifisch sein. Ein wichtiges Beispiel hierfür ist die Bindung von Proteinen an technische Oberflächen. Diese betrifft fast alle Proteinarten (d. h. geringe Spezifität) und führt zu quasi-irreversiblen Haften der Moleküle an den Oberflächen (d. h. hohe Freie Enthalpie der Bindung). Ähnlich verhält es sich mit der Isothiocyanat-Gruppe (R-N=C=S), die häufig zur kovalenten Bindung von Farbstoffen (oben R genannt) an Biomoleküle verwendet wird. Diese Gruppe reagiert mit Amino- oder Sulfhydryl-Gruppen (d. h. geringe Selektivität) und bildet dabei kovalente Bindungen (d. h. hohe Freie Enthalpie).

Bindungsaffinitäten sind durch die Freien Enthalpien der Bindung bestimmt. Diese liegen für spezifische Bindungen in biologischen Systemen im Bereich von 17 kJ/mol bis 70 kJ/mol oder 7 bis 30 $k_B T$. Im Vergleich dazu sind kovalente Bindungen wesentlich stärker, so beträgt die freie Enthalpie für die Bildung einer Einfachbindung zwischen Kohlenstoff-Atomen ca. 350 kJ/mol, was 140 $k_B T$ entspricht. Im Allgemeinen sind spezifische Bindungen 10- bis 100-mal schwächer als kovalente Bindungen, weisen aber eine ungleich höhere Selektivität auf. Allerdings sind Spezifität und Affinität durchaus verwandte Größen, wie die folgenden Überlegungen zeigen.

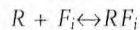
Eine molekulare Spezies R („Rezeptor“) hat als Zielmolekül seinen Liganden L . Gleichzeitig sind noch viele „falsche“ Liganden F_i vorhanden. Die chemische Reaktion wird beschrieben durch:



mit dem zugehörigen Massenwirkungsgesetz (Gl. 3.47)

$$\frac{x_{RL}}{x_R x_L} = \exp\left(-\frac{\Delta G_{RL}}{k_B T}\right)$$

Hierbei steht x für die Molenbrüche der jeweiligen Molekülsorten und ΔG für die Freie Enthalpie der Komplexbildung. Völlig analog kann es auch zur Bindung von falschen Liganden kommen. Erkennungsfehler werden durch die chemische Reaktion



mit dem Massenwirkungsgesetz

$$\frac{x_{RF_i}}{x_R x_{F_i}} = \exp\left(-\frac{\Delta G_{RF_i}}{k_B T}\right)$$

beschrieben.

Die Wahrscheinlichkeit einer fehlerhaften Erkennung p_F ist gegeben durch

$$p_F = \frac{\sum_i x_{RF_i}}{x_{RL} + \sum_i x_{RF_i}}$$

wobei der Index i über alle möglichen „falschen“ Bindungspartner läuft. Mit der Definition $\Delta\Delta G_i = \Delta G_{RF_i} - \Delta G_{RL}$ ergibt sich nach einer einfachen Rechnung:

$$p_F = \frac{\sum_i x_{Fi} \exp\left\{-\frac{\Delta\Delta G_i}{k_B T}\right\}}{x_L + \sum_i x_{Fi} \exp\left\{-\frac{\Delta\Delta G_i}{k_B T}\right\}} \quad (8.1)$$

Aus dieser Gleichung lassen sich sofort mehrere wichtige Aspekte ablesen:

- Der RL -Komplex muss die höchste Freie Enthalpie der Bindung aufweisen, sonst liegt er nicht bevorzugt vor.
- Es gibt immer eine gewisse Fehlerwahrscheinlichkeit $p_F > 0$.
- Je größer der Abstand der Freien Enthalpie der Bindung des RL -Komplexes von derjenigen der möglichen falschen Bindungen ist, desto kleiner wird die Fehlerwahrscheinlichkeit. p_F sinkt mit steigenden $\Delta\Delta G_i$.
- Die Fehlerrate steigt bei sinkender Konzentration des Ziel-Liganden L und bei wachsenden Konzentrationen der möglichen „falschen“ Bindungspartner.

Hohe Spezifität bedeutet also, dass der korrekte Komplex RL eine viel größere Freie Enthalpie der Bindung aufweisen muss als alle „falschen“ Komplexe RF_i .

8.1.1

Strategien zur Erzielung hoher Spezifität

Als Beispiel betrachten wir einen „Biochip“. Mithilfe dieser Systeme wird detektiert, welche Proteine in einer Zelle neu synthetisiert werden. Dazu werden auf einer Oberfläche kurze DNA-Sequenzen in einzelnen Flecken verankert. In jedem Fleck wird jeweils eine Sequenz aus einem bestimmten Gen verwendet. Danach wird aus einer Zellsuspension die zum Zeitpunkt des Experiments in den Zellen vorhandene Boten-RNA isoliert und auf den Biochip aufgetragen. Dort bindet die Boten-RNA nur an passende DNA-Sequenzen (Abb. 8.2). Mithilfe von bestimmten Farbstoffen, die nur an doppelsträngige Polynukleinsäuren binden, kann nachfolgend ausgewertet werden, an welchen Stellen des Biochips Basenpaarung stattgefunden hat. Idealerweise kann somit abgelesen werden,

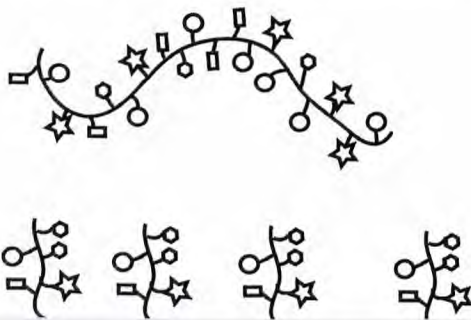


Abb. 8.2 Prinzip eines Biochips. Die auf dem Biochip gebundenen DNA-Sequenzen binden eine zugespülte Boten-RNA, falls die Sequenzen komplementär sind.

welche Gene der Zelle gerade in Boten-RNA umgesetzt werden, d. h. welche Proteine neu synthetisiert werden.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, wie lang die DNA-Sequenzen auf der Oberfläche sein müssen, um die Fehlerwahrscheinlichkeit auf ein tolerierbares Maß zu begrenzen. Da diese DNA-Sequenzen chemisch synthetisiert werden müssen, steigt ihr Preis sehr stark mit der Länge, sodass diese Frage für die praktische Forschungsarbeit sehr relevant ist.

Zur Berechnung der Bindungswahrscheinlichkeit p_B betrachten wir immobilisierte Sequenzen der Länge m . Wir nehmen an, dass die Boten-RNA nur binden kann, wenn ein Abschnitt derselben Länge genau komplementär zur Sequenz auf der Oberfläche ist. Die Boten-RNA der Länge N kann für diese Rechnung als aus N zufälligen Sequenzen der Länge m betrachtet werden, da $N \gg m$ ist. An jeder Stelle der Sequenz gibt es vier mögliche Nukleotide, deswegen existieren 4^m verschiedene Sequenzen der Länge m . Die Wahrscheinlichkeit einer zufälligen Bindung beträgt daher:

$$p_B = \frac{N}{4^m}$$

Damit p_B unterhalb einer beliebig zu wählenden Toleranzgrenze p_T bleibt, muss

$$m > \frac{\ln(N/p_T)}{\ln 4}$$

gewählt werden. Ein üblicher Wert für p_T wäre 0,1 %. Das mittlere Molekulargewicht eines Proteins beträgt 60 000 g/mol. Da das durchschnittliche Molekulargewicht einer Aminosäure 110 g/mol beträgt, diese von drei Basen kodiert wird und zudem Boten-RNA noch kurze, nicht in Protein übersetzte Sequenzen an beiden Enden trägt, ist eine typische Boten-RNA ungefähr 2000 Basenpaare lang. Das größte bisher bekannte Protein, Titin, besteht aus fast 27 000 Aminosäuren. Dies setzt die Obergrenze für die Länge von Boten-RNA von 80 000 Basenpaaren. Selbst wenn man diese größtmögliche Boten-RNA noch mit einer Sicherheit von 1:1000 korrekt erkennen will, ergibt sich hieraus nur eine Sequenzlänge von $m = 13$. In der Praxis werden Sequenzlängen von ungefähr 15 verwendet, da es unter Umständen auch bei einem Punktfehler in der Sequenz zu einer Bindung der Boten-RNA kommen kann.

Mit diesem Beispiel wird ein Grundprinzip der spezifischen Bindung illustriert. In diesen Bindungen wird der Komplex aus zwei Molekülen durch eine größere Anzahl an attraktiven mikroskopischen Bindungen stabilisiert. Die verschiedenen Arten der mikroskopischen Wechselwirkungen wurden bereits in Kapitel 6 besprochen. Wichtig ist hier, dass sämtliche mikroskopischen Wechselwirkungen von kurzer Reichweite sind. Die meisten sind nur über atomare Längenskalen nennenswert. Selbst die elektrostatische Anziehung zweier Ladungen ist an der Oberfläche von Proteinen, wo spezifische Bindungen stattfinden, durch die Anwesenheit von beweglichen Gegenionen mit einer Abklinglänge von nur 0,8 nm abgeschirmt. Neben diesen kurzen Reichweiten sind die meisten mikroskopischen Wechselwirkungen noch richtungsabhängig. In diesem Zusammen-

hang sind insbesondere Wasserstoffbrücken-Bindungen erwähnenswert (s. Abschnitt 6.4). Weiterhin ist wesentlich, dass jede dieser mikroskopischen Wechselwirkungen nur von der Größenordnung $k_B T$ ist. Daher reicht eine einzelne mikroskopische Wechselwirkung, die leicht durch Zufall entstehen kann, nicht zur Ausbildung eines langlebigen Komplexes. Dazu müssen sich ungefähr zehn solcher Wechselwirkungen konstruktiv überlagern. Da die meisten Biomoleküle eine definierte dreidimensionale Struktur, die native Konformation, aufweisen (s. Kapitel 6 und 7), ist es extrem unwahrscheinlich, dass eine ausreichende Anzahl an mikroskopischen Bindungen schon zufällig gebildet werden kann. Eine spezifische Bindung tritt normalerweise nur zwischen Bindungspartnern auf, die sich im Verlauf der Evolution in Struktur und Wechselwirkungsmuster aneinander angepasst haben.

Das bisher besprochene Bindungsmuster entspricht dem klassischen statischen Schloss-Schlüssel-Prinzip, das Emil Fischer schon 1894 entwickelt hatte [1]. Allerdings ist die native Konformation eines Proteins beileibe nicht starr (s. Abschnitt 7.3). Selbst in sehr kompakten Proteinen fluktuieren die Atome im Mittel um $1/20$ nm um ihre Ruhelage. Daher kommt es im Allgemeinen bei der Ausbildung einer spezifischen Bindung noch zu einer gewissen gegenseitigen Anpassung der Molekülstrukturen, die zu einer Absenkung der Freien Enthalpie und somit zu einer Stabilisierung des Komplexes führt. Im anschaulichen Schloss-Schlüssel-Modell muss man sich also anpassungsfähige Schlüssel und Schlösser vorstellen. Im extremsten Fall wird die Konformation eines Bindungspartners durch die Ausbildung der spezifischen Bindung stark geändert. In diesem Fall spricht man von induzierter Passung (*induced fit*). Dieser Mechanismus wurde 1958 von Daniel Koshland entdeckt und ist sehr wichtig für die Regulation von Enzymen mit mehreren Bindungsstellen [2]. Hier kann die Bindung eines Liganden an eine Bindungsstelle die Konformation des Enzyms so ändern, dass die Affinitäten der anderen Bindungsstellen für ihre jeweiligen Liganden stark verändert werden. Dies wurde insbesondere für die Sauerstoff-Bindung des Hämoglobins untersucht (s. Abschnitt 7.2.4.1). Durch diesen, auch Allosterie genannten Mechanismus können so genannte Kofaktoren enzymatische Reaktionen in ihrer Rate steuern.

8.1.2

Beispiele für spezifische Bindungen

Im Folgenden betrachten wir zwei Beispiele für spezifische Bindungen zwischen einem Protein und einem kleinen organischen Molekül. Bindungen zwischen Proteinen oder zwischen Proteinen und DNA zeigen meistens dasselbe Ausmaß an Spezifität und beruhen auf denselben Mechanismen (s. Abschnitt 36.4). Sie sind aber oft nicht so leicht zu überblicken wie Bindungen zwischen einem Protein und einem kleinen Molekül.

Ein experimentell besonders gut untersuchtes Beispiel ist die Bindung zwischen Avidin und Biotin. Biotin, auch Vitamin H oder Vitamin B₇ genannt, ist ein kleines Molekül mit einem Molekulargewicht von 244 g/mol, das von dem Protein

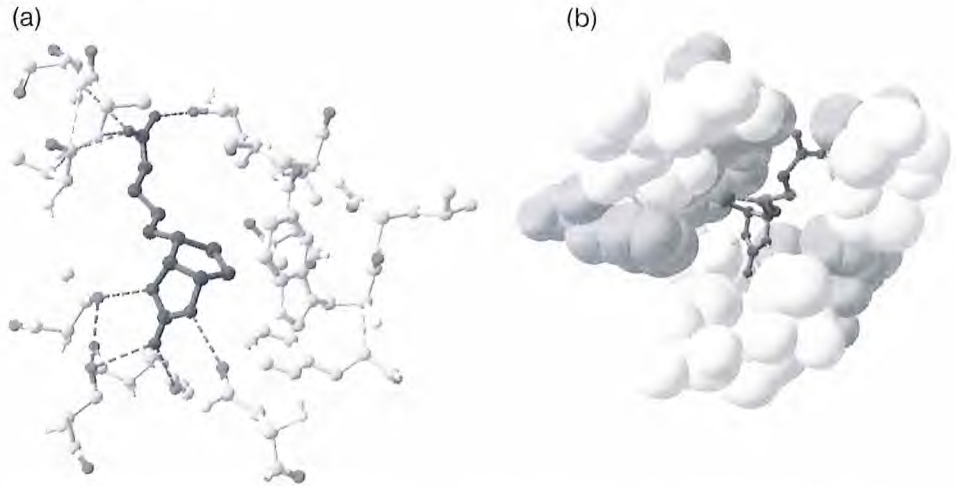


Abb. 8.3 Eine Bindungsstelle von Avidin für Biotin. Das Biotin-Molekül ist dunkel dargestellt. Nur diejenigen Aminosäuren des Avidins, die nahe beim Biotin liegen, sind gezeigt. (a) Skelettdarstellung, Wasserstoffbrücken-Bindungen sind als gestrichelte

Linien dargestellt. (b) Biotin ist wieder in der Skelettdarstellung gezeigt, die benachbarten Aminosäuren dagegen raumfüllend. Hell dargestellte Aminosäuren sind polar, dunklere apolar. PDB-Datensatz 2AVI.

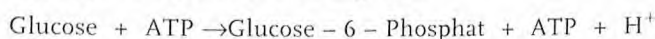
Avidin mit sehr hoher Affinität (10^{-15} 1/M) gebunden wird. Das Protein Avidin kommt in Vogeleiern vor und dient dort wahrscheinlich als Speicher für das lebensnotwendige Vitamin H. Von allen bis heute untersuchten spezifischen Bindungen weist die Avidin-Biotin-Bindung bei Weitem die höchste Affinität auf. Die biologische Funktion dieser extremen Affinität ist bisher völlig unbekannt, obwohl jedes Jahr Tausende von Publikationen erscheinen, in denen diese Bindung biotechnologisch genutzt wird. Jedes Avidin-Molekül besitzt vier im Wesentlichen identische Bindestellen für Biotin (Abb. 8.3). Diese Bindestellen befinden sich in tiefen Taschen in der Oberfläche des Proteins. Sie passen sowohl in ihrer Geometrie als auch in ihren Wechselwirkungsmustern genau zu den Biotin-Molekülen.

Jedes Biotin-Molekül bildet zehn Wasserstoffbrücken-Bindungen mit dem Protein aus. Diese sind der Übersichtlichkeit halber nicht alle in Abbildung 8.3 gezeigt. Zusätzlich liegen noch mehrere hydrophobe Aminosäuren in der Nähe des Biotin-Moleküls. Insgesamt tragen die zehn Wasserstoffbrücken-Bindungen, die in diesem Fall kooperativ zusammenwirken und sich gegenseitig durch Polarisierung einer Carbonyl-Gruppe im Biotin beträchtlich verstärken, den Hauptanteil der Bindungsenthalpie von ungefähr 80 kJ/mol (oder $33 k_B T$) bei. Den Rest liefert der hydrophobe Effekt. Die gesamte Bindung entsteht als Überlagerung vieler schwacher und kurzreichweitiger Wechselwirkungen. Insbesondere die Wasserstoffbrücken-Bindungen zeigen zusätzlich zur kurzen Reichweite eine sehr ausgeprägte Richtungsabhängigkeit. Wie das obere Beispiel des DNA-Chips (Abb. 8.2) sehr anschaulich zeigte, ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein entsprechendes Wechselwirkungsmuster zufällig vorhanden ist, extrem klein. Auf-

grund der hohen Zahl an mikroskopischen Wechselwirkungen ist die Bindung zwischen Biotin und Avidin hoch selektiv. Selbst nahe verwandte Moleküle wie Desthio-biotin werden nur mit um mehr Größenordnungen geringeren Affinität gebunden.

Auch im Fall der Avidin-Biotin-Bindung wurden strukturelle Änderungen des Proteins durch Bindung des Liganden nachgewiesen. Hierzu wurde benutzt, dass der Beitrag eines Atoms zum Röntgenstreuungsmuster gemäß des Debye-Waller-Faktors von seiner Beweglichkeit abhängt. Eine Gruppe von ungefähr acht Aminosäuren in der Nähe des äußeren Endes der Bindungstasche besitzt in reinem Avidin eine so hohe Beweglichkeit, dass sie in der Röntgenstruktur-Bestimmung unsichtbar wird. Im Biotin-Avidin-Komplex bestehen auch von diesen Aminosäuren Wasserstoffbrücken-Bindungen zum Biotin, sodass sich im Komplex eine starre und deutlich bestimmbare Struktur herausbildet.

Wesentlich größere, durch Ligandenbindung induzierte strukturelle Änderungen beobachtet man bei manchen Enzymen. Ein klassisches Beispiel hierzu ist die Hexokinase. Dieses 50 kDa schwere Enzym katalysiert den Transfer einer Phosphatgruppe von ATP auf Glucose gemäß



Der erste Teilschritt dieser Reaktion ist die Bildung eines Komplexes aus Hexokinase und Glucose, dessen Struktur mit Röntgenkristallografie aufgeklärt wurde. In Abbildung 8.4 ist die Bindungstasche mit dem gebundenen Substrat gezeigt. Man erkennt, dass das Glucose-Molekül wiederum mit zehn Wasserstoffbrücken-Bindungen an das Protein fixiert wird. Somit ist auch in diesem Fall eine große Zahl an mikroskopischen Wechselwirkungen der Schlüssel zur Spezifität der Wechselwirkung.

Da man auch die Struktur von glucosefreier Hexokinase kennt, kann man die durch Substratbindung induzierten Änderungen der Konformation in einer Überlagerung der Strukturmodelle mit und ohne gebundenem Substrat direkt beobachten. In Abbildung 8.5 ist dies für die Bindungstasche gezeigt. Schon hier sind signifikante Veränderungen der Struktur erkennbar

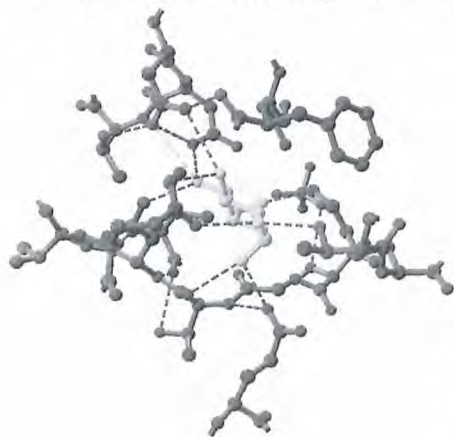


Abb. 8.4 Die Bindungstasche von Hexokinase mit dem gebundenen Substrat Glucose (hellere Struktur). Wasserstoffbrücken-Bindungen sind durch gestrichelte Linien dargestellt. PDB-Datensatz1BDG.

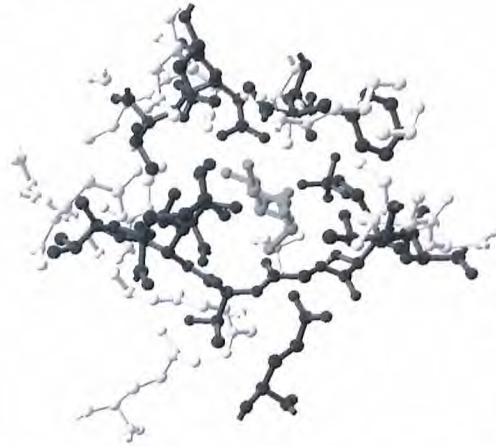


Abb. 8.5 Die Bindungstasche von Hexokinase ohne Substrat (helle Struktur), sowie mit gebundenem Substrat (dunklere Struktur). Gerade im unteren Bereich des Bildausschnitts sind große Verschiebungen der Atome deutlich sichtbar. Die Ausrichtung des Moleküls ist identisch zu Abbildung 8.4. PDB-Datensatz 1IG8.

Die Strukturänderung durch Substratbindung äußert sich noch viel stärker in der Gesamtstruktur des Enzyms. Hexokinase besteht aus zwei großen Domänen, zwischen denen sich ein Spalt befindet. Die Bindungstasche für Glucose befindet sich in diesem Spalt. In Abwesenheit des Substrats ist der Spalt relativ weit offen, er schließt sich während der Substratbindung (Abb. 8.6).

Die Molekülstruktur der Hexokinase verändert sich also deutlich während der Bindung des Substrats. Diesen Bindungsmechanismus nennt man, wie oben erwähnt, „induzierte Passung“ (engl. *induced fit*). Er wird oft vom klassischen „Schloss-Schlüssel-Mechanismus“ unterschieden (Abb. 8.7). Allerdings sind die Unterschiede gar nicht groß: Die Spezifität der Wechselwirkung entsteht in beiden Fällen aus einer Vielzahl von mikroskopischen Wechselwirkungen durch Passung der sterischen Strukturen und der Wechselwirkungsmuster. Ebenso findet bei jeder spezifischen Bindung auch eine Anpassung der räumlichen Strukturen der Bindungspartner statt. Die beiden Bindungsmechanismen unterscheiden sich nur im Ausmaß dieser Anpassung.

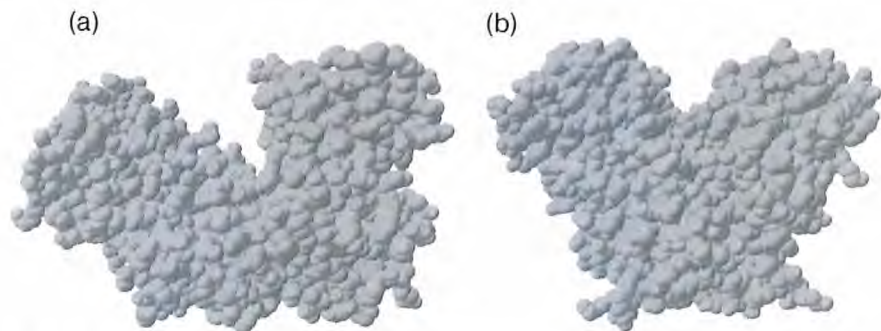


Abb. 8.6 Vergleich der Gesamtstrukturen von Hexokinase, (a) ohne Substrat, (b) mit gebundenem Substrat. Die beiden Strukturen wurden so überlagert, dass die Überlappung der Atome maximal ist. Sie sind aus dem genau gleichen Blickwinkel gezeigt.



Abb. 8.7 Das klassische Schloss-Schlüssel-Modell der spezifischen Bindung beschreibt die Situation für relativ starre Bindungspartner wie Biotin-Avidin sehr gut, wenn man sich einen modernen Sicherheitsschlüssel anstelle eines altmodischen Bartschlüssels vorstellt. In diesem Beispiel müssen neun Rillen und fünf Zacken des Schlüssels in den Schließzylinder passen, dies entspricht der sterischen Pas-

sung. Außerdem bewegen die Zacken des Schlüssels Kolben im Schließzylinder, was der Anpassung der Konformation durch Bindung im Fall der spezifischen Bindung entspricht. Sogar die Zahl der Strukturmerkmale, die notwendig ist, um einen einmaligen Schlüssel zu erzeugen, entspricht ungefähr den Gegebenheiten bei der spezifischen Bindung zwischen Biomakromolekülen.

In diesem Abschnitt haben wir Spezifität auf der Ebene der Wechselwirkung von Molekülen besprochen. Allerdings werden viele spezifische Reaktionen wie die Immunantwort auf der Ebene von ganzen Zellen bewerkstelligt (s. Kapitel 13). Hierbei wirken komplexe Netzwerke aus chemischen Reaktionen zusammen. Nichtlineare Kopplung von verschiedenen chemischen Reaktionen in sogenannten Signalkaskaden können die Reaktionen von Zellen auf äußere Signale stark beeinflussen. So kann es dazu kommen, dass Zellen in einer „Alles oder Nichts“-Weise reagieren, wenn die Konzentration von Botenstoffen gewisse Grenzwerte überschreitet. Ebenso kann eine Zellantwort auf einen Stoff an die An- oder Abwesenheit von anderen Stoffen oder an den zeitlichen Verlauf der Konzentration gekoppelt sein. Biologische Spezifität entsteht also auf vielen Ebenen, von denen wir hier nur die molekulare diskutiert haben.

8.2

Mechanisches Brechen spezifischer Bindungen

Spezifische Bindungen spielen in fast allen Prozessen und Strukturen in lebenden Zellen eine dominierende Rolle. Die bisher gezeigten Beispiele zeigten, wie Enzyme oder Speicherproteine ihre kleinen Zielmoleküle erkennen und binden. Allerdings sind spezifische Bindungen auch essenziell für den Aufbau von Strukturen, die für die mechanischen Eigenschaften der Zellen verantwortlich sind. Solche Strukturen werden in Kapitel 13 und 29 im Zusammenhang mit mechanischen Zelleigenschaften eingehend diskutiert. Wie in Abschnitt 29.2 besprochen wird, üben lebende Zellen Kräfte von einigen Nanonewton aus, die über nichtkovalente Bindungen zwischen Biomakromolekülen im Zytoskelett

(s. Kapitel 18) und in den Adhäsionsstrukturen (s. Kapitel 13) dieser Zellen an die Umgebung übertragen werden. Eine Zelle gleicht also einer technischen Struktur, wie einem Zelt oder einer Brücke, die durch Dehnungskräfte belastet ist. Genauso wie die genannten technischen Strukturen muss eine lebende Zelle diesen Kräften widerstehen, ohne zerstört zu werden. Somit stellt sich die Frage nach dem mechanischen Versagen von spezifischen Bindungen. Müssen wir uns das Bruchverhalten spezifischer Bindungen wie das eines makroskopischen Balkens oder Seils vorstellen? Gibt es eine bestimmte Kraft, die zum Bindungsbruch notwendig ist? Hängen Bruchkräfte und Affinitäten von Bindungen zusammen?

Solche Fragen lassen sich letztendlich nur durch Experimente klären. Dazu müssen auf einzelne Bindungen mechanische Kräfte ausgeübt werden, deren Stärke wie folgt abgeschätzt werden kann: Die Bindungsenthalpie einer spezifischen Bindung liegt im Bereich einiger $k_B T$, die Reichweite der gesamten Wechselwirkung beträgt höchstens einen Nanometer (Abschnitt 8.1). Da die thermische Energie von ungefähr $4 \cdot 10^{-21}$ J in „praktischen Einheiten“ für molekulare Mechanik ungefähr 4 pNnm beträgt, sollten Kräfte von wenigen Piconewton ausreichen, um die Potenziale spezifischer Bindungen mechanisch instabil zu machen. Zum Vergleich: Der Strahlungsdruck der Photonen, die von einem normalen Laserpointer mit 1 mW Leistung ausgesandt werden, beträgt immerhin schon 3,3 pN.

Experimente mit derart kleinen Kräften sind erst seit den 80er-Jahren des letzten Jahrhunderts möglich. Piconewton-Kräfte lassen sich unter Bedingungen, wie sie für das Arbeiten mit Biomolekülen notwendig sind, mit vier verschiedenen experimentellen Ansätzen ausüben. Diese sind

1. die Ausübung hydrodynamischer Kräfte auf Mikrokugeln,
2. das mechanische Biegen sehr weicher Federn kombiniert mit extrem sensitiver Detektion der Federauslenkung wie es zum Beispiel in Rasterkraftmikroskopen¹⁾ realisiert ist,
3. die Anwendung von Lichtdruck auf Mikrokugeln in so genannten optischen Fallen (*laser tweezers*) bzw. die Manipulation von magnetischen Mikrokugeln mit Magnetfeldern (*magnetic tweezers*) und
4. die Deformation von geschlossenen Biomembranschalen, die mit einer Mikropipette unter Spannung gesetzt werden (*biointerfacial probe*).

Wie in Abbildung 8.8 gezeigt ist, werden in der ersten Technik zeitlich konstante Kräfte auf Einzelbindungen angewandt, es wird also die statistische Lebensdauer von Bindungen unter Kraft gemessen. In den letztgenannten drei Techniken werden ansteigende Kräfte benützt und somit Bruchkräfte bestimmt.

Hydrodynamische Kräfte sind konzeptuell das einfachste Verfahren, Piconewton-Kräfte auszuüben (Abb. 8.8).

Eine weitere Technik zur Ausübung sehr kleiner Kräfte kann auf der Basis von weichen Federbalken realisiert werden (Abb. 8.9). Wie im Folgenden gezeigt wird,

1) Rasterkraftmikroskopie ist besser unter dem etwas unglücklichen Akronym AFM für engl. *atomic force microscopy* bekannt.

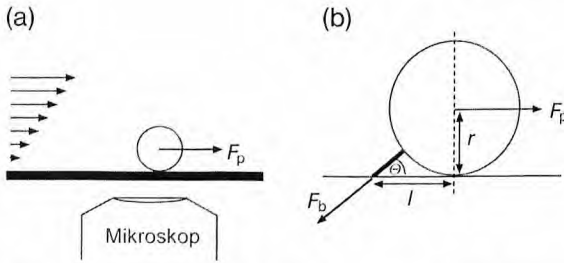


Abb. 8.8 Hydrodynamische Kräfte zur Ausübung von Piconewton-Kräften. (a) Wird eines der beteiligten Bindungsmoleküle auf einer Mikrokugel verankert und der andere molekulare Partner auf einer Glasscheibe, so kann die Bindung zwischen der Kugel und der Glasscheibe in physiologischer Umgebung stattfinden. Wird ein hydrodynamischer Fluss angelegt, so wirkt bei moderaten Fließgeschwindigkeiten eine Kraft von einigen wenigen Piconewton auf die Mikrokugel. Falls die spezifischen Bindungen zwischen Glas und

Kugel versagen, beginnt sich die Kugel zu bewegen, was sehr leicht mit einem Lichtmikroskop beobachtet werden kann. (b) Die hydrodynamische Kraft F_p wird von einer Kraft F_b , die auf die Bindung wirkt, kompensiert. Die Kraft F_b kann berechnet werden, falls der Abstand l zwischen dem Berührungspunkt der Kugel und den Bindungsmolekülen bekannt ist. Bei Flussumkehr bewegen sich gebundene Kugeln um genau $2l$, daher ist diese Messung leicht möglich.

hängt die Biegesteifigkeit eines Federbalkens sehr stark von seiner Geometrie ab. Wird das freie Ende eines einseitig eingespannten Balkens der Länge L von einer Punktkraft F um Δx ausgelenkt, so gilt für die Federkonstante $k = \frac{F}{\Delta x} = \frac{3EI}{L^3}$. Hierbei ist E der Elastizitätsmodul und I das Flächenträgheitsmoment des Balkenquerschnitts. Das Flächenträgheitsmoment beträgt für einen kreisförmigen Querschnitt mit Radius r : $I = \frac{\pi}{4}r^4$ und für einen rechteckigen Querschnitt mit Breite B und Dicke D : $I = \frac{BD^3}{12}$. Die Steifigkeit eines Federbalkens kann also leicht über Variation von Länge und Dicke eingestellt werden. Federbalken für mechanische Experimente an einzelnen Molekülen oder spezifischen Bindungen können aus Glasfasern gezogen werden. Hier werden Radien von ungefähr $1 \mu\text{m}$ und Längen von $100 \mu\text{m}$ leicht erreicht. Die genannten Werte entsprechen mit einem Elastizitätsmodul von Glas von 70 GPa einer Steifigkeit von 160 mN/m . Da Länge und Radien der Fasern in einem weiten Bereich variieren können, sind wesentlich geringere Federkonstanten ebenfalls gut erreichbar.

Sogar noch häufiger als Glasfasern werden Federn für die Rasterkraftmikroskopie eingesetzt. Diese werden aus Halbleitermaterialien mithilfe der Mikrostrukturtechnik hergestellt. Typische Abmessungen für solche Federbalken sind Längen von 100 bis $400 \mu\text{m}$, Dicken im Bereich von wenigen Mikrometern und Breiten von ungefähr $20 \mu\text{m}$. Steifigkeiten von praktisch handhabbaren Federn für die Rasterkraftmikroskopie liegen im Bereich von 10 mN/m bis 100 N/m .

Sehr wichtig für alle Verfahren der molekularen Manipulation, die auf Federn beruhen, ist eine sehr genaue Bestimmung der Auslenkung der Feder (Abb. 8.9). Diese erfolgt im Fall von Glasfasern meistens durch lichtmikroskopische Beobachtung und im Fall von Blattfedern für die Rasterkraftmikroskopie durch



Abb. 8.9 Biegung eines einseitig eingespannten Balkens durch eine Punktkraft am freien Ende.



Abb. 8.10 Messung von Piconewton-Kräften mit der Mikropipetten-Aspirationstechnik.

(a) Der Saugdruck der Pipette, ΔP , spannt die Membran einer roten Blutzelle und wird dadurch in mechanische Membranspannung τ umgewandelt. Da die Membran der roten Blutzelle extrem weich ist, genügt diese Oberflächenspannung, um die Zelle in eine Kugelform zu bringen. Der Maßstab entspricht $5 \mu\text{m}$. (b) Wird eine externe Kraft auf eine Kugel, die an die Spitze der Zelle

angeklebt wird, angewandt, so wird die Zelle aus der Kugelform ausgelenkt und eine entsprechend große, rücktreibende Kraft entsteht aufgrund der Membranspannung (s. Kapitel 13). Die Zelle wirkt also als Feder. Die Steifheit dieser Feder kann berechnet werden und ist proportional zur Membranspannung, die wiederum über den Saugdruck der Pipette eingestellt werden kann. Federsteifigkeiten von $0,1 \text{ mN/m}$ sind leicht erreichbar.

optische Triangulation. In beiden Verfahren können Bewegungen der Feder mit Nanometer-Auflösung bestimmt werden. Aufgrund dieser guten räumlichen Auflösung können mit Federbalken zuverlässig Piconewton-Kräfte gemessen werden.

Eine weitere Möglichkeit zur Ausübung und Messung von Piconewton-Kräften bietet die Mikropipetten-Aspirationstechnik (Abb. 8.10). Bei dieser Technik wird eine Glas-Mikropipette von wenigen Mikrometern Innendurchmesser in einer Messkammer auf einem Lichtmikroskop manipuliert. Im Inneren der Pipette befindet sich dieselbe Lösung wie außerhalb. Schließt man die Pipette an ein externes Wasserreservoir an, das man mechanisch leicht auf wenige Mikrometer genau positionieren kann, so kann man Ansaugkräfte von unter einem Piconewton erzeugen. Allerdings ist es noch notwendig, diese Kräfte kontinuierlich messbar zu machen. Dazu verwendet man eine rote Blutzelle, die, wie in Abbildung 8.10 gezeigt, vom Saugdruck der Pipette in eine weiche Feder verwandelt wird.

Neben den bisher diskutierten Federn aus Glas, Silizium oder Biomembranen kann auch Licht als „Feder“ benutzt werden. Dazu wird das Licht eines Lasers durch ein Mikroskop-Objektiv mit sehr hohem Öffnungswinkel (d. h. möglichst großer numerischer Apertur) fokussiert. Im Brennpunkt dieses Laserstrahls liegt ein Maximum des zeitgemittelten elektrischen Felds mit sehr hohen Feldgradienten vor. In statischen elektrischen Feldern werden Partikel, deren Dielektrizitätskonstante diejenige des Mediums überschreitet, zum Maximum des Felds gezogen. Dieser Effekt wirkt auch bei Wechselfeldern. Daher wird eine Mikroku-



Abb. 8.11 Prinzip der optischen Falle: Bei Fokussierung eines Laserstrahls ergibt sich ein Maximum der elektrischen Feldstärke. Dadurch wirkt auf eine optisch dichte Mikrokugel eine Kraft, die zum Brennpunkt wirkt. Diese Kraft wird umso größer, je schärfer der Brennpunkt ist. Gleichzeitig wirkt der Lichtdruck der Photonen auf die Kugel. Insgesamt

ergibt sich bei einem ausreichenden Öffnungswinkel der Linse eine mechanisch stabile Lage der Kugel knapp hinter dem Brennpunkt der Linse. Für kleine Auslenkungen der Kugel von dieser Ruhelage ist die wirkende Kraft proportional zur Auslenkung. Die rücktreibenden Kräfte sind durch die dünnen Pfeile symbolisiert.

gel, deren Brechungsindex den von Wasser (1,33) überschreitet, im Licht dieser „optischen Falle“ gefangen (Abb. 8.11). Aufgrund des Lichtdrucks der Photonen ist eine Berechnung des Potenzials, das diese Kugel in der Falle erfährt, relativ kompliziert. Als Ausgleich für diese Komplexität sind optische Fallen sehr gut kalibrierbar und besitzen von allen genannten Techniken mit Abstand die beste zeitliche Auflösung, da die Position der Kugel in der Falle durch Detektion des an der Kugel gebeugten intensiven Laserlichts sehr exakt und schnell detektiert werden kann. Daher sind optische Fallen auch ideal geeignet für Untersuchungen an Motorproteinen (Kapitel 19).

In hydrodynamischen Experimenten an Mikrokugeln oder Zellen, die mit einzelnen spezifischen Bindungen an Oberflächen gebunden waren, konnte zum ersten Mal untersucht werden, wie sich spezifische Bindungen unter Krafteinwirkung verhalten. Hierbei ergab sich, dass Bindungsbrüche zufällig erfolgen. Die statistischen Lebensdauern spezifischer Bindungen unter Einwirkung einer Kraft fallen exponentiell mit steigender Kraft. Zur Erklärung dieses Befunds muss man sich vor Augen führen, dass wir hier eine chemische Reaktion an einer einzelnen Bindung beobachten. Wie jede chemische Reaktion erfolgt diese auch statistisch. Sie kann, wie in Kapitel 7 besprochen, als Diffusion des Systems im Phasenraum beschrieben werden. Dort hatten wir als essenzielles Ergebnis für die Rate einer chemischen Reaktion hergeleitet (Gl. (7.1) und (7.6)):

$$k_0 = \tau^{-1} \exp \left\{ - \frac{G_s}{k_B T} \right\}$$

Hierbei ist τ ein modellabhängiger, aber konstanter Vorfaktor, und G_s gibt an, um welchen Betrag der Freien Enthalpie der höchste bei der Reaktion zu überwindende Zustand im Phasenraum gegenüber dem Ausgangszustand der Reaktion angehoben ist.

Eine wirkende mechanische Kraft verändert die Freie Enthalpie entlang der Reaktionskoordinate (Abb. 8.12). Im allereinfachsten Modell können wir annehmen, dass die wirkende Kraft durch einen Zusatzterm $-Fx$ in der Freien Enthalpie

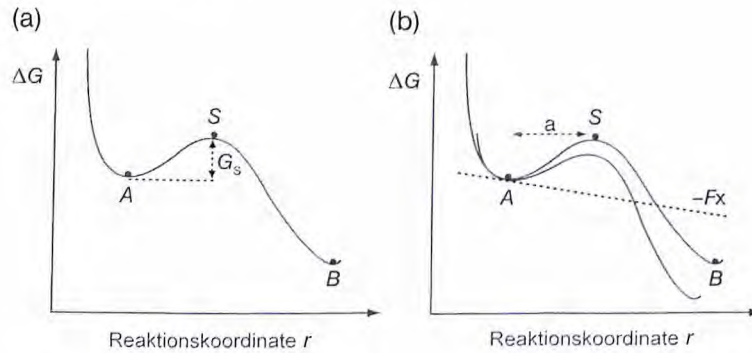


Abb. 8.12 Verlauf der Freien Enthalpie entlang der Reaktionskoordinate bei einem Bindungsbruch. Die Reaktion erfolgt vom Zustand A (hier bestehende Bindung) entlang des Reaktionspfads. Die höchste Freie Enthalpie wird am Punkt S erreicht, die freie Enthalpie der Aktivierung ist G_s .

(a) unbelastete Bindung; (b) Veränderung der Freien Enthalpie durch eine wirkende Kraft, die einen additiven Beitrag $-Fx$ zum Potenzial liefert. Die Freie Enthalpie des im Abstand a vom gebundenen Zustand liegenden Übergangszustands S wird um Fa abgesenkt.

beschrieben werden kann. In diesem Modell wird die Freie Enthalpie der Aktivierung um den Betrag $-Fa$ abgesenkt. Die Konstante a ist der räumliche Abstand zwischen Ausgangszustand A und Übergangszustand S (s. Abb. 8.12). Somit ergibt sich die Rate des Bindungsbruchs zu

$$k_F = \tau^{-1} \exp\left\{-\frac{G_S - Fa}{k_B T}\right\} = k_0 \exp\left\{\frac{Fa}{k_B T}\right\} = k_0 \exp\left\{\frac{F}{F_0}\right\} \quad (8.2)$$

Dieses einfache Modell beschreibt also tatsächlich die substanzielle Beschleunigung des Bindungsbruchs durch wirkende mechanische Kräfte. In der Formel wurde die charakteristische Kraft F_0 eingeführt, die sich aus dem Verhältnis von thermischer Energie und Abstand a ergibt. Die Dissoziationsrate einer Bindung steigt also mit der auf sie einwirkenden Kraft exponentiell an. Bei einer Kraft von F_0 ist die Dissoziationsrate um die Eulersche Zahl ($e = 2,71828, \dots$) beschleunigt. Die Konstante k_0 ist hierbei die Dissoziationsrate in Abwesenheit von externen Kräften.

Diese Beziehung hat sich bisher zur Beschreibung von hydrodynamischen Experimenten an einzelnen Bindungen bewährt. Hierbei wurden charakteristische Längen a im Bereich von 0,01 bis 0,3 nm gefunden. Die charakteristischen Kräfte liegen also im Bereich von 10 bis 400 pN.

In allen anderen Techniken werden zeitlich anwachsende Kräfte zum Brechen der Bindungen verwendet. Damit ist ein größerer Bereich an Kräften als in Flusskammern zugänglich. Ein Beispiel für Bindungsbruch unter zeitlich ansteigenden Kräften ist in Abbildung 8.13 gezeigt.

Bei der Anwendung konstanter Kräfte mithilfe hydrodynamischer Kräfte wird direkt die statistische Verteilung der Lebensdauern der Bindungen beobachtet. Bei zeitlich anwachsenden Kräften, d. h. allen Techniken, die auf Federn basieren,

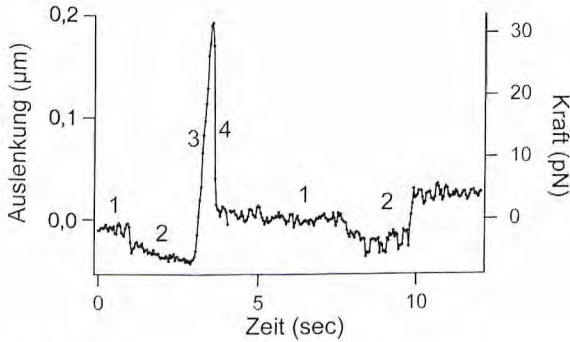


Abb. 8.13 Bruch einer einzelnen spezifischen Bindung durch Auslenkung einer Feder mit der Steifheit von $160 \mu\text{N/m}$. In diesem Experiment wurde die Mikropipetten-Aspirationstechnik (Abb. 8.10) verwendet. Ablauf der Messung: (1) die Feder ist frei; (2) die Feder berührt die gegenüberliegende Oberfläche mit dem komplementären Bindungspartner, damit

sich Bindungen bilden können; (3) die Feder wird zurückgezogen und gespannt; (4) die Bindung bricht. Die Bruchkraft von 32 pN führt zu einer deutlich messbaren Auslenkung. Gleichzeitig sind deutliche Fluktuationen der Auslenkung der freien Feder sichtbar. Daten aus Simson et al. 1999.

wird hingegen die Verteilung der Bruchkräfte gemessen. Die beiden Größen hängen allerdings direkt zusammen. Um dies zu sehen, betrachten wir die chemische Kinetik einer einzelnen Bindung unter Einfluss einer mechanischen Kraft. Für die Wahrscheinlichkeit $p(t)$, dass die Bindung zum Zeitpunkt t noch besteht, kann folgende Differenzialgleichung angegeben werden:

$$\frac{dp}{dt} = -k_F(t)p(t) + k_A(t)(1 - p(t)) \quad (8.3)$$

Hierbei hängen Dissoziationsrate k_F und Assoziationsrate k_A nur mittelbar von der Zeit ab, da es keine innere Kinetik auf der Zeitskala von Sekunden in einfachen Biomolekülen gibt. Die Zeitabhängigkeit der beiden Raten entsteht primär durch die zeitlich anwachsende Kraft F . Daher kann die Variable Zeit durch die Kraft F ersetzt werden. Die Anfangsbedingung dieser transformierten Differenzialgleichung ist, dass zur Zeit Null eine Bindung existierte, also $p(0) = 1$.

Es ergibt sich mit konstanter Rate der Kraftsteigerung \dot{f} , d. h. $F(t) = \dot{f}t$

$$\frac{dp}{dF} = \frac{1}{\dot{f}} \frac{dp}{dt} = \frac{1}{\dot{f}} [k_A(F)(1 - p(F)) - k_F(F)p(F)]$$

Wir betrachten hier den Fall, dass nur eine einzelne Bindung existierte. Daher werden die beiden Bindungspartner sofort nach dem Bruch der Bindung durch die mechanische Kraft voneinander entfernt. Deshalb können wir die Rückreaktion vernachlässigen und die Gleichung wie folgt vereinfachen:

$$\frac{dp}{dF} = -\frac{k_F(F)}{\dot{f}} p(F)$$

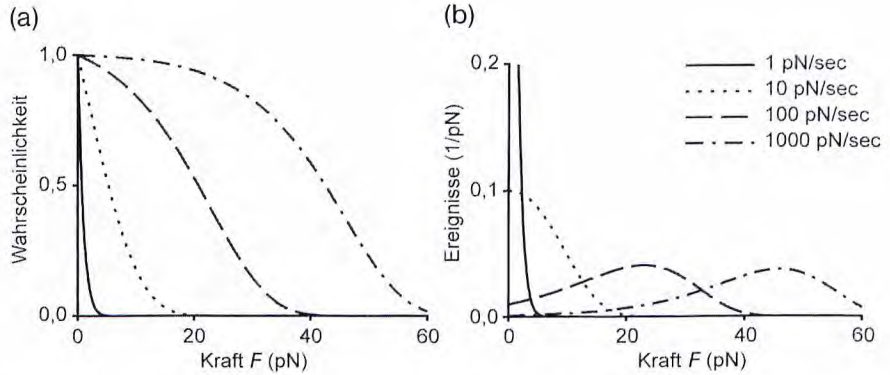


Abb. 8.14 Nach Gleichung (8.4) simulierte Daten für $k_0 = 1 \text{ sec}^{-1}$ und $F_0 = 10 \text{ pN}$. (a) „Überlebenswahrscheinlichkeit“ einer Bindung bis zur Kraft F , (b) Wahrscheinlichkeitsdichte, d. h. Histogramme, auf die Einheitsfläche normiert. Bei schneller Steigerung der Kraft ist die Wahrscheinlichkeit erhöht, dass die Bindung bis zu höheren Kräften „überlebt“.

mit der Lösung:

$$p(F) = \exp \left[-\frac{1}{\dot{f}} \int_0^F k_F(\zeta) d\zeta \right] = \exp \left[\frac{k_0 F_0}{\dot{f}} \left(1 - \exp \left\{ -\frac{F}{F_0} \right\} \right) \right] \quad (8.4)$$

Diese Gleichung gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass eine Bindung bis zur Kraft F „überlebt“ (Abb. 8.14). In der Praxis werden dagegen meistens die Verteilungen der Bruchkräfte angegeben. Diese sind einfach durch die Wahrscheinlichkeitsdichte der Bindungsbrüche, d. h. durch $-\frac{dp}{dF}$ gegeben.

Die charakteristische Kraft F_0 spielt in den Verteilungen der Bruchkräfte bei fester Rate der Kraftsteigerung keine prominente Rolle. Viel wichtiger ist die Rate der Kraftsteigerung selbst. Unterhalb einer Rate von $k_0 F_0$ sind die Verteilungen rein abfallende Funktionen, oberhalb dieser Rate weisen sie ein Maximum auf (Abb. 8.15).

Der Median der Bruchkräfte $F_{1/2}$, d. h. die Kraft, bei der die Hälfte der Bindungen gebrochen sind, ergibt sich aus Gleichung (8.4) zu

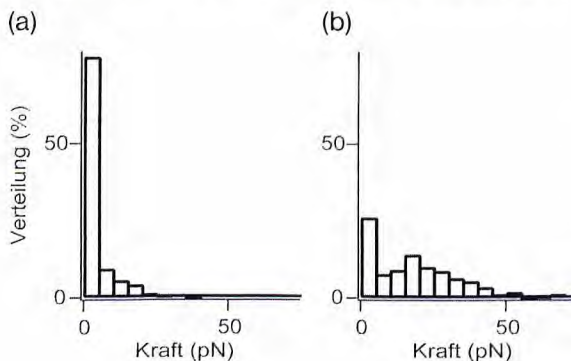


Abb. 8.15 Mit der Mikropipetten-Aspirationstechnik gemessene Verteilungen von Bruchkräften der Bindungen zwischen dem bakteriellen Oberflächen-Protein A und Antikörpern; (a) bei einer Rate von $2,8 \text{ pN/sec}$, (b) bei 75 pN/sec . Daten aus Simson et al. 1999.

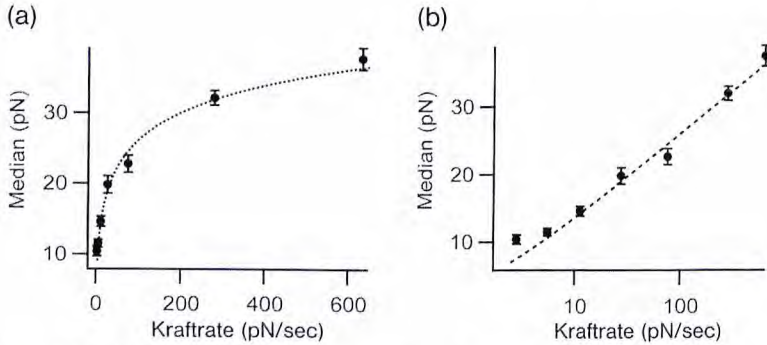


Abb. 8.16 Mit der Mikropipetten-Aspirationstechnik gemessene Mediane der Bruchkräfte zwischen dem bakteriellen Oberflächen-Protein A und Antikörpern (a, b). Aus der logarithmischen Abhängigkeit ergibt sich in

diesem Fall eine charakteristische Kraft F_0 von 5,6 pN. Die Abweichung vom logarithmischen Verhalten bei kleinen Krafraten ist von der Detektionsschwelle der Messtechnik hervorgerufen (b). Daten aus Simson et al. 1999.

$$F_{1/2} = F_0 \ln \left(1 + \frac{\dot{f}}{k_0 F_0} \ln 2 \right) \quad (8.5)$$

Dieselbe logarithmische Abhängigkeit von der Rate der Kraftsteigerung ergibt sich für die wahrscheinlichste Bruchkraft. Im Experiment werden tatsächlich diese logarithmischen Abhängigkeiten gefunden, die es erlauben, die charakteristische Kraft F_0 zu bestimmen (Abb. 8.16). Bitte beachten Sie, dass F_0 nicht mit der Freien Enthalpie der Bindung oder der Höhe der Aktivierungsenergie zusammenhängt. Stattdessen kann aus der kraftinduzierten Dissoziation von Bindungen der räumliche Abstand des gebundenen Zustands vom Übergangszustand der Reaktion bestimmt werden.

Eine wesentliche Schlussfolgerung aus diesen Überlegungen ist, dass eine einzelne, spezifische Bindung immer brechen wird, einzig die Zeitskala des Ereignisses wird durch die mechanische Kraft verändert. Eine stabile Bindung zum Beispiel zwischen einer Zelle und ihrer Umgebung kann daher nicht durch eine einzige Bindung erzeugt werden. Stattdessen sind hierzu viele spezifische Bindungen in räumlicher Nähe notwendig. In diesem Fall können sich auch neue Bindungen bilden, selbst wenn eine Kraft wirkt. Daher kann in dieser Situation eine Bindung auch bei einer endlichen Kraft zeitlich stabil sein. Ein stabiler Zustand ist erreicht, falls die Rate, mit der neue Bindungen gebildet werden, genauso groß ist wie die Rate, mit der bestehende Bindungen von der externen Kraft gebrochen werden. Für die Langzeitstabilität von Adhäsionen, die durch viele Bindungen stabilisiert werden, ist also die Neubildung von Bindungen der entscheidende Prozess. In der Tat werden Bindungen zwischen Zellen und ihrer Umwelt immer von vielen spezifischen Bindungen, die gleichzeitig in räumlicher Nähe bestehen, verursacht (s. Kapitel 13). Leider führt die Neubildung von Bindungen zu einer wesentlich komplizierteren chemischen Kinetik, für die keine analytische Lösung mehr angegeben werden kann. Daher soll dieser Aspekt hier nicht weiter vertieft werden.

8.2.1

Exkurs über die mechanische Stabilität der Proteinfaltung

Wie wir in Kapitel 7 sahen, werden die dreidimensionalen Konformationen der Proteine von denselben schwachen Wechselwirkungen aufrecht erhalten, die auch den spezifischen Bindungen zugrunde liegen. Die Umwandlungsenthalpien bei der thermischen Entfaltung von Proteinen sind auch von ähnlicher Größe wie die Bindungsenthalpien spezifischer Bindungen. Insgesamt erwarten wir also ein sehr ähnliches Verhalten für Bindungen und Proteinstrukturen unter mechanischer Belastung.

Experimentelle Untersuchungen der kraftinduzierten Entfaltung von einzelnen Proteinen begannen 1997 mit Untersuchungen an dem Riesemolekül Titin (s. Kapitel 20). Dieses besteht aus fast 300 globulären Untereinheiten. Der größte Teil des Moleküls besteht aus einer sich häufig wiederholenden Einheit aus nur zwei verschiedenen Domänen (Abb. 8.17). Da die dreidimensionale Struktur eines Proteins von denselben Wechselwirkungen kurzer Reichweite bestimmt wird, die spezifische Bindungen stabilisieren, können Proteine auch durch Anwendung mechanischer Kräfte entfaltet werden. Dabei bricht das Netzwerk aus Wasserstoffbrücken-Bindungen, das die Struktur der Domänen stabilisiert, in einer kooperativen Weise auf. Die Entfaltung einer einzelnen Domäne erfolgt also in einem Schritt.

Im Experiment wird das Titin-Molekül aus Lösung an ein Substrat adsorbiert und dann mit einer Nadel für die Rasterkraft-Mikroskopie berührt. Dies führt zur Adsorption des anderen Endes des Moleküls an das Material der Nadel (Abb. 8.18). Überraschenderweise sind diese spontan entstandenen Verbindungen zwischen Protein und Nadel mechanisch so stabil, dass Kräfte von mehreren Nanonewton durch Zurückziehen der Nadel ausgeübt werden können. Alternativ wurde dasselbe Experiment auch mit einer Mikrokugel, die in einer optischen Falle gehalten wurde, durchgeführt.

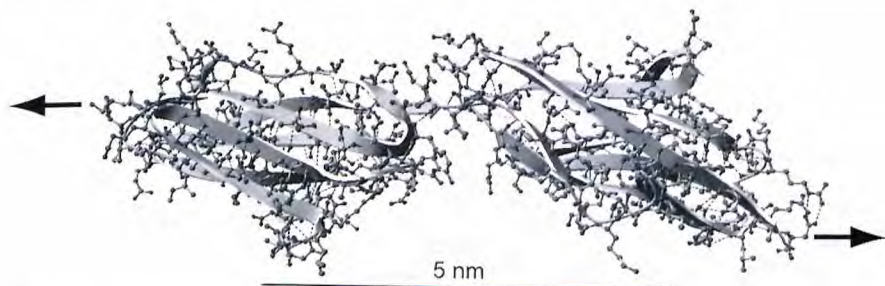


Abb. 8.17 Die Struktur von zwei aufeinanderfolgenden Domänen des Riesemoleküls Titin. Die kovalente Struktur der Domänen ist durch die Kugel-Stäbchen-Darstellung wiedergegeben, die Sekundärstruktur durch ein Bändermodell. Wasserstoffbrückenbindungen

stabilisieren die Struktur und sind durch unterbrochene Linien dargestellt. Beim mechanischen Entfalten wird die Kraft durch das Proteinrückgrat übertragen, daher sind die Kraftpfeile hier an den Enden des Proteinrückgrats gezeigt. PDB-Datensatz 2J8H.

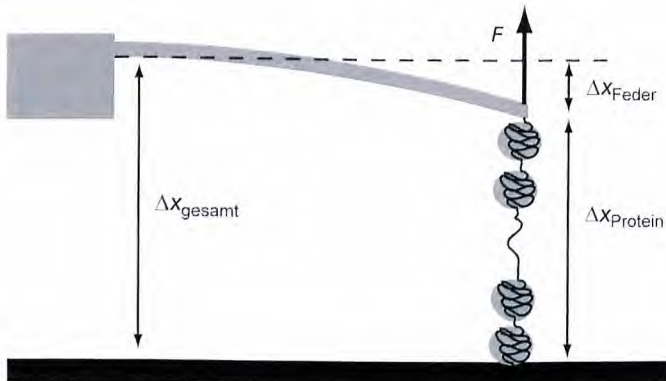


Abb. 8.18 Beim mechanischen Entfalten eines Proteins bleibt die Feder (grau) auch nach der Entfaltung durch das Proteinrückgrat (schwarze Linie) mit dem Substrat (schwarze Fläche) an welches das Protein physisorbiert verbunden. Daher können mehrere Domänen nacheinander entfaltet werden. Ebenso ist eine Rückfaltung der Domänen beim Nachlassen der Kraft möglich.

Bei der mechanischen Belastung des Moleküls wird die Kraft entlang des Protein-Rückgrats übertragen. Da die mechanische Entfaltung einer einzelnen Domäne ein kooperativer Prozess ist, verläuft sie analog zur mechanischen Dissoziation einzelner spezifischer Bindungen wie im vorherigen Abschnitt beschrieben. Allerdings gibt es einen entscheidenden Unterschied: Beim Brechen spezifischer Bindungen spielt die Rückreaktion keine Rolle, da die beiden Moleküle durch die wirkende Kraft sehr weit voneinander entfernt werden. Beim mechanischen Entfalten eines Proteins ist dies nicht der Fall, da das kovalente Rückgrat des Proteins auch nach der Entfaltung noch die Nadel des Rasterkraftmikroskops mit dem Substrat verbindet (s. Abb. 8.18).

Das entfaltete Stück des Proteins verhält sich wie ein Polymer mit Kettensteifigkeit. Solche Polymere werden auch semiflexibel oder wurmartig genannt. Im Kräftegleichgewicht in Abbildung 8.18 muss also nicht nur die Blattfeder des Rasterkraftmikroskops, sondern auch die Federwirkung des entfalteten Teils des Proteins berücksichtigt werden. Für die Kraft-Auslenkungskurve eines semiflexiblen Polymers haben Marko und Siggia folgende Gleichung hergeleitet [3]:

$$F(x) = \frac{k_B T}{l_p} \left(\frac{1}{4(1 - x/L_K)^2} - \frac{1}{4} + \frac{x}{L_K} \right) \quad (8.6)$$

wobei F die wirkende Kraft bezeichnet, x die Ausdehnung des Polymers, L_K seine Konturlänge und l_p seine Persistenzlänge. Diese ist ein Maß für die Biegesteifigkeit des Polymers und wird genauer in Kapitel 24 besprochen.

Im Experiment wird von außen der Abstand x_{gesamt} zwischen Substrat und Feder vorgegeben. Liegen j entfaltete Domänen vor, so ist die Federsteifigkeit des Proteins durch Gleichung (8.6) mit $L_K = jL_D$ gegeben. Dabei ist L_D die Konturlänge des Polymers in einer Domäne. Experimente liefern für eine Titin-Domäne

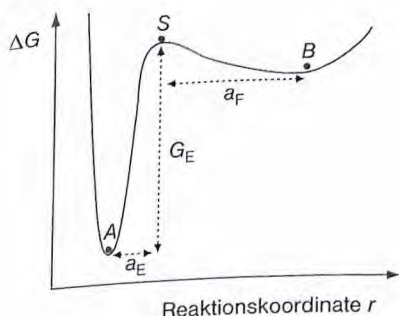


Abb. 8.19 Die Energielandschaft der Entfaltung einer Proteindomäne.

mäne $L_D = 32$ nm, während die gefaltete Domäne einen Durchmesser von 4 nm besitzt. In diesen Experimenten wurde auch die Persistenzlänge ermittelt. Es ergab sich $L_k = 0,4$ nm. Somit kann man für jede Zahl an entfaltenen Domänen und jeden von außen vorgegebenen Abstand x_{gesamt} die wirkende Kraft F durch die Serienschaltung der Blattfeder des Rasterkraftmikroskops und der effektiven Federsteifigkeit des entfaltenen Proteins (Gl. 8.6) berechnen.

Die Energielandschaft für die Entfaltungsreaktion ist sehr asymmetrisch (Abb. 8.19). Der gefaltete Zustand ist durch ein enges Minimum beschrieben (Ausdehnung von molekularer Dimension), während der entfaltete Zustand durch Gleichung (8.6) beschrieben werden kann.

Die Wahrscheinlichkeit p , dass eine einzelne Domäne noch gefaltet ist, ist durch folgende kinetische Gleichung gegeben:

$$\frac{dp}{dt} = -k_E(t)p(t) + k_F(t)(1 - p(t)) \quad (8.7)$$

Hierbei haben wir eine chemische Kinetik erster Ordnung angenommen, wobei k_E die Rate der Entfaltung und k_F die Rate der Faltung ist. Wie im Fall des Bindungsbruchs können wir für die beiden Reaktionsraten eine Kraftabhängigkeit herleiten. Diese beträgt:

$$\begin{aligned} k_E(F) &= k_{0,E} \exp\left\{\frac{Fa_E}{k_B T}\right\} \\ k_F(F) &= k_{0,F} \exp\left\{\frac{Fa_F}{k_B T}\right\} \end{aligned} \quad (8.8)$$

Der Verlauf der mechanischen Entfaltung eines Proteins aus N repetitiven Domänen kann durch eine einfache statistische Simulation berechnet werden. Dazu wird der Verlauf der Auslenkung x_{gesamt} vorgegeben. Zu jedem Zeitschritt werden die Domänen mit Wahrscheinlichkeiten nach Gleichungen (8.7) und (8.8) entfaltet oder gefaltet, aus der Zahl der entfaltenen Domänen die Konturlänge bestimmt und nach Gleichung (8.6) und der Serienschaltung der Federn die wirkende Kraft bestimmt. Aus einer solchen Simulation erhält man die wirkende Kraft als Funktion der Auslenkung (Abb. 8.20, 8.21). In der Tat war eine solche Simulation in

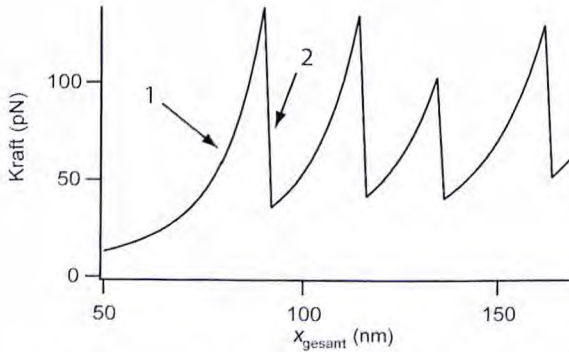


Abb. 8.20 Simulierte Daten für die kraftinduzierte Entfaltung von Titin. Verwendet wurde eine Steifigkeit der Blattfeder (Abb. 8.17) von 34 mN/m sowie eine Ziehgeschwindigkeit von 1 $\mu\text{m}/\text{sec}$. Gezeigt ist nur die Elongation des Proteins. Die Krümmung der Kurve in ansteigenden Flanken (1) ist durch die Steifigkeit der bereits entfaltenen Proteinkette (Gl. 8.7) gegeben. Aus der Form dieser Flanken können Persistenzlänge L_p und

Konturlänge L_K des bereits entfaltenen Proteinrückgrats bestimmt werden. Die abrupten Abfälle der Kraft (2) sind durch die Entfaltung jeweils einer Domäne bestimmt. Die Maxima der Kraft fluktuieren aufgrund der zufälligen Natur des Bindungsbruchs. Außerdem ist die mittlere Höhe dieser Maxima, genauso wie die Kräfte, die zum Brechen von spezifischen Bindungen notwendig sind, proportional zum Logarithmus der Kraftsteigerungsrate.

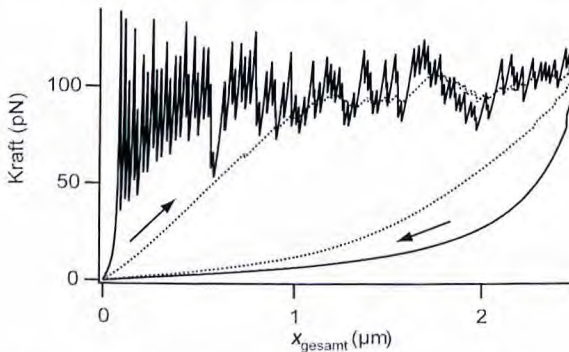


Abb. 8.21 Simulierte Daten für die Entfaltung von Titin. Die Parameter der Simulation sind dieselben wie in Abb. 8.20, außer der Steifigkeit der Feder. Für die durchgezogene Linie wurde 34 mN/m gewählt, was ein typischer Wert für eine Rasterkraftmikrosko-

pie-Feder ist; für die gepunktete Linie 0,1 mN/m. Letzteres ist ein typischer Wert für die Steifigkeit einer optischen Falle. Nach einer maximalen Auslenkung von 2,5 μm wurde die Bewegung der Feder umgekehrt. Man sieht hier also Entfaltung und Rückfaltung

der Lage, die verschiedenen gemessenen Entfaltungskurven sehr gut zu reproduzieren [4].

In den Abbildungen 8.20 und 8.21 sind Daten gezeigt, die nach dem hier skizzierten Algorithmus generiert wurden. In Abbildung 8.20 werden einzelne Entfaltungsereignisse mit Parametern, die für ein Rasterkraftmikroskopie-Experiment typisch wären, dargestellt. Sie sind bis auf das zusätzliche Rauschen der experi-

mentellen Daten ununterscheidbar von echten Messkurven [5]. Die Blattfeder des Rasterkraftmikroskops ist sehr viel steifer als die bereits entfaltete Polypeptidkette. Daher fällt die wirkende Kraft deutlich ab, sobald eine einzige Domäne entfaltet und dadurch die Polymerkette verlängert wird. Damit wird die Entfaltung einer zweiten Domäne sehr unwahrscheinlich, bis die Bewegung des Rasterkraftmikroskops die zusätzliche Polymerlänge wieder kompensiert hat. Rückfaltung ist aufgrund des sehr großen Werts von a_F (einige Nanometer) bei Kräften von einigen 10 pN sehr effektiv unterdrückt. In Abbildung 8.21 ist der gesamte Entfaltungszyklus gezeigt. Man erkennt, dass die Kraftsprünge mit wachsender Entfaltung des Proteins immer geringer werden. Dies liegt daran, dass bei einer sehr langen, entfalteten Polypeptidkette der Längenzuwachs durch die Entfaltung einer zusätzlichen Domäne nur noch geringe Steifigkeitsänderungen bewirkt. Die Kurve wird also mit wachsender Länge der entfalteten Polymerkette immer „verwaschener“. In Abbildung 8.21 ist zudem ein zweiter Satz Daten, der mit einer sehr geringen Steifigkeit der Blattfeder (0,1 mN/m, ein typischer Wert für eine optische Falle) simuliert wurde. Man erkennt hier die einzelnen Entfaltungsereignisse sehr viel schlechter. Die Amplituden der ansteigenden Flanken sind jetzt so klein, dass es im Experiment nicht möglich ist, die Parameter des semiflexiblen Polymers zu bestimmen.

Diese Simulation zeigt einen interessanten Aspekt auf: Die Ergebnisse dieser Entfaltungsexperimente werden besonders leicht und genau interpretierbar, wenn man eine steife Feder benutzt, da dann die Variation der Kräfte durch Entfalten einer Domäne besonders groß wird. Der Preis, den man als Experimentator für die Interpretierbarkeit der Daten zahlen muss, ist die Notwendigkeit einer sehr genauen Bestimmung der Auslenkung der Feder. Diese ist bei der Raster sondentechnologie mit ca. 60 pm Grundrauschen des Geräts sehr gut, worauf letztendlich der große Erfolg der Technik beruht.

8.2.2

Mechanisches Brechen der Basenpaarung in DNA

Wir hatten in Kapitel 7 bereits gesehen, dass das Schmelzen der DNA ein Prozess mit sehr großer Ähnlichkeit zur Faltung von Proteinbereichen ist. Diese Ähnlichkeit findet sich auch im Verhalten unter mechanischer Belastung wieder. DNA ist hervorragend geeignet für mechanische Experimente, da es aufgrund der vielen, sehr gut etablierten gentechnischen Verfahren für fast jede Manipulation an diesem Molekül Enzyme im Handel gibt. Die große Länge der DNA (üblich ist λ -Phagen-DNA mit einer Länge von 16 μm) ist zudem hilfreich für mechanische Experimente.

In Abbildung 8.22 wird eines der ersten Experimente dieser Art beschrieben. Es gelang hier, die komplementären Stränge der DNA über viele Mikrometer Länge mechanisch zu separieren und wieder rückzubinden. In diesem Fall beobachteten die Autoren aber im Gegensatz zu den vorhergehenden Experimenten zur Entfaltung von Proteinen ein reversibles Verhalten beim Aufbrechen und Rückbinden. Dies liegt daran, dass beim Übergang zwischen separiertem und gepaar-

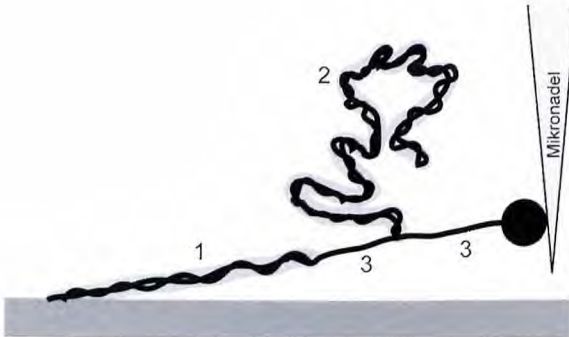


Abb. 8.22 Skizze des Experiments von Essevaz-Roulet und Mitarbeitern zum mechanischen Schmelzen der DNA [6]. Doppelsträngige λ -Phagen-DNA (1) wurde an einem Ende an einem Deckglas fixiert. An das andere Ende dieses Strangs wurde eine der beiden Ketten eines weiteren DNA-Strangs (bestehend aus Bereichen 2 und 3) kovalent gebunden. Die zweite Kette dieses DNA-Strangs wurde kovalent an eine Mikrokugel

und diese wiederum an eine Mikronadel gekoppelt. Die Mikronadel wirkt als sehr weiche Feder (Steifheit $1,7 \mu\text{N/m}$). Durch Bewegen des Deckglases von der Mikronadel weg können Kräfte ausgeübt werden. Die Auslenkung der Mikronadel wird mit einem Lichtmikroskop gemessen. Doppelsträngige (1, 2) DNA ist grau unterlegt, einzelsträngige (3) nicht. Beim Wegziehen der Nadel wird der Strang 2 getrennt.

tem Bereich (Bereiche 2 und 3 in Abb. 8.22) stets ein gebundenes Basenpaar direkt an ein nicht gebundenes grenzt. Beim Rückbinden sind die Reaktionspartner also bereits nah benachbart und in der richtigen Geometrie für die Reaktion. Es gibt hier auch keine nennenswerte enthalpische Barriere für Rückbindung, die überwunden werden müsste. Daher kann der Verlauf der mechanisch getriebenen Auftrennung der DNA durch ein thermodynamisches Gleichgewicht beschrieben werden. Es gibt hier drei Beiträge zur Freien Enthalpie G : (1) Die Mikronadel als sehr weiches harmonisches Potenzial, (2) die Steifigkeit der DNA, die durch das Integral von Gleichung (8.6) beschrieben werden kann, und (3) die Freie Enthalpie der Basenpaarung. Da der Beitrag der Basenpaarung von der lokalen Sequenz der DNA abhängt, ist der Beitrag (3) sequenzabhängig.

Im Experiment wird das Deckglas zur Seite bewegt und die Auslenkung der Nadel, d. h. die wirkende Kraft gemessen. Um diese Größe zu berechnen, wird die oben skizzierte Freie Enthalpie als Funktion der bereits aufgetrennten DNA-Länge geschrieben. Diese ist eine Funktion der Verschiebung des Endes des DNA Strangs und enthält die Auslenkung der Nadel als freien Parameter. Diese Größe ist völlig analog zur mikroskopischen Freien Enthalpie einer Proteinkonformation, die wir in Kapitel 7 zur Beschreibung der Faltung von Proteinen eingeführt hatten. Die Wahrscheinlichkeit, dass bei einer festgehaltenen Verschiebung des Endes der DNA ein bestimmter Entfaltungszustand (gegeben durch die Länge des entfaltenen Strangs und die Auslenkung der Feder) eingenommen wird, ist gegeben durch $\exp(-G / k_B T)$. Mit dieser Wahrscheinlichkeitsdichte können mittlere Auslenkungen der Feder und die Fluktuation der Feder berechnet werden.

In Experiment und Rechnung erhielten die Autoren Kräfte von ungefähr 12 pN mit einer Fluktuation von 1 pN. Die Fluktuationen der Kräfte um den Mittelwert waren reproduzierbar und sind von der gerade zu entfaltenden Sequenz bestimmt. Aufgrund der Weichheit der verwendeten Federn (Mikronadel und verbindende DNA-Stränge) wird allerdings der lokale Gehalt der DNA an Guanosin-Cytosin-Paaren (d. h. die Sequenz) effektiv über eine Länge von 100 Basenpaaren gemittelt. Wie in Übungsaufgabe 8.3 gezeigt wird, ist die Ursache dieser großen Fluktuation die Weichheit der Mikronadel und der langen, bereits entfalteten DNA-Segmente.

Aus Experimenten zum thermischen Schmelzen der DNA ist bekannt, dass zum Brechen eines Guanosin-Cytosin-Paars eine Freie Enthalpie von 12 kJ/mol notwendig ist. Der entsprechende Wert für ein Adenosin-Thymin-Paar beträgt 6,3 kJ/mol. Die Öffnung eines Basenpaares verlängert den gesamten DNA-Strang um ca. 1 nm. Dies würde Kräften von 20 pN für ein Guanosin-Cytosin-Paar und 10 pN für ein Adenosin-Thymin-Paar entsprechen. Daher ist die gemessene Kraft von 12 pN in der richtigen Größenordnung für eine Kraft im thermodynamischen Gleichgewicht. Da im Mittel beide Paare fast gleich häufig vorkommen, würde man eine Kraft von 15 pN erwarten. Die verbleibende Abweichung dürfte zu gleichen Teilen auf experimentelle Unsicherheit der mechanischen und der thermodynamischen Experimente zurückzuführen sein.

8.3

Thermisch fluktuierende Federn: der Brownsche Oszillator

In Experimenten zum Brechen einzelner Bindungen werden sehr kleine Kräfte gemessen. Zur Ausübung dieser Kräfte werden im Allgemeinen sehr weiche Federn benutzt. Aufgrund ihrer Weichheit bewegen sich diese Federn schon unter Einfluss der thermischen Energie (Abb. 8.23).

Ganz ähnliche Phänomene spielen sich in lebenden Zellen und in Modellsystemen ab. Zum Beispiel besitzen Biomembranen und viele Biopolymere eine so geringe Steifheit, dass thermisch getriebene Fluktuationen schon im Lichtmikroskop deutlich sichtbar sind (siehe Kapitel 11 und 25). Da der Brownsche Oszillator das einfachste unter Einfluss der thermischen Energie fluktuierende System ist, wollen wir hier thermische Fluktuationen an diesem Beispiel behandeln (Abb. 8.24).

Auf den Brownschen Oszillator der Masse m wirken folgende Kräfte:

Beschleunigung $m\ddot{x}$

Reibung $-\gamma\dot{x}$

Rückstellkraft der Feder $-kx$

Zufällige Kraft durch Stöße $F_M(t)$

Da nach den Newtonschen Gesetzen die Beschleunigungskraft allen anderen Kräften gleich sein muss, ergibt sich als Differenzialgleichung des Brownschen Oszillators: $m\ddot{x} = -\gamma\dot{x} - kx + F_M(t)$

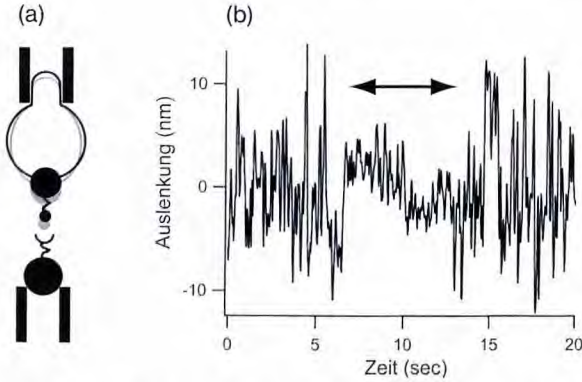


Abb. 8.23 Bildung und Bruch einer einzelnen spezifischen Bindung durch thermische Fluktuationen einer Feder mit der Steifheit von $160 \mu\text{N/m}$. a) Prinzip der Messung: Die in Abbildung 8.10 gezeigte Kraftsonde wird so nahe an eine zweite, mit komplementären Bindungspartnern beschichtete Mikrokugel gebracht, dass thermische Auslenkungen der Feder zur Bildung einer Bindung führen

können. Aus den vielen durch thermische Anregung erreichbaren Zustände der Kraftsonde sind zwei beliebige in schwarz und grau skizziert. b) Die Anwesenheit einer Bindung ist deutlich durch verringerte Fluktuationen der Kraftsonde sichtbar. Der Doppelpfeil markiert den Zeitraum, während dessen eine Bindung bestand. Daten aus Simson et al. 1999.

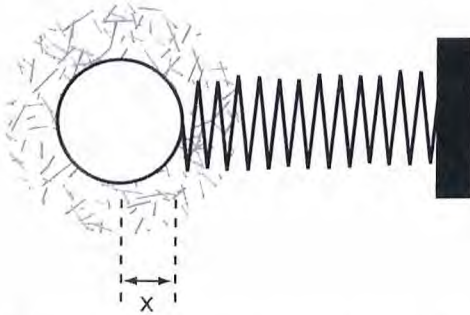


Abb. 8.24 Ein Brownscher Oszillator besteht aus einer Masse, die durch eine Feder an einem Ort gehalten wird. Auslenkungen x von der Ruhelage erzeugen eine rücktreibende Kraft. Durch die Stöße mit den Molekülen des umgebenden Mediums (symbolisiert durch

die grauen Geschwindigkeitsvektoren) erfährt die Masse sowohl Dämpfung als auch eine zufällige Kraft. Die Dämpfung ergibt sich als Mittelwert der Kräfte durch Stöße mit der Umgebung, die fluktuierende Kraft beschreibt die Schwankung dieser Kräfte.

die sich als Gleichung eines durch eine fluktuierende Kraft getriebenen Oszillators schreiben lässt:

$$m\ddot{x} + \gamma\dot{x} + kx = F_M(t) \quad (8.9)$$

Die hier vorgenommene Aufteilung der auf den Oszillator wirkenden Kraft in einen deterministischen Mittelwert (Reibung und Rückstellkraft) und eine zeitlich fluktuierende zufällige Kraft ist der entscheidende Schritt in der Herleitung

von Gleichung (8.9). Es handelt sich um eine so genannte *Langevin-Gleichung*. In dieser Beschreibung der Zufallsbewegung wird die zufällige Bewegung eines Partikels im Lauf der Zeit betrachtet. Aus vielen solchen Zufallstrajektorien können am Ende Erwartungswerte, zum Beispiel für die im Mittel im Oszillator gespeicherte Energie, berechnet werden. Wir hatten bereits in Kapitel 7 mit der Kramersschen-Theorie der chemischen Reaktionen die komplementäre Beschreibung kennengelernt. In der Kramersschen Theorie werden anstelle von Zufallstrajektorien einzelner Teilchen Wahrscheinlichkeitsdichten für das Auffinden von Teilchen zu bestimmten Zeiten berechnet. Eine solche Beschreibung von Zufallsbewegungen führt im allgemeinen Fall zur Fokker-Planck-Gleichung, die die Evolution der Wahrscheinlichkeitsdichten beschreibt. Natürlich liefern beide Beschreibungen dieselben Ergebnisse.

Im Weiteren werden wir nur den überdämpften Grenzfall von Gleichung (8.9) behandeln, da er praktisch sehr wichtig ist und wir daran schon die wesentlichen Aspekte behandeln können. Der überdämpfte Grenzfall ergibt sich für sehr große Dämpfungsraten aus Gleichung (8.9) durch Vernachlässigung der zweiten Ableitung:

$$\dot{x} + \frac{x}{\tau} = \frac{F_M(t)}{\gamma} \quad (8.10)$$

hierbei ist $\tau = \frac{\gamma}{k}$ die Relaxationszeit, mit der eine Auslenkung des überdämpften Oszillators abklingt. Für die meisten mechanischen Messgeräte liegen die Zeitkonstanten im Bereich von Sekunden bis Mikrosekunden. Selbst für langwellige Moden von Proteinen liegen die Zeitkonstanten im Bereich von einer Nanosekunde.

Im Folgenden werden wir die Zeitskala der fluktuierenden Kraft abschätzen. Die fluktuierende Kraft F_M ist der zufällige Anteil der Kraft, die durch die Stöße der Moleküle des umgebenden Mediums mit dem Brownschen Oszillator entsteht. Die zufällige Kraft hat zwei charakteristische Zeitskalen. Diese sind die Dauer eines einzelnen Stoßes und die Häufigkeit der Stöße.

Die Häufigkeit dieser Stöße lässt sich mit der gaskinetischen Theorie abschätzen. Hierzu betrachten wir ein beliebiges, kleines Stück aus der Oberfläche des Brownschen Oszillators und folgen den üblichen Annahmen der gaskinetischen Theorie. Es wird angenommen, dass alle Atome sich mit derselben Geschwindigkeit v bewegen. Die Zahl der Stöße auf eine Fläche A pro Zeit beträgt:

$$\dot{n} = \frac{1}{6} A c v$$

Hierbei steht c für die Dichte der Teilchen des umgebenden Mediums. Der Faktor $1/6$ entsteht, da sich jedes Atom auf den drei räumlichen Achsen vorwärts oder rückwärts bewegen kann, d. h. da jedes Atom sechs mögliche Bewegungsrichtungen hat und nur eine davon zum Stoß mit der Oberfläche führt.

Die mittlere Geschwindigkeit eines Teilchens entlang einer Koordinatenachse kann leicht berechnet werden, da keine potenziellen Energien, sondern nur die kinetische Energie vorkommt.

$$v = \frac{\int_0^{\infty} \frac{p}{m} \exp\left(-\frac{p^2}{2mk_B T}\right) dp}{\int_0^{\infty} \exp\left(-\frac{p^2}{2mk_B T}\right) dp} = \sqrt{\frac{2k_B T}{\pi m}}$$

Als erstes Beispiel betrachten wir Luft als umgebendes Medium. Der Einfachheit halber verwenden wir die Parameter für Stickstoff. Ein Mol eines Gases füllt bei 0 °C 22,4 l. Daher ist die Dichte des Gases $c \approx 2,7 \cdot 10^{25} \text{ m}^{-3}$. Die gaskinetische Geschwindigkeit von Stickstoff (Molekulargewicht 28 g/mol) beträgt bei 0 °C 227 m/sec. Daher ergibt sich

$$\frac{\dot{n}}{A} = 1,02 \cdot 10^{27} \frac{1}{\text{m}^2 \text{ sec}}$$

d. h. selbst in Luft ergibt sich ungefähr ein Stoß pro Nanosekunde und Quadratnanometer.

Als zweites Beispiel betrachten wir Wasser als Medium. Hier beträgt die Dichte $3,34 \cdot 10^{28} \text{ m}^{-3}$ und die gaskinetische Geschwindigkeit 283 m/sec. Somit ergibt sich $\frac{\dot{n}}{A} = 1,6 \cdot 10^{30} \frac{1}{\text{m}^2 \text{ sec}}$, d. h. im wesentlich dichteren Medium Wasser ergibt sich etwas mehr als ein Stoß pro Pikosekunde und Quadratnanometer.

Eine Obergrenze für die Zeitdauer eines einzelnen Stoßes ergibt sich aus der Zeit, die ein Molekül benötigt, um sich eine atomare Distanz mit der gaskinetischen Geschwindigkeit zu bewegen. Daher findet ein einzelner Stoß auf einer Zeitskala unterhalb einer Pikosekunde statt.

Aus diesen Überlegungen folgt, dass selbst für Objekte, die nur einen Nanometer groß sind, die Brownschen Kräfte aus einer extrem schnellen Abfolge von sehr kurzen Stößen bestehen. Auf der charakteristischen Zeitskala mechanischer Messgeräte erfolgen diese Stöße praktisch unendlich schnell. Dies ist sogar für Bewegungsmoden von Proteinen, bei denen sich ganze Bereiche der Proteine gegeneinander bewegen, eine sehr gute Näherung. Hier sind die sich bewegenden Proteinteile von mehreren Nanometern Größe und bewegen sich gegeneinander mit Perioden der Eigenschwingungen, die zumindest einige Pikosekunden betragen.

Die einfachste Annahme für das Spektrum der zufälligen Kraft ist so genanntes „weißes Rauschen“. Ein Signal, das nur weißes Rauschen umfasst, weist keinerlei zeitliche Korrelation auf. Es besitzt in jedem Frequenzintervall dieselbe Energie, d. h. das Betragsquadrat seiner Fourier-Transformierten ist konstant im gesamten Frequenzraum. Dies ist natürlich eine Näherung, die reale Leistung der fluktuierenden Kraft im Frequenzraum fällt bei Frequenzen, die der Dauer und der Wiederholrate der Stöße entsprechen, ab.

Der zeitliche Verlauf der fluktuierenden Kraft $F_M(t)$ und daher auch jede einzelne Trajektorie des Brownschen Oszillators $x(t)$ sind zufällig und daher schwer zu interpretieren. Experimentell gut verwertbare Ergebnisse erhält man stattdessen für die Mittelwerte dieser Größen im Frequenzraum. Die Fourier-Transformierte ist im Folgenden durch eine Tilde über dem jeweiligen Symbol bezeichnet. Es gilt:

$$\tilde{x}(\omega) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \exp(i\omega t) dt \text{ und } x(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} \tilde{x}(\omega) \exp(-i\omega t) d\omega$$

Für die Differenzialgleichung des Brownschen Oszillators ergibt sich aus (8.10) im Frequenzraum:

$$-i\omega\tilde{x} + \frac{\tilde{x}}{\tau} = \frac{\tilde{F}_M}{\gamma} \quad (8.11)$$

bzw.

$$\tilde{x} = \frac{\tilde{F}_M}{\gamma(\tau^{-1} - i\omega)}$$

Die Fourier-Transformierte einer Zufallsfunktion ist ebenfalls eine zufällige Größe. Das Leistungsspektrum, d.h. das Betragsquadrat der Fouriertransformierten, ist dies aber nicht. Bei ausreichender Messdauer kann es in Experimenten zuverlässig und wiederholbar bestimmt werden. Für das Leistungsspektrum des Brownschen Oszillators ergibt sich:

$$|\tilde{x}|^2 = \frac{|\tilde{F}_M|^2}{\gamma^2(\tau^{-2} + \omega^2)} \quad (8.12)$$

Diese Gleichung besagt, dass der Oszillator als mechanischer Filter wirkt, der aus den vorhandenen Beiträgen der fluktuierenden Kraft denjenigen Teil herausfiltert, dem der Oszillator folgen kann.

Zur Analyse des Frequenzspektrums der fluktuierenden Kraft betrachten wir ein Zeitintervall T_D , das sehr viel größer als alle charakteristischen Zeitskalen des Brownschen Oszillators ist. Da die fluktuierende Kraft ein stationärer statistischer Prozess ist, erhalten wir bis auf die Mittelungsunsicherheit in jedem Zeitintervall ausreichender Dauer identische Ergebnisse. Daher können wir auch annehmen, dass alle Funktionen in diesem Problem (fluktuierende Kraft F_M und Auslenkung x) außerhalb dieses Intervalls verschwinden. Dieser Trick ist notwendig, um auf einfachem Weg konvergente Ergebnisse zu erhalten.

Nach dem Gleichverteilungssatz der statistischen Wärmelehre ist jeder harmonische Freiheitsgrad im Mittel mit einer Energie von $k_B T/2$ angeregt, d.h. es gilt für die potenzielle Energie der Feder mit Federkonstante k :

$$\left\langle \frac{k}{2} x^2 \right\rangle = \frac{k_B T}{2}$$

Somit ist für jedes genügend lange Zeitintervall T_D das Integral über x^2 proportional zur Dauer des Intervalls. Nach dem Parsevalschen Theorem gilt weiterhin:

$$\int_{-\infty}^{\infty} |x(t)|^2 dt = \int_{-\infty}^{\infty} |\tilde{x}(\omega)|^2 d\omega$$

Da die beiden Integrale proportional zum Intervall T_D sind, divergieren sie bei unendlicher Messdauer. Ihr Zeitmittel ist aber endlich. Für dieses gilt:

$$\langle x^2 \rangle = \frac{1}{T_D} \int_{-\infty}^{\infty} |x|^2 dt = \frac{1}{T_D} \int_{-\infty}^{\infty} |\tilde{x}(\omega)|^2 d\omega = \int_{-\infty}^{\infty} \frac{|\tilde{F}_M(\omega)|^2}{T_D} \frac{1}{\gamma^2(\tau^{-2} + \omega^2)} d\omega \quad (8.13)$$

Da die Stöße mit dem umgebenden Medium extrem schnell erfolgen, kann die fluktuierende Kraft als weißes Rauschen angenähert werden, d. h. ihr Leistungsspektrum ist konstant. Es gilt also:

$$\frac{|\tilde{F}_M(\omega)|^2}{T_D} = B$$

wobei B eine immer noch zu bestimmende Konstante ist. Die Länge des Intervalls taucht hier auf, da auch hier, wie im Fall der Auslenkung, nur das Zeitmittel definiert ist. Das Integral über das Spektrum des harmonischen Oszillators beträgt:

$$\int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{\gamma^2(\tau^{-2} + \omega^2)} d\omega = \frac{\pi\tau}{\gamma^2} = \frac{\pi}{k\gamma}$$

Hierbei haben wir die Definition der Relaxationszeit τ verwendet.

Es ergibt sich also aus Gleichung (8.13):

$$\langle x^2 \rangle = B \frac{\pi}{k\gamma}$$

Da die mittlere quadratische Auslenkung des Brownschen Oszillators aber bereits durch den Gleichverteilungssatz festgelegt ist, kann aus dieser Beziehung die Stärke der fluktuierenden Kraft, genauer gesagt der Faktor B , berechnet werden. Es ergibt sich:

$$B = \gamma \frac{k_B T}{\pi}$$

Die Stärke des Rauschens hängt also nur von der Temperatur und der Dämpfung des Brownschen Oszillators ab. Entgegen jeder Intuition wächst die fluktuierende Kraft mit der Dämpfung. Diese Beziehung ist ein Spezialfall des generelleren Fluktuations-Dissipations-Theorems der statistischen Physik (siehe z.B. die in Kapitel 3 zitierten Lehrbücher von Becker und Reif).

Für das mittlere Leistungsspektrum des Brownschen Oszillators ergibt sich also insgesamt:

$$\langle \tilde{x}^2 \rangle = \frac{1}{\pi\gamma} \frac{k_B T}{\tau^{-2} + \omega^2} \quad (8.14)$$

Ohne Herleitung sei hier noch das analoge Ergebnis für den allgemeinen Brownschen Oszillator (Gleichung 8.9) genannt:

$$\langle \tilde{x}^2 \rangle = \frac{1}{E} \frac{\gamma k_B T}{(k - m\omega^2)^2 + \gamma^2 \omega^2} \quad (8.15)$$

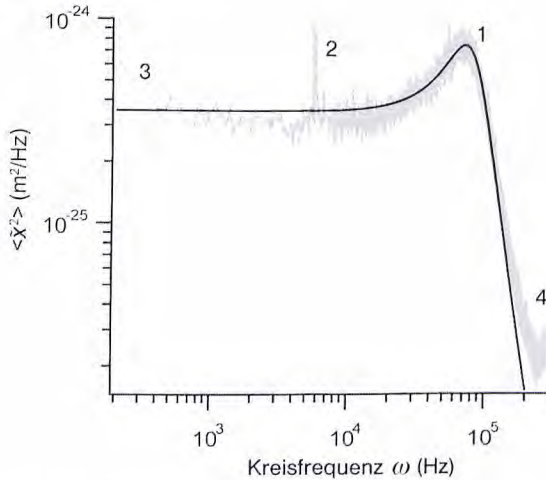


Abb. 8.25 Das gemessene Leistungsspektrum der Fluktuationen der Spitze eines Raster-Kraftmikroskops (graue Linie). Überlagert ist das an die Daten angepasste Spektrum eines Brownschen Oszillators (Gl. 8.16) mit $\gamma = 0,27 \mu\text{N sec/m}$, $k = 31 \text{ mN/m}$ und $m = 4,3 \text{ ng}$. Die Resonanz liegt bei $\omega_0 = 85 \cdot 10^3 \text{ sec}^{-1}$, dies Wurzel der mittleren quadratischen Auslenkung beträgt in diesem Fall $0,36 \text{ nm}$. Eine Resonanzüberhöhung ist deutlich sichtbar (1), die Leistungsspitze (2) und der Anstieg (3) bei sehr niedrigen Frequenzen sind Artefakte der Elektronik, die bei sehr

niedrigen Frequenzen driften (3) und selbst eine Resonanz (2) aufweist. Bei noch höheren Frequenzen sind zusätzliche schwächere Maxima sichtbar, die auf höhere Moden der Feder zurückzuführen sind. Es handelt sich wahrscheinlich um Torsionsmoden. Diese führen zu Abweichungen bei hohen Frequenzen (4). Ähnliche Abweichungen vom einfachen Spektrum eines harmonischen Oszillators werden bei fast allen Systemen gefunden. Unveröffentlichte Daten von S. Dielweit und R. Merkel.

Diese Leistungsspektren können sehr wohl gemessen werden. Ein Beispiel zeigt Abbildung 8.25. Bitte beachten Sie, dass im Experiment oft einseitige Spektren bestimmt werden, d.h. nur positive Kreisfrequenzen betrachtet werden. Dies beinhaltet keinen Informationsverlust, da die Fourier-Transformierte einer reellwertigen Funktion $\tilde{f}(\omega) = \tilde{f}^*(-\omega)$ erfüllt. Hierbei steht der Stern für das konjugiert Komplexe. Allerdings sind diese einseitigen Leistungsspektren dann genau das Doppelte unserer Ausdrücke.

Auch in Proteinen werden Schwingungsmoden gefunden, die sehr gut als überdämpfte Brownsche Oszillatoren beschrieben werden können. Viele Enzyme zeigen eine Struktur mit zwei größeren Domänen, die über eine Gelenkregion verbunden sind. In diesem Zusammenhang ist Alkoholdehydrogenase ein sehr gut untersuchtes Beispiel. Dabei kann die in Abbildung 8.26 skizzierte Schermode in Molekulardynamik-Simulationen (s. Kapitel 7) oder durch inelastische Neutronenstreuung untersucht werden.

Ganz allgemein sind Moden langer Reichweiten von Biomolekülen überdämpft. Dies ist in der Kleinheit der Moleküle begründet. Für einen gedämpften mechanischen Oszillator, Gleichung (8.9), sind die Lösungen gedämpfte

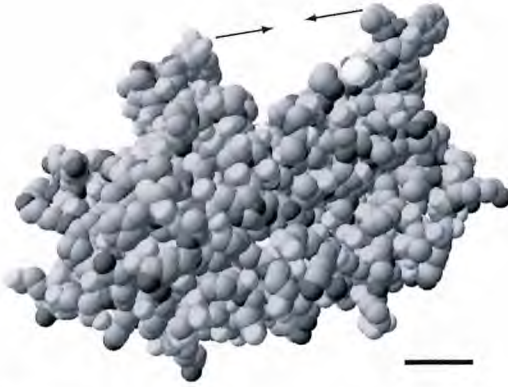


Abb. 8.26 Alkoholdehydrogenase besteht aus zwei Untereinheiten, die sich in einer Scherschwingung, ähnlich einer Stimmgabel, gegeneinander bewegen. Skala: 1 nm. Pfeile: Bewegungsrichtung der Domänen in der Scherschwingung. PDB-Datensatz 2HCY.

Schwingungen mit einer Resonanzkreisfrequenz $\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}}$ und einer Abklingrate von $\Gamma = \frac{\gamma}{2m}$. Die Schwingung ist überdämpft, wenn:

$$\frac{\Gamma}{\omega_0} = \frac{\gamma}{2\sqrt{mk}} > 1$$

Diese Größen skalieren mit der Größe r des Systems wie folgt $\gamma \propto r$, $m \propto r^3$ und $k \propto r$. Die Dämpfung skaliert wegen der Stokeschen Formel für die Reibung einer Kugel mit Radius r in einem Lösungsmittel mit Viskosität η , $\gamma = 6\pi\eta r$, linear mit der Größe des Systems. Dass Steifheit ebenfalls mit der linearen Dimension skaliert, macht man sich am einfachsten anhand der uniaxialen Dehnung eines elastischen Quaders klar. Dessen Steifheit ist proportional zum Verhältnis aus Querschnittsfläche zu Länge, also proportional zur linearen Dimension. Diese Skalierung bricht natürlich auf der Längenskala der Bindungen zusammen, da dann der Elastizitätsmodul nicht mehr definiert ist. Insgesamt ergibt sich also folgende Skalierung:

$$\frac{\Gamma}{\omega_0} \propto \frac{1}{r}.$$

Ein sehr kleines System ist also normalerweise überdämpft. Dies zeigt wie wichtig der überdämpfte Brownsche Oszillator (Gl. 8.13) für die biologische Physik ist.

8.4

Literatur

- 1 Fischer, E. (1894) Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **27**, 2984–2993.
- 2 Koshland, D.E. (1958) Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **44**, 98–104.
- 3 Marko, J.F., Siggia, E.D. (1995) Stretching DNA. *Macromolecules*, **28**, 8759–8770.
- 4 Rief, M., Fernandez, J.M., Gaub, H.E., (1998) Elastically coupled two-level systems as a model for biopolymer extensibility. *Physical Review Letters*, **81**, 4764–4767.
- 5 Rief, M., Gautel, M., Oesterhelt, F., Fernandez, J.M., Gaub, H.E. (1997) Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM. *Science*, **276**, 1109–1112.
- 6 Essevaz-Roulet, B., Bockelmann, U., Heslot, F. (1997) Mechanical separation of the complementary strands of DNA. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, **96**, 11935–11940.

8.5

Weiterführende Literatur

Zum Prinzip der spezifischen Bindung

Jedes gute Lehrbuch der Biochemie und molekularen Zellbiologie erklärt das Prinzip der spezifischen Bindung. Die folgenden beiden Bücher sind als Beispiele genannt.

Berg, J.M., Tymoczko, J.L., Stryer, L. (2007) *Biochemie*, Spektrum Akademischer Verlag, Berlin.

Alberts, B. Bray, D. Lewis, J. (2008) *Molecular biology of the cell*, Garland Science, New York. Das folgende Buch beschreibt spezifische Wechselwirkungen im Detail und beleuchtet auch den Zusammenhang zur Pharmakologie.

Voiculetz, N. Motoc, I. Simon Z. (1993) *Specific interactions and biological recognition processes*, CRC Press, Boca Raton.

In den beiden folgenden historischen Arbeiten werden das Schlüssel-Schloss-Prinzip sowie die induzierte Anpassung bei der spezifischen Bindung zum ersten Mal postuliert.

Fischer, E. (1894) Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **27**, 2984–2993.

Koshland D.E. (1958) Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **44**, 98–104.

In den folgenden vier Arbeiten werden die Grundlagen der in den Abbildungen 9.3 bis 9.6 gezeigten molekularen Erkennungsreaktionen beschrieben.

Livnah, O., Bayer, E.A., Wilchek, M., Sussmann, J. L. (1993) Three-dimensional structures of avidin and the avidin-biotin complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **90**, 5076–5080.

DeChancie, J., Houk, K.N. (2007) The origins of femtomolar protein-ligand binding: Hydrogen-bond cooperativity and desolvation energetics in the biotin-(strept)avidin binding site. *Journal of the American Chemical Society*, **129**, 5419–5429.

Steitz, T.A. Shoham, M. Bennett W.S. (1981) Structural dynamics of yeast hexokinase during catalysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B*, **293**, 43–52.

Kuser, P.R. Krauchenco, S. Antunes, O.A. C. Polkarpov I. (2000) The high resolution crystal structure of yeast hexokinase PII with the correct primary sequence provides new insights into its mechanism of action. *The Journal of Biological Chemistry*, **275**, 20814–20821.

Mechanische, getriebene Prozesse in einzelnen Molekülen: Bruch spezifischer Bindungen, Entfaltung von Proteinen und Schmelzen der DNA

In diesem Artikel werden zum ersten Mal kraftabhängige Dissoziationsraten postuliert.

Bell, G.I. (1978) Models for the specific adhesion of cells to cells. *Science*, **200**, 618–627.

Im folgenden Artikel wurde sehr klar die Verkürzung der Lebensdauer von spezifischen Bindungen durch mechanische Kräfte nachgewiesen.

Alon, R., Hammer, D.A., Springer, T.A. (1995) Lifetime of the P-selectin-carbohydrate bond and its response to tensile force in hydrodynamic flow. *Nature* **374**, 539–542.

In diesem Artikel wird die chemische Kinetik einzelner Bindungen unter dem Einfluss von äußerend Kräften hergeleitet.

Evans, E., Ritchie, K. (1975) Dynamic strength of molecular adhesion bonds. *Biophysical Journal*, **72**, 1541–1555.

Die folgenden beiden Artikel beschreiben das mechanische Brechen spezifischer Bindungen.

Simson, D.A., Strigl, M., Hohenadl, M., Merkel, R. (1999) Statistical breakage of single protein A-IgG bonds reveals crossover from spontaneous to force-induced bond dissociation. *Physical Review Letters*, **83**, 652–655.

Merkel, R., Nassoy, P., Leung, A., Ritchie, K., Evans, E. (1999) Using dynamic force spectroscopy to explore energy landscapes of receptor-ligand bonds. *Nature*, **397**, 50–53.

In den folgenden vier Literaturstellen wird ein Überblick über zwei wichtige mechanische Messmethoden gegeben.

Hansma, H.G., Hoh, J.H. (1994) Biomolecular imaging with the atomic force microscope. *Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure*, **23**, 115–139.

Radmacher, M. (1999) Single molecules feel the force. *Physics World*, **12**, 33–37.

Chu, S. (1992) Laser Trapping of Neutral Particles. *Scientific American*, 71–76.

Sheetz, M.P. (Ed.) (1998) Laser Tweezers in Cell Biology, in *Methods in Cell Biology*, Vol. 55. Academic Press, San Diego.

In den folgenden drei Artikeln wurde zeitgleich die mechanische Entfaltung von Titin zum ersten Mal berichtet wobei sich aufgrund verschiedener experimenteller Bedingungen auf den ersten Blick völlig unterschiedliche Messkurven ergaben.

Kellermayer, M.S.Z., Smith, S.B., Granzier, H.L., Bustamante, C. (1997) Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with laser tweezers. *Science*, **276**, 1112–1116.

Rief, M., Gautel, M., Oesterhelt, F., Fernandez, J.M., Gaub, H.E. (1997) Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM. *Science*, **276**, 1109–1112.

Tskhovrebova, L., Trinick, J., Sleep, J.A., Simmons, R.M. (1997) Elasticity and unfolding of single molecules of the giant muscle protein titin, *Nature*, **387**, 308–312.

In diesem Artikel wurden die Ergebnisse aus den vorherigen drei Arbeiten mit einem einzigen Modell erklärt.

Rief, M., Fernandez, J.M., Gaub, H.E., (1998) Elastically coupled two-level systems as a model for biopolymer extensibility. *Physical Review Letters*, **81**, 4764–4767.

Carrión-Vázquez, M., Oberhauser, A.F., Fowler, S.B., Marszalek, P.E., Broedel, S.E., Clarke, J., Fernandez, J.M. (1999) Mechanical and chemical unfolding of a single protein: a comparison. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, **96**, 3694–3699. Dies ist ein ebenfalls sehr lesenswerter Artikel über die mechanische Entfaltung von Proteinendomenen, der auch einen expliziten Zusammenhang zur Thermodynamik der Proteinfaltung herstellt (s. Kapitel 7).

Ein geschlossener mathematischer Ausdruck für die Kraft-Ausdehnungs-Relation eines biegesteifen Polymers wird in der folgenden Arbeit hergeleitet.

Marko, J.F., Siggia, E.D. (1995) Stretching DNA. *Macromolecules*, **28**, 8759–8770.

In den folgenden beiden Arbeiten wird das mechanische Schmelzen der DNA analysiert.

Bockelmann, U., Essevaz-Roulet, B., Heslot, F. (1997) Molecular stick-slip motion revealed by opening DNA with piconewton forces. *Physical Review Letters*, **79**, 4489–4492.

Essevaz-Roulet, B., Bockelmann, U., Heslot, F. (1997) Mechanical separation of the complementary strands of DNA, *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, **96**, 11935–11940.

Zum Brownschen Oszillator

Die folgenden beiden Lehrbücher beschreiben die Grundlagen der thermisch getriebenen Fluktuationen.

Becker R. (1985) *Theorie der Wärme*, Springer Verlag, Berlin.

Bergmann, L., Schaefer, C., Dorfmueller, T., Hering, W.T., Stierstadt, K. (1998) *Mechanik, Relativität, Wärme*, in *Lehrbuch der Experimentalphysik, Band 1*, Wilhelm de Gruyter Verlag, Berlin.

Die mathematische Behandlung der Fluktuationsbewegungen wird dadurch erschwert, dass die fluktuierende Kraft ein Zufallsprozess ist. Der folgende, sehr didaktische Artikel behandelt die Grundlagen solcher Fluktuationsprozesse.

Gillespie, D.T. (1996) The mathematics of Brownian motion and Johnson noise. *American Journal of Physics*, **64**, 225–240.

In dem folgenden Artikel wird ein in einer optischen Falle gehaltenes Partikel als Brownscher Oszillator beschrieben. Das gemessene Fluktuationsspektrum kann zur Kalibrierung der Falle benutzt werden.

Berg-Sorensen, K., Flyvbjerg, H. (2004) Power spectrum analysis for optical tweezers. *Review of Scientific Instruments*, **75**, 594–612.

In dieser in der Zwischenzeit klassischen Molekulardynamik-Simulation wird die Scherbewegung der Alkoholdehydrogenase eingehend behandelt.

Colonna-Cesari, F., Perahia, D., Karplus, M., Eklund, H., Brändén, C.I., Tapia, O. (1986) Interdomain motion in liver alcohol dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, **261**, 15273–15280.

Biologische Membranen

9

Molekulare Architektur und Funktionen biologischer Membranen

9.1

Weshalb sollen sich Physiker für biologische Membranen interessieren?

Die Entwicklung des Lebens in seiner heutigen Vielfalt wurde erst möglich, als die Lipidmembranen ins Spiel kamen. Lipidmembranen ermöglichten die Trennung lebender Materie von der feindlichen Umgebung und erhöhten die Effizienz biochemischer Reaktionen durch Einschränkung der Reaktionsräume. Vor allem aber wiesen sie der Natur einen Weg zur Evolution der eukaryontischen Zelle, deren Vitalität von der Kommunikation und dem kontrollierten Materialaustausch zwischen Kompartimenten mit definierten Aufgaben abhängt. Die Kombination der Lipide mit funktionellen Proteinen und der dadurch möglichen Lokalisierung essenzieller biochemischer Prozesse (wie die oxidative Phosphorylierung (s. Abschnitt 30.8 und Glossar) und die Hormonverstärkung) an Grenzflächen brachte eine weitere Erhöhung der Effizienz biochemischer Prozesse, wie wir unten sehen werden. Der hohe elektrische Widerstand der nur 4–5 nm dicken Lipidschichten ermöglichte den Aufbau elektrischer Potenzialdifferenzen von 10^7 V/m, die Energiespeicherung durch Protonengradienten oder die Erzeugung protomotorischer Kräfte.

Membranen bieten aus mehreren Gründen ein reiches Forschungsfeld für Physiker, die zur Zusammenarbeit mit Biologen und Biochemikern bereit sind.

Biologische Membranen sind Vielkomponenten-Legierungen aus Lipiden und Proteinen. Die Klärung der Frage, wie in solchen fluiden Systemen spezifische Komponenten zu äußerst effektiven Funktionssystemen (wie Elektronentransferketten oder Hormonverstärker) zusammenfinden, stellt eine Herausforderung dar, wie man sie kaum in einem anderen Gebiet der Materialforschung findet. Es bestehen besonders enge Beziehungen zur Physik weicher kondensierter Materie, wie Mikroemulsionen. Membranen sind Musterbeispiele zweidimensionaler Systeme, deren Verhalten in besonderem Maße durch Zusammenspiel entropischer und enthalpischer Kräfte bestimmt ist. Schalen aus Lipid-Doppelschichten sind Minimalflächen bezüglich der Biegeelastizität und zeichnen sich durch einen großen Formenreichtum aus, an denen man viele fundamentale Probleme der Topologie geschlossener Flächen experimentell und theoretisch studieren kann, wie wir in Kapitel 11 sehen werden.

Die Klärung der Zusammenhänge zwischen der Struktur und Funktion biologischer Membranen erfordert die konzentrierte Untersuchung von Modellen und natürlichen Systemen. In der Tat verdanken wir einen großen Teil unserer heutigen Kenntnisse über diese Zusammenhänge zahlreichen systematischen Untersuchungen von Modellmembranen. Dies gilt insbesondere für die Entwicklung neuer physikalischer Methoden und theoretischer Konzepte der Membranforschung.

Ein zukunftssträchtiges Nebenprodukt dieser Forschungsaktivitäten ist die Anwendung von Membranen in der Medizintechnik. Dazu zählen Vesikel als Vehikel zum direkten Transport von Wirkstoffen in spezifisches Zielgewebe oder in Krebszellen [1]. Ein Gebiet zwischen Festkörperphysik und Biologischer Physik ist der Aufbau smarter Biosensoren durch Übertragung von Membranen mit spezifischen Funktionen auf elektro-optische Bauelemente [2]. Eine für die Biophysik wichtige wissenschaftliche Anwendung festkörpergestützter Membranen ist der Aufbau von Modellen der Zelloberfläche zur Untersuchung der Physik der Protein-Protein-Erkennung und Zelladhäsion (s. Kapitel 13 und [2]).

In diesem einführenden Kapitel des Teils über Membranphysik beschreiben wir die Mikroarchitektur natürlicher Membranen, wobei wir die Zellhülle der Erythrozyten als Paradigma einer Verbundmembran aus Lipid/Protein-Doppelschicht und makromolekularem Netzwerk ins Zentrum der Diskussion stellen. Nach der Einführung der wesentlichen Bausteine der Biomembranen diskutieren wir einige fundamentale Membranprozesse. Wir beginnen mit einer kurzen Einführung in die Biosynthese der Membranen. Die große Bedeutung der dynamischen Eigenschaften der Membranen demonstrieren wir am Beispiel der stufenweisen Konditionierung von Proteinen auf dem Weg von der Synthese an der ER-Membran zum Export und dem Import der lebenswichtigen Eisen-Atome in die Zelle. Am Beispiel der Verstärkung von Hormonsignalen zeigen wir, wie wichtig Membranen für die Signalübertragung und Aktivierung zellulärer Regelprozesse sind, wobei wir uns auf die *Photonenverstärkung beim Schworgang* konzentrieren. Im Zusammenhang mit diesem Beispiel zeigen wir auch, wie wichtig die schnelle Reorganisation der Komponenten und die Bildung von Protein-Aggregaten für die Effizienz vieler Membranprozesse sind. Um die physikalischen Grundlagen der Bildung funktioneller Domänen spezifischer Zusammensetzung im Multikomponentensystem zu verstehen, müssen wir uns erst in die Physik der Lipidmembranen einarbeiten.

Im zweiten Teil der Kapitel über Biomembranen besprechen wir die molekulare Dynamik, die thermodynamischen und die elastischen Eigenschaften von Lipid-Doppelschichten und deren Rolle für die Bildung funktioneller Domänen in Biomembranen. Danach diskutieren wir die außergewöhnlichen biegeelastischen Eigenschaften biologischer Membranen, deren fundamentale Bedeutung für die Formenvielfalt der Zellen und die Formumwandlungen der intrazellulären Organellen, die für den intrazellulären Transport durch Vesikel eine zentrale Rolle spielen. Wir schließen mit einem Kapitel über die Kontrolle der Zell-Zell-Adhäsion durch Zusammenspiel spezifischer Schlüssel-Schloss-Kräfte, generischer Grenzflächenkräfte und Membranelastizität.

9.2

Mikroanatomie biologischer Verbundmembranen: Erythrozyten als Paradigma

Die Hülle der roten Blutzellen (Erythrozyten)¹⁾ ist in drei Schichten aufgebaut: aus der Lipid-Protein-Doppelschicht (im Folgenden Plasmamembran genannt), der Glykokalix und dem Zytoskelett (Abb. 9.1). Die Plasmamembran bildet das Zentrum der Verbundschale und enthält zahlreiche Proteine, die für das Überleben der Zellen notwendig sind. Dazu zählen die Enzyme zur Produktion von ATP durch anaerobe Glykolyse, Ca^{2+} -ATPasen oder Ca^{2+} -Pumpen zur Einstellung des intrazellulären Calcium-Spiegels auf 10^{-7} M. Das häufigste Membranprotein ist der Anionenaustauscher Bande III, der für den Transport der Kohlensäure (H_2CO_3) aus der Zelle sorgt (im Austausch gegen Cl^- -Ionen). Er fungiert aber auch als Anker für das Zytoskelett.

Die Glykokalix besteht aus einem dicht gepackten, makromolekularen Film, der vorwiegend von den Kopfgruppen der Membranproteine (wie Glykophorin in Abb. 9.1b) gebildet wird. Diese bestehen aus Polypeptiden mit zahlreichen Seitenketten aus Oligozuckern, die aus 5–15 Monomeren bestehen. Sie sind daher vorwiegend gestreckt und ragen 10–40 nm in den extrazellulären Raum hinein. Häufig sind auch andere Makromoleküle der extrazellulären Matrix über Rezeptoren angedockt. Die Glykokalix vermittelt den Kontakt zu anderen Zellen. Da sie aus einem dicht gepackten Film aus Makromolekülen besteht, schützt sie die Zelle vor Fremdstoffen und Parasiten (wie Viren und Bakterien), falls diese nicht durch spezifische Oberflächenproteine (sog. Rezeptoren) der Zelloberfläche erkannt werden.

Man kann sich das Spektrin-Aktin-Zytoskelett der Erythrozyten als Dreiecksgitter mit zahlreichen Defekten und freien Enden vorstellen. Die Seiten werden aus zwei durch Kopf-Schwanz-Wechselwirkung assoziierte Hetero-Dimere des Spektrins gebildet. Dessen α - und β -Ketten sind aus ca. 18 Segmenten aus Tripelhelixes (aus rund 100 Peptiden) aufgebaut, die durch flexible Peptidsegmente verbunden sind. In gestrecktem Zustand sind die assoziierten Hetero-Dimere 100 nm lang (Abb. 9.2b), während sie in der Zelle teilweise geknäuel und auf rund 70 nm geschrumpft sind. Die Knoten des Gitters werden von 350 nm langen, stäbchenförmigen Oligomeren des Aktins gebildet, deren Länge durch die Bindung von Tropomyosin (s. Kapitel 19) limitiert wird. Man kann das Netzwerk sichtbar machen, indem man es auf dünnen Kohlefilmen spreitet und mit dem Elektronenmikroskop betrachtet (Abb. 9.2a). Man erkennt deutlich die nahezu hexagonale Anordnung der Knoten, sieht aber auch, dass das Maschenwerkwerk nicht perfekt ist, sondern eher an ein schlecht geknotetes Fischernetz erinnert. In dem schematischen Bild sind die Defekte als Paare von Pentagonen und Hepta-

1) Kernlose Erythrozyten gelten unter Biologen nicht als richtige Zellen. Für Physiker sind sie gerade deshalb besonders attraktiv. Die Zusammensetzung wird nicht durch genetische Expression modifiziert. Man kann das Hämoglobin entfernen oder durch andere

Proteine ersetzen, ohne die Membran oder die Form der so entstehenden Geisterzellen (engl. ghosts) zu ändern. An den Erythrozyten lässt sich die Wirkungen der Malaria auslösenden Parasiten systematisch erforschen.

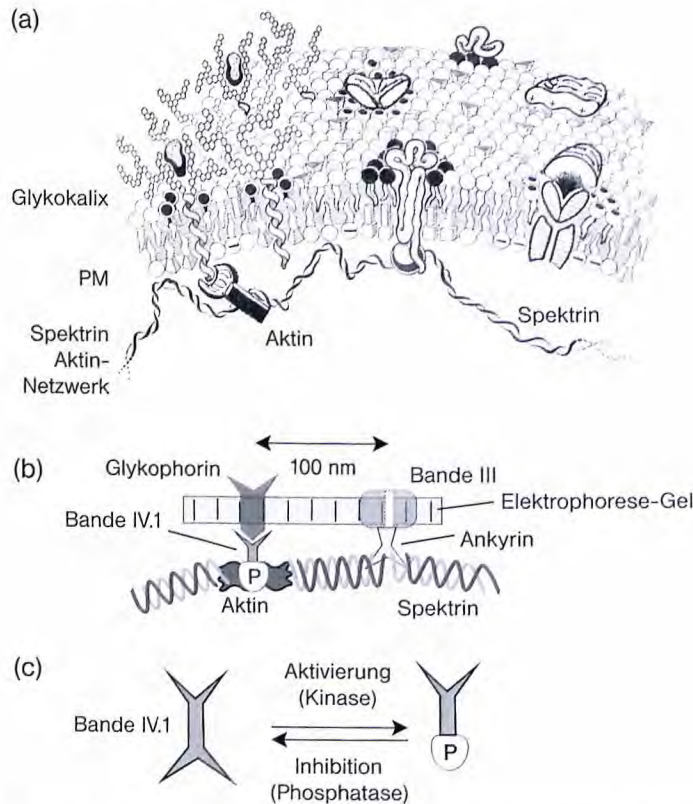


Abb. 9.1 (a) Molekulare Architektur der Verbundschale der Erythrozyten. Die ca. 5 nm dicke Lipid/Protein-Doppelschicht (Plasmamembran, PM) bildet das Zentrum der Schale. Die rund 40 nm dicke Glykokalix sorgt für die Kommunikation mit der Umgebung und schützt die Zelle gleichzeitig vor dem Eindringen unerwünschter Moleküle und von Viren. Für die mechanische Stabilität der Zellen sorgt das etwa 300 nm dicke, quasi zweidimensionale Spektrin-Aktin-Netzwerk. Man beachte, dass die Aktin-Stäbchen und die Spektrin-Filamente nahezu dieselbe Dicke haben wie die Plasmamembran. (b) Verankerung des Spektrin-Aktin-Gerüsts an der Plasmamembran. Ankyrin koppelt die

Spektrinfilamente an intrazelluläre Domänen des Anionen-Kanals (Bande III), während das Protein Bande IV.1 die Aktinstäbchen an die intrazelluläre Domäne des Glykophorin-Rezeptors andockt. Die historisch bedingten Namen *Bande X* erhielten die Proteine aufgrund ihrer Position im Gel nach der Auftrennung durch Zentrifugation und Elektrophorese. (c) Die durch das Bande IV.1-Protein vermittelte Kopplung des Spektrins an den Rezeptor wird durch Phosphorylierung aktiviert (s. Text). Dieses Protein gehört zu einer großen Familie von Aktin-Membran-Kopplungsproteinen (die FERM-Familie), auf die wir noch häufig zurückkommen werden.

gonen dargestellt. Sie entstehen, indem man ein gleichseitiges Dreieck aus einem Hexagon ausschneidet und in ein benachbartes einfügt. Man bezeichnet sie daher als 60° - und $+60^\circ$ -Disklinationen. Diese Defekte spielen eine zentrale Rolle für die Herstellung geschlossener Schalen aus zweidimensionalen Kristallen, deren Kon-

sequenzen für den Aufbau und die elastischen Eigenschaften geschlossener Kapside wie in Kapitel 35 genauer besprochen werden. Die Verankerung des Netzwerks an der Plasmamembran wird im Wesentlichen durch zwei Kopplungsproteine vermittelt: Ankyrin (~ 200 kDa) und Bande IV.1-Protein (72 kDa).

- Ankyrin koppelt die Verbindung der Spektrindimere an eine flexible intrazelluläre Domäne des Anionenkanals Bande III (Abb. 9.1b). Sein Aufbau erinnert an eine Spiralfeder aus α -helikalen Segmenten (Abb. 9.2c), während die Feder an die sehr lange und flexible Domäne des Bande III bindet. Kraftspektroskopische Experimente zeigen, dass sich Ankyrin bei kleinen Dehnungen von $\Delta x = 0,10$ nm wie eine Feder mit der Federkonstanten $k \sim 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ N m}^{-1}$ verhält, ab $\Delta x \approx 15$ nm um einen Faktor 10 steifer wird und bei Dehnungen von 300 nm und Kräften von 250 pN entfaltet [3]. Diese Eigenschaften spielen möglicherweise für die außergewöhnlichen elastischen Eigenschaften der Erythrozyten eine wichtige Rolle (s. Kapitel 11).
- Bande IV.1 dockt Aktin an intrazelluläre Domänen des Glykophorins an. Es ist Mitglied einer großen Familie von Proteinen, welche Aktin an intrazelluläre Domänen von Glykoproteinen bindet, und auf die wir öfters zurückkommen werden. Man findet sie in der Literatur oft auch unter dem Namen *Ezrin-Radixin-Moesin-* oder ERM-Familie. Sie besitzen alle die in Abbildung 9.3 gezeigte Fähigkeit, in einer inaktiven und einer aktiven Form vorzuliegen, wobei die Aktivierung durch Phosphorylierung vermittelt wird [4].

Das Spektrin-Aktin-Netzwerk sowie Bande IV.1 und Ankyrin kommen in fast allen Säugetierzellen vor. Vor allem Transportvesikel sind oft mit Spektrin und Ankyrin dekoriert, was für den Transport in den Zellen eine wesentliche Rolle spielt. Spektrin wird oft (insbesondere in Nervenzellen) durch das homologe Filament *Fodrin* ersetzt. Auf der Innenseite der Muskelzellen findet man statt Spektrin das verwandte *Dystrophin*. Es ist daher sehr wahrscheinlich, dass viele Zellen ein ähnliches Zytoskelett wie die Erythrozyten besitzen, das den Übergang von der Plasmamembran zum eigentlichen Aktin-Kortex vermittelt. Es ist daher hilfreich und wichtig, das Bild der Verbundmembran bei der folgenden Behandlung der Selbstorganisation der Membranen und ihrer Funktion stets vor Augen zu haben. Dies gilt aber auch bei der Diskussion der Funktion des Aktin-Zytoskeletts in Kapitel 18.

Eine Begründung für die oben vorgestellte Struktur des Spektrin-Aktin-Netzwerkes liefert die ausbalancierte Zahl der beteiligten Proteine. Tabelle 9.1 zeigt, dass die Zahl der Spektrin-Tetramere etwa gleich groß ist wie die der Ankyrine. Beide Komponenten sind etwa 2,5-mal zahlreicher als Aktin-Oligomere und Tropomyosin. Ein Dreiecksgitter der Fläche A besteht aus $n_t = 4A/\sqrt{3}\langle L^2 \rangle$ Dreiecken, $n_b \approx 2n_t$ Verbindungen und $n_v \approx n_t$ Ecken, wobei $\langle L \rangle$ der mittlerer End-zu-End-Abstand der Spektrin-Tetramere ist. Die gesamte Membranfläche der Zellen beträgt $A = 140 \mu\text{m}^2$, und man kann leicht ausrechnen, dass mit der in Tabelle 9.1 angegebenen Zahl von Spektrin-Tetrameren ein hexagonales Gitter der Gitterkonstante $\langle L \rangle = 80$ nm gebildet werden kann. Aus der Analyse von Gefrierätz-Elektronenmikroskopaufnahmen folgt ein Wert von $\langle L \rangle = 75$ nm. Die Zahl der

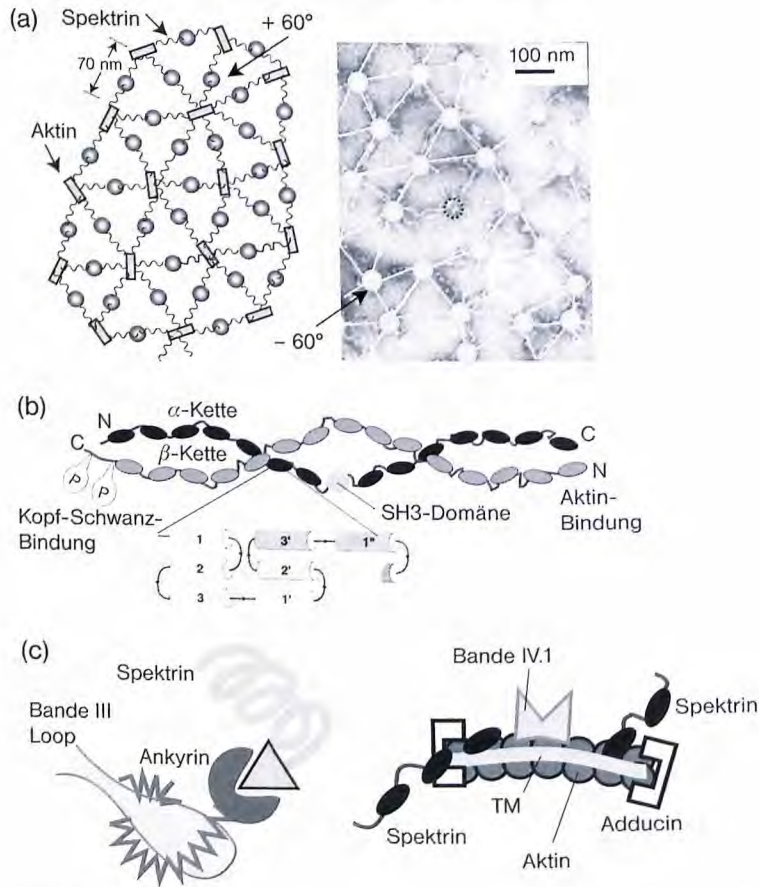


Abb. 9.2 (a) Links: Spektrin-Aktin-Netzwerk der Erythrozyten mit Anordnung der Bauelemente in der Ebene der Membran. Man beachte den Aufbau aus einem Dreiecksgitter mit zahlreichen Defekten (z. B. benachbarten Paare aus Heptagonen und Pentagonen sowie frei hängenden oder fehlenden Bindungen, engl. *dangling bonds*). Das rechte Bild zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme eines um einen Faktor drei gestreckten Netzwerkes. Die Knoten und Seiten sind (bis auf ein Hexagon) mit Kreisen und Balken markiert. Man erkennt unten ein Pentagon-Heptagon-Paar (nach [5]). (b) Feinstruktur des Spektrin-Heterodimeren aus einer α -Kette (246 kDa) und einer β -Kette (280 kDa) (nach [6]). Jede Kette besteht aus repetitiven Anordnungen von ca. 25 nm langen Tripelhelizes, die durch flexible Gelenke verbunden sind. Die

Filamente können daher als *Entropiefedern* wirken (s. Abschnitt 24.2). Die β -Kette trägt die Bindungsstellen für Aktin (am N-terminalen Ende) und für Ankyrin (am C-terminalen Ende). Die α -Kette besitzt etwa in der Mitte eine besondere Domäne (SH3), die an das Membranlipid PIP₂ binden kann (s. Abb. 9.3). (c) Das linke Bild zeigt den Aktin-Membran-Koppler Ankyrin. Er bindet mit einem spiralfederartigen Ende an die intrazelluläre Domäne des Bande III-Proteins und koppelt mit dem anderen Ende an Spektrin. Das rechte Bild zeigt die als Vernetzer fungierenden Aktin-Stäbchen. Die Länge des Aktins wird aus heutiger Sicht durch das Protein Tropomyosin (TM) und die als Kappen wirkenden Adducin-Proteine begrenzt. Man beachte, dass bis zu sechs Spektrin-Moleküle an das Aktin-Filament binden können.

Tabelle 9.1 Zahl der die Struktur des Spektrin-Aktin-Zytoskeletts bestimmenden Moleküle der Erythrozyten

Protein	Bande III	Glyco- phorin	Spektrin- Tetramere	Actin- Oligo- mere	Tropo- myosin	Ankyrin	Bande IV.1
Zahl der Proteine	$2,5 \cdot 10^5$	A $2 \cdot 10^5$ B $7 \cdot 10^4$ C $4 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^5$

Tabelle 9.2 Einige Lebensdaten humaner Erythrozyten

Produktion	$2,5 \cdot 10^6 \text{ s}^{-1}$
Täglicher Verlust	$2,1 \cdot 10^{10}$ Zellen
Gesamtzahl	$2,5 \cdot 10^{13}$ Zellen
zurückgelegter Weg nach 120 Tagen	400 km
Gewicht	$3 \cdot 10^{-11}$ g
Oberfläche	$140 \mu\text{m}^2$
Volumen	$110 \mu\text{m}^3$

Bande III-Proteine ist 2,5-mal so groß wie die der Ankyrine. Dieser Befund stimmt mit der Beobachtung überein, dass nur rund 1/3 der Kanäle mit dem Zytoskelett verbunden sind.

9.3

Molekulare Architektur biologischer Membranen

9.3.1

Membranen als Multikomponenten-Lipidlegierungen: das Lipidom

Lipide und Cholesterol sind die Grundbausteine der Membranen eukaryontischer Zellen. Glücklicherweise benutzt die Natur nur einen Bruchteil aller möglichen Spezies dieser großen Klasse amphiphiler Moleküle. Es gibt drei Untergruppen von Lipiden, die sich in der Struktur des Verbindungsgliedes (dem Rückgrat) zwischen Kopfgruppen und hydrophoben Ketten unterscheiden: Die in Abbildung 9.3 gezeigten *Glycero-Phospholipide*, die *Sphingolipide* und die *Ganglioside*. Prokaryonten benutzen noch andere wichtige Klassen von Lipiden, wie die *Lipopolysaccharide* [7], die in gramnegativen Bakterien vorkommen, und die bipolaren *Bola-Lipide* der Archaeobakterien [8]. Erstere besitzen Kopfgruppen aus sehr langen Polysacchariden und sechs hydrophoben Ketten. Die Bolla-Lipide besitzen zwei hydrophile Kopfgruppen, die durch eine hydrophobe Kette verbunden sind. Sie können daher geschlossene Schalen aus Monoschichten bilden. Deren hohe Stabilität

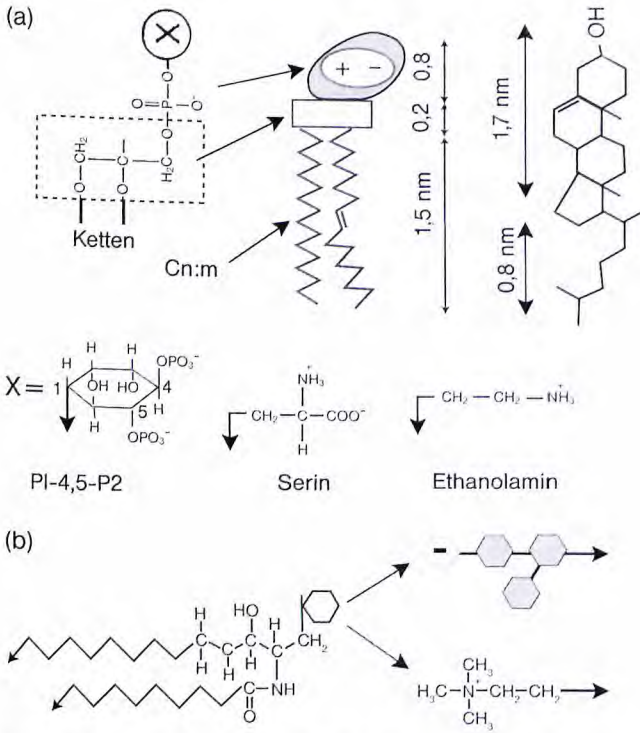


Abb. 9.3 Die wichtigsten Klassen von Membranlipiden. (a) Struktur der Glycerophospholipide (links) und des Cholesterols (rechts). Das Rückgrat der Glycerophospholipide besteht aus Glycerin (gestrichelter Rahmen), an dessen drei OH-Gruppen zwei Fettsäurereste und eine Phosphatgruppe angekoppelt sind. Die Ketten unterscheiden sich in der Zahl der C-Atome (n) bzw. Doppelbindungen (m), und die Kopfgruppen (Bildmitte) unterscheiden sich im Ladungszustand. Dieser kann zwitterionisch (wie bei Phosphatidylcholin oder Phosphatidylethanolamin) oder negativ geladen sein (wie bei Phosphatidylserin und

Phosphatidylinositol). Die Kopfgruppe aus Inositol kann bis zu drei Phosphatgruppen tragen. (b) Chemische Struktur der Familie der Shpingosine. Der häufigste Vertreter ist das Phospholipid Shpingomyelin, das eine Kopfgruppe aus Cholin besitzt (Struktur rechts unten). Eine andere große Gruppe mit dieser Grundstruktur sind die Glykolipide wie die Ganglioside, welche die Glykokalix mitgestalten. Die Kopfgruppen können mehrere Zuckermoleküle tragen (rechts oben, schematisch) und besitzen häufig eine negativ geladene Sialinsäure (s. [8] und Kapitel 3).

erlaubt den Bakterien, bei sehr hohen Temperaturen (von einigen 100 °C) zu überleben.

Die vier wichtigsten Phospholipide der Eukaryonten sind Phosphatidylcholin (PC), Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin (PS), und Phosphatidylinositol (PI). In Pflanzen kommt noch Phosphatidylglycerol (PG) als wichtige Komponente hinzu. Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin besitzen zwitterionische, Phosphatidylserin, Phosphatidylinositol und Phosphatidylglycerol dagegen negativ geladene Kopfgruppen.

Die Sphingolipide umfassen zwei wichtige Gruppen: die *Sphingomyeline* und die *Glykolipide*. Die Sphingomyeline (SPHM) besitzen dieselbe zwitterionische Kopfgruppe wie Phosphatidylcholin, während die Glykolipide Kopfgruppen aus mehreren Zuckermolekülen tragen (Abb. 9.3b). Ein exotisches Phospholipid, das man nur in Mitochondrien findet, ist *Cardiolipin*. Es besitzt vier hydrophobe Ketten und eine zweifach negativ geladene Kopfgruppe.

Eine Sonderrolle spielt *Phosphatidylinositol*. An die Kopfgruppe aus dem Zuckermolekül Inositol können bis zu drei Phosphatgruppen durch spezifische Enzyme (Kinasen) angedockt werden. Die phosphorylierten Phosphatidylinositole fungieren häufig als Signalmoleküle, wie wir noch sehen werden. Die Kopfgruppen können durch Enzyme der Familie der *Phospholipasen* abgeschnitten werden und dienen dann als Signalmoleküle und Botenmoleküle. Ein wichtiges Beispiel ist das *Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat* (PI-4,5-P₂, Abb. 9.3a), das als Lieferant des Signalmoleküls *Inositol-1,4,5-trisphosphat* (IP₃) eine zentrale Rolle bei der intrazellulären Signalübertragung spielt. Auch der nach Abspaltung des IP₃ entstehende Stumpf (das Diacylglycerol) spielt eine wichtige Rolle in der Signalverarbeitung. Eine andere Besonderheit der PI-Familie ist die Fähigkeit, spezifische Bindungstaschen in Proteinen, die so genannte Pleckstrin-Homologiesequence, zu erkennen (s. [8], Kapitel 18 und Glossar). Über diese spezifische Bindung können Proteine an die Membranen gekoppelt werden.

Drei Merkmale bestimmen das Verhalten der Lipide: (1) die Größe und der Ladungszustand der Kopfgruppen, die zwitterionisch oder negativ geladen sein können; (2) die Zahl *m* der Kohlenstoff-Atome (und damit die Kettenlänge) und (3) die Zahl *n* der Doppelbindungen. Wir charakterisieren die Ketten durch das Symbol C_n:*m* und nennen oft ein Phosphatidylcholin mit zwei C₁₆:0-Ketten C₁₆:0-Phosphatidylcholin. In der Literatur wird in der Regel der Trivialname der Fettsäure-Ketten benutzt, was das Lesen der Publikationen oft erschwert. Ein Phosphatidylcholin mit zwei C₁₆:0- (bzw. C₁₄:0-) Ketten heißt Dipalmitoyl-phosphatidylcholin (DPPC) (bzw. Dimyristoyl-phosphatidylcholin, DMPC). Ein PC mit zwei C₁₈:1 in *cis*-Konfiguration heißt Dioleoyl-phosphatidylcholin. Das Molekül mit den Ketten in *trans*-Konfiguration heißt Dielaidyl-phosphatidylcholin. Eine übersichtliche Zusammenstellung der Trivialnamen der Fettsäuren findet man in Wikipedia.

9.3.1.1 Über die Verteilung der Lipide zwischen den Kompartimenten: ein erster Weg zur Spezialisierung der Membranen

Zellmembranen enthalten typischerweise rund 100 Lipide, die sich in den oben genannten Strukturmerkmalen unterscheiden. Wie schon erwähnt, ist daher eine zentrale Frage der Membranforschung, wie in solchen Multikomponenten-Legierungen verschiedene Proteine zusammenfinden, um supramolekulare Komplexe mit spezifischen Funktionen zu bilden. Wir werden in Kapitel 12 sehen, dass die Natur dazu zwei Wege geschaffen hat: die dynamische Sortierung von Lipiden und Proteinen und die *laterale Phasentrennung*.

In zahlreichen Versuchen wurde mit verschiedenen chromatografischen Methoden die Lipidzusammensetzung der intrazellulären Kompartimente und die Verteilung der Fettsäuren auf die verschiedenen Lipidsorten bestimmt (Tab. 9.3,

Tabelle 9.3 Lipidzusammensetzung der Plasmamembran humaner Erythrozyten, der Leberzelle von Ratten und deren interner Kompartimente. Die Zahlen sind aufgerundet. Die Glykolipide machen 2–4 mol% aus und sind in der äußeren Monoschicht der Plasmamembran konzentriert. Andere Lipide enthalten vor allem Fette (wie Triglyceride) und Cholesterinester, die als Ausgangsstoffe für den Stoffwechsel der Zelle dienen. Man beachte: Die Werte sind in Gewichtsprozent angegeben. Ist α das Verhältnis des Molekulargewichts der Phospholipide zu dem des Cholesterols und ist q_c der Bruchteil der Masse des Sterols, so ist sein Molenbruch $x_c = \alpha(1 - q_c)/(\alpha + (1 - \alpha)q_c)$. Da das Molekulargewicht des Cholesterols (368 Da) etwa doppelt so hoch ist wie das der Phospholipide (~ 780 Da), ist der Molenbruch des Cholesterols ebenfalls fast doppelt so hoch wie dessen Massenbruch (nach [10].)

	Plasmamembran		ER	Golgi	Lysosomen	Kernmembran
	Leberzellen	Erythrozyten				
PC	18	20	48	25	23	44
PE	12	18	19	9	13	17
PS	7	7	4	3		4
PI	3	3	8	5	6	6
SPHM	12	18	5	7	23	3
Glykolipide	8		Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
Andere	21	11	10	43	16	15
Cholesterol	19	20	6	8	14	10

Tabelle 9.4 Verteilung der häufigsten Kohlenwasserstoff-Ketten ($> 1\%$ relative Konzentration) in den Lipiden humaner Erythrozyten (nach [10].)

Lipid (mol%)	16:0	18:0	18:1	18:2	20:3	20:4	22:0	22:4	22:5	22:6	24:0	24:1
PC	31	12	19	22	2	7	–	–	2		–	–
PE	13	12	18	7	2	24	2	8	4	8	–	–
PS-PI	3	37	8	–	3	24	3	4	3.5	10	–	–
SPHM	24	6	–	3	–	1.4	9.5	–	–	–	23	24
Gesamt	20	17	13	9	1.5	1.3	2	3	2	4	5	4

9.4). Eine elegante, aber mühsame Methode zur Bestimmung der Verteilung der Lipide zwischen innerer und äußerer Monoschicht beruht auf der Anwendung spezifischer, Kopfgruppen abspaltender Enzyme (die Phospholipasen genannt werden). Man lässt diese nacheinander die Kopfgruppen der verschiedenen Gruppen von Lipiden abspalten und analysiert die Zusammensetzung des im Kompartiment verbliebenen Rests mit chromatografischen Methoden. Die Prozedur wird erst auf die äußeren und dann auf die innere Monoschicht der Membranen der Zelloberfläche und der Organellen angewandt [9]. Die genaue Kenntnis der Lipidzusammensetzung der Zelloberfläche und intrazellulären Organellen ist absolut notwen-

dig, um die physikalischen Grundlagen der Bildung funktioneller Domänen oder der Sortierung der Lipide und Proteine zu verstehen.

Von den in Tabelle 9.3 und 9.4 zusammengestellten Daten sind die folgenden für die Bildung funktionelle Domänen in Zellmembranen besonders wichtig, wie wir bei der Diskussion der Entmischung in den Lipid-Protein Legierungen in Kapitel 27 sehen werden:

- Sphingomyeline und Cholesterol sind vorwiegend und Glykolipide ausschließlich in der Plasmamembran lokalisiert (Tab. 9.3), während sie im ER und Golgi-Apparat nur mit 5 % und 6 % vertreten sind. Der hohe Anteil von Cholesterol und SPHM in den Lysosomen ist eine Folge des ständigen Materialaustausches mit der Plasmamembran.
- Die Lipid- und Proteinzusammensetzung der einzelnen Organellen ist streng kontrolliert (ein Lipid-Homeostasis genanntes Verhalten), obwohl ein sehr schneller Materialaustausch zwischen diesen und der Plasmamembran besteht. Die Zusammensetzung wird also dynamisch kontrolliert [10].
- Die Zahl der C-Atome variiert zwischen 16 und 24, was einer Differenz der Kettenlänge von $\Delta L \sim 1,2$ nm entspricht. Besonders bemerkenswert ist die unterschiedliche Zusammensetzung der hydrophoben Ketten der Glycerophospholipide und der Fraktion der Sphingomyeline (Tab. 9.4). Letztere enthalten besonders hohe Anteile an langen, gesättigten Fettsäuren ohne Doppelbindungen (C18:0 und C24:0) oder mit nur einer Doppelbindung (C24:1). Dagegen haben alle anderen Lipide einen hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Wichtige Konsequenzen dieser Unterschiede in der Zusammensetzung werden wir weiter unten sehen.
- Die Zusammensetzung der Mitochondrien (vor allem der inneren Membran) unterscheidet sich stark von der der anderen Kompartimente durch einen hohen Anteil von zweifach geladenem Cardiolipin.
- Da die Membranen Räume mit sehr verschiedener Zusammensetzung trennen, sind die Lipide unterschiedlich zwischen den beiden Monoschichten verteilt [9]. Mit den oben erwähnten Experimenten mit Phospholipasen wurde die asymmetrische Verteilung in der Plasmamembran der Erythrozyten analysiert. Dabei zeigt sich: 96 % des Sphingomyelins und 100 % der Glykolipide befinden sich in der äußeren Monoschicht, während die geladenen Lipide fast ausschließlich in der inneren Hälfte residieren. 75 % des Phosphatidylcholins befinden sich in der äußeren und 80 % des Phosphatidylethanolamins in der inneren Membranhälfte. Wir werden weiter unten sehen, dass die vektorielle Verteilung der Lipide mit der polaren Orientierung der Membranproteine einhergeht, was für den Ionen-transport durch Membranen absolut notwendig ist. Die Polarität der Membran wird aktiv aufrechterhalten. Es gibt eine Reihe von Hinweisen, dass dies durch spezifische Transportproteine, so genannte Flippasen, geschieht (s. Abb. 12.7b).

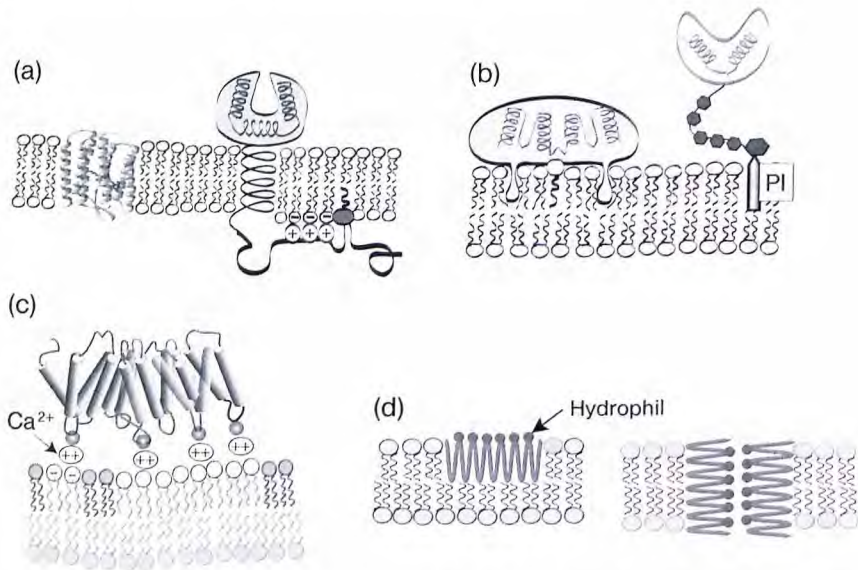


Abb. 9.4 Schematische Ansicht von vier Gruppen von Membranproteinen. (a) Verankerung durch eine oder mehrere die Membran durchdringende Peptiddomänen mit hydrophoben Peptid-Seitenketten. Die Domänen bilden in der Regel α -Helices, aber auch β -Faltblattstrukturen sind möglich (Beispiel: porenbildende Proteine in der äußeren Membran gramnegativer Bakterien, wie Porine).

Die Bindung ist aufgrund des hydrophoben Effekts sehr stark. (b) Verankerung mit speziellen Lipidankern mit Kopfgruppen aus Inositol und assoziierten Zuckermolekülen (oft PI-Anker genannt). (c) Elektrostatisch vermittelte Kopplung von extrinsischen Proteinen. (d) Zwei Mechanismen der Bindung von Polypeptiden, die amphipatische α -Helices bilden.

9.3.1.2 Die vier Hauptklassen der Membranproteine: ein Überblick

Man kann die Membranproteine, *cum grano salis*, in zwei Hauptklassen einteilen: in integrale und in periphere Proteine, die in Abbildung 9.4 schematisch dargestellt sind. Die Vertreter der ersten Gruppe durchdringen die Membran mit einer oder mehreren α -Helices und umfassen Ionenkanäle, Hormonrezeptoren, aber auch photosynthetische Reaktionszentren. Auch die meisten Zelladhäsionsmoleküle (s. Kapitel 13) wie Integrine und Selektine gehören dazu. Zur Gruppe peripherer Membranproteine gehören Rezeptoren der Zelloberfläche, welche mit einem Lipidanker in die Membran eintauchen. Dieser amphipatische Anker besteht aus einem Phosphoinositol mit ca. fünf Zuckerresten, die über Phosphatgruppen an das Inositol des Lipids und das Aminoende des Proteins gekoppelt sind. Sehr viele Proteine docken nur über eine oder mehrere Fettsäuren an (wie Palmitinsäure). Viele an der Signalübertragung in Zellen beteiligte hydrophile Proteine, die als biochemische Schalter wirken (wie die weiter unten behandelten GTPasen oder Phospholipasen), werden auf diese Weise in der Nähe der Membran gehalten, um die Geschwindigkeit der biochemischen Reaktionen zu steigern (Abb. 9.4b). Die Bindung kann auch über elektrostatische Kräfte vermit-

telt werden. Ein prominentes Beispiel ist die durch Calcium vermittelte Kopplung der Annexine an Membranbereiche mit einem hohen Anteil an negativen Lipiden. Sie besitzen die Form einer leicht konischen Platte, auf deren der Membran zugewandten Stirnseite negativ geladene Sauerstoff-Atome so angeordnet sind, dass sie Calcium binden. Diese bilden ihrerseits Salzbrücken mit den negativ geladenen Lipiden [12].

Eine besondere Art der Kopplung zeigt Abbildung 9.4d. Polypeptide, deren Primärstruktur so eingestellt ist, dass eine α -Helix mit hydrophoben Seitenketten entlang einer Linie entsteht (*amphipatische Helices* genannt), können mit ihrer hydrophoben Längsseite in die Membran eindringen. Zwei (oder mehrere) solcher Helices können die Membran durchdringen, indem sich die hydrophilen Streifen zueinander schmiegen und auf diese Weise einen Kanal bilden.

Ein allgegenwärtiger Mechanismus zur dynamischen Kopplung von Proteinen an Membranen besteht in der spezifischen Bindung an phosphorylierte Phosphatidylinositol (PI), wie Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PI-4,5-P2). Die Phosphorylierung der Inositol-Kopfgruppen erfolgt durch spezifische Kinasen (wie PI-3-Kinase) und die Abspaltung der Phosphatgruppen durch zugeordnete Phosphatasen. Die Kopplung erfolgt durch Bindung der Lipide an spezifische Proteindomänen, die vielen Proteinen gemeinsam sind. Dazu gehört insbesondere die so genannte Pleckstrin- (PH-)Domäne. Der Kopplungsmechanismus spielt vor allem für die Signalübertragung in Zellen und für die Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts eine zentrale Rolle, wie wir noch sehen werden (s. Kapitel 18).

Da es extrem schwierig ist, Membranproteine zu kristallisieren, gibt nur ganz wenige Strukturbestimmungen mit atomarer Auflösung (d. h. bis 0,2 nm). Beispiele sind das Reaktionszentrum photosynthetischer Bakterien (Kapitel 30), Bakteriorhodopsin (Abb. 9.6) und der Kaliumkanal Kapitel 15.

Eine Möglichkeit Information darüber zu erhalten, ob und, gegebenenfalls, wie sich ein Protein in Membranen einbaut, besteht in der Analyse der Primärstruktur. Wir wollen diese wichtige Methode am Beispiel des Bande III-Proteins der Erythrozyten zeigen. Diese Information wird durch Rekonstitutionsexperimente und Funktionstests ergänzt. Dazu löst man die Proteine mit Detergenzien (wie Fettsäuren oder Triton) aus den Membranen heraus, baut sie wieder in künstliche Membranen ein und analysiert die Funktion (s. Übungsaufgabe 12.4).

Zur Klärung der Frage, ob ein Protein in Membranen einbaut, benutzt man die Methode der Hydrophobizitäts-Kartierung, die auf folgender Idee basiert: Man kann jeder Seitenkette der Aminosäure einen empirischen Index der Polariät zuordnen, der ein Maß für ihre Tendenz ist, sich in hydrophober Umgebung aufzuhalten. Dieser empirische Index wurde durch Analyse der Verteilung der 20 natürlichen Aminosäuren in globulären Proteinen und in Membranen gewonnen und basiert auf der Beobachtung, dass sich Aminosäuren mit hydrophoben Seitenketten bevorzugt in diesen Regionen aufhalten (s. [13]). Der Index reicht von +4,5 (extrem hydrophob, wie Isoleucin oder Valin) bis -4,5 (extrem hydrophil, wie Arginin oder Glutaminsäure). Abbildung 9.5 zeigt die Kartierung für den Anionentransporter Bande III [14]. Die Werte der Indices für die ersten 420 Peptide fluktuieren statistisch mit einer Präferenz für negative Vorzeichen, während die fol-

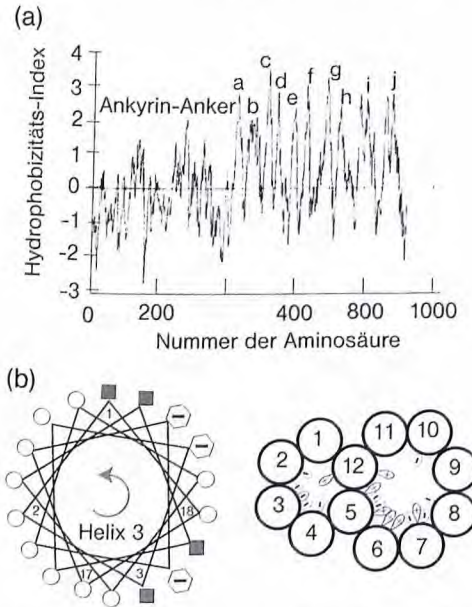


Abb. 9.5 (a) Charakterisierung der Hydrophobizität der 927 Aminosäuren des Bande III-Anionenaustauschers aus humanen Erythrozyten. Aufgetragen ist der Grad der Hydrophobizität (angegeben als Index von $-4,5$ bis $+4,5$) als Funktion der Nummer der 927 Peptide. Die ersten 420 Peptide sind stark hydrophil, zeigen in das Zytoplasma. Die ca. 8 nm lange Domäne vermittelt die Kopplung mit Ankyrin (s. Abb. 9.2c). Die folgenden 475 Peptide zeigen zehn Sequenzen mit stark hydrophoben Seitengruppen, die durch kurze hydrophile Stücke unterbrochen sind (nach [16]). Sie durchdringen die Membran mit 12 α -Helices, wobei die Banden b und i zwei amphipatische Helices bilden und daher nahe

beieinander liegen. Die 13te Helix ragt aus heutiger Sicht in das Zytoplasma. (b) Links: Rad-Diagramm der Peptide, welches die Polarität der Seitenketten aller 18 Aminosäuren der Helix Nr. 3 in azimuthaler Richtung angibt. Man beachte, dass die hydrophoben Seitenketten (Kreise) auf der linken Seite angehäuft sind, sodass sie in Kontakt mit dem hydrophoben Bereich der Membran treten können. Die rechte Seite enthält die polaren und geladenen Gruppen (Karus und Sechsecke), welche in das Innere des Kanals weisen. Rechts: Das aus dem Rad-Diagramm folgende Modell des Anionenkanals zeigt, dass der Innenraum der Poren mit geladenen Gruppen ausgekleidet ist.

genden 475 Peptide in zehn Banden (a-j) mit positiven Werten zerfallen, die durch hydrophile Sequenzen unterbrochen sind. Eine genauere Betrachtung zeigt, dass die hydrophoben Sequenzen mit einem Index von $> +1,5$ zwischen 20 und 24 Aminosäuren umfassen. Da eine Ganghöhe der α -Helix ($P = 0,54$ nm) durch $n = 3,6$ Peptide gebildet wird, entspricht dies einer Höhe von $3,0$ – $3,6$ nm, die recht gut mit der Dicke des hydrophoben Kerns der Membranen übereinstimmt. Zwei der Banden (b und i) enthalten die doppelte Zahl hydrophober Peptide und bilden daher wohl zwei amphipatische Helices (Abb. 9.4d).

Noch etwas tieferen Einblick liefert die Analyse einzelner Banden durch Darstellung der Verteilung der Peptidseitengruppen als Rad-Diagramm, das einem

Blick in Richtung der Helixachse entspricht (Abb. 9.5b). Daraus erkennt man sofort, wie die Polarität der Seitengruppen in den membrandurchspannenden Helices entlang dem Polarwinkel verteilt ist. Das Beispiel der Helix 3 zeigt, dass die semipolaren und einige geladenen Peptide sich entlang einem Streifen parallel zur Helixachse ansammeln. Zusammen genommen legt die Verteilung der Seitenketten das in Abbildung 9.5b gezeigte Modell nahe. Die spezifische Anordnung der Helices führt zur Ausbildung von Poren mit polaren und teilweise geladenen Innenwänden, die den Ionentransport vermitteln können. Die aus den Aminosäuren 1–420 gebildete extrazelluläre Domäne ragt ca. 8 nm in den zyttoplasmatischen Bereich hinein und vermittelt die Kopplung mit Ankyrin. Die aus der Hydrophobizitätskarte abgeleitete Struktur wurde mittels hochauflösender Elektronenmikroskopie bestätigt [15].

9.4

Aufbau elektrischer Potenziale durch molekulare Pumpen und Ionen-Transporter

Eine zentrale Aufgabe aller Membranen ist der Aufbau und die Kontrolle der elektrischen und chemischen Potenziale zwischen dem Zytoplasma und dem extrazellulären Raum bzw. den Lumen der Organellen. Zu diesem Zweck erwerben die Membranen der intrazellulären Organellen und der Zellhülle während der Differenzierung (bei der embryonalen Entwicklung) spezifische Sätze von Transportproteinen und Ionenkanälen. Dazu zählen Pumpen für die wichtigsten Ionensorten H^+ , Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} und für Zuckermoleküle sowie Poren für Wassermoleküle (Abb. 9.6a). Plasmamembranen (wie die der Erythrozyten) enthalten ca. 20 verschiedene Arten von Transportern. Eine Sonderrolle spielt die große Gruppe von ATP-getriebenen *ABC-Transportproteinen* (von engl. *ATP binding cassette*). Diese befinden sich vorwiegend in Plasmamembranen und transportieren Aminosäuren, anorganische Ionen, Mono- und Polysaccharide, Peptide oder Proteine. Eine Gruppe von organischen Moleküle transportierenden ABC-Transportern kommt in Parasiten und Krebszellen vor und machen diese gegen Pharmaka resistent, indem sie diese ständig aus den Zellen entfernen.

Der Ionentransfer wird durch wenige Klassen von Transportern bewerkstelligt, die sich in den Energiequellen und den Mechanismen des Transports unterscheiden. Dieser kann durch ATP-Hydrolyse, elektrochemische Potenziale und Photonen bewerkstelligt werden. Die Vertreter der ersten Klasse von Transportern (die man als ATPasen bezeichnet) bestehen aus zwei Unterklassen: den P-Typ und den V-Typ-ATPasen.

Prominente Beispiele des P-Typs sind:

- Die Na^+/K^+ -ATPasen (Abb. 9.7), welche Na^+ -Ionen in den Außenraum und K^+ -Ionen in den zyttoplasmatischen Raum pumpen und so die Membranpotenziale erregbarer Membranen schaffen (s. Kapitel 15) oder den Urin entsalzen, indem sie Na^+ aus den Tubuli der Nieren über die Epithelzellschicht in den Blutstrom zurückpumpen (s. [17]).

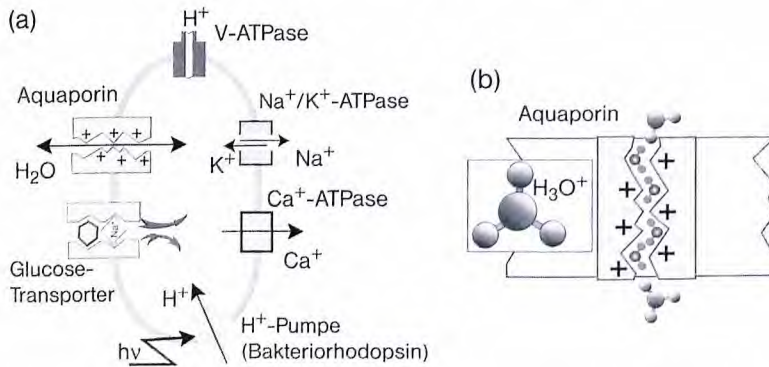


Abb. 9.6 (a) Auswahl einiger wichtiger Transportproteine für Ionen oder kleine Moleküle durch Membranen. (b) Schematische Struktur der Aquaporin-Pore und des nicht solvatisierten Hydronium-Ions.

- Die H⁺/K⁺-ATPasen, welche für die Schaffung des sauren pH-Wertes im Magen zuständig sind.
- Die Ca²⁺-ATPasen, die den sehr niedrigen Calcium-Spiegel (von 10⁻⁷ M) der Zellen aufrechterhalten, indem sie diese Ionen in Speichervesikel, wie das *Sarkoplasmatische Retikulum* der Muskelzellen oder den Außenraum der Zellen pumpen.

Bei den V-typ-ATPasen handelt es sich meist um H⁺-Pumpen. Dies sind sehr große Proteinkomplexe (von 400 kDa) mit ähnlicher Struktur wie die ATP-Synthasen. Sie sind sehr zahlreich in Lysosomen, wo sie für den sauren pH-Wert von 5 sorgen.

Durch chemische Potentiale getriebene Pumpen transportieren Ionen oder als Nahrung dienende Moleküle entgegen dem Konzentrationsgradienten, indem gleichzeitig andere Ionen in Richtung ihrer chemischen Potentiale fließen. Ein Beispiel ist das Na⁺/Ca²⁺-Austauschprotein, das bei der Feinregulierung der Calciumspiegels im Zytoplasma beteiligt ist. Dabei werden zwei Na⁺-Ionen gegen ein Ca²⁺ ausgetauscht, um Elektroneutralität zu gewährleisten. Das chemische Potenzial des Na⁺ spielt auch beim Transport anderer Komponenten eine Rolle. Ein wichtiges Beispiel ist der Na⁺/H⁺-Austauscher. Dieser entfernt Protonen, die bei metabolischen Prozessen entstehen (wie Buttersäure beim Krebszyklus), aus dem Zytoplasma. Na⁺-getriebene Transporter sorgen auch für den Transfer von Zuckermolekülen in Bakterien und transportieren Glucose und Aminosäuren vom Darm in den Blutstrom (s. [17]).

Obwohl einzelne Wassermoleküle relativ leicht Membranen penetrieren können, besitzen viele Zellen einen spezifischen Kanal für H₂O: das *Aquaporin*. Diese Poren ermöglichen einen viel schnelleren Wassertransport durch die Zellen, was besonders für Erythrozyten wichtig ist, die oft schnell auf Änderungen des osmotischen Drucks reagieren müssen. Ein Aquaporin-Kanal kann ca. 3 · 10⁹ H₂O-Moleküle pro Sekunde transportieren. Die Pore besteht aus Dimeren

(aus jeweils sechs die Membran durchspannenden α -Helizes), die einen Kanal mit einem kleinsten inneren Durchmesser von 0,3 nm haben. Der Transport ist passiv (in Richtung des chemischen Potenzialgradienten), aber hoch selektiv. Eine noch offene Frage ist, wie der Transport von Protonen durch die 0,3 nm großen Poren unterbunden wird, die durch Bildung von Hydronium-Ionen ja an Wasser gebunden sind (s. Kapitel 7 und Abb. 9.6b).

9.4.1

Mechanismus des Ionen-Transports durch P-Typ-ATPasen

Wir diskutieren nun am Beispiel der Na^+/K^+ -ATPase unsere heutige Vorstellung vom Mechanismus des Ionentransports. Man kann diesen auf der Basis des in Abbildung 9.7 gezeigten Zweizustands-Modells verstehen, obwohl der Übergang zwischen den Zuständen in beide Richtungen über mehrere kurzlebige Zwischenzustände laufen kann. Das Modell basiert auf folgenden Annahmen (s. [18]):

Der Transporteur existiert in zwei Zuständen E_1 und E_2 .

- Der Zustand E_1 wird durch ATP-Bindung (Phosphorylierung) stabilisiert (ein Prozess, der Mg^{2+} benötigt), während der Übergang von E_1 zu E_2 durch ATP-Hydrolyse induziert wird.
- Zustand E_1 hat eine hohe Affinität für Na^+ , aber eine niedrige für K^+ , während E_2 sich genau umgekehrt verhält.
- Na^+ -Bindung aktiviert die Phosphorylierung (unter Abspaltung von ADP) und leitet so den Transportprozess durch die Membran ein, während die Bindung von K^+ die Abspaltung des Phosphats katalysiert und so den Übergang von E_2 zu E_1 erzwingt.
- Die durch ADP-Abspaltung induzierte Konformationsumwandlung verschiebt die Bindungsstellen für beide Ionen von der zytoplasmatischen auf die extrazelluläre Seite.

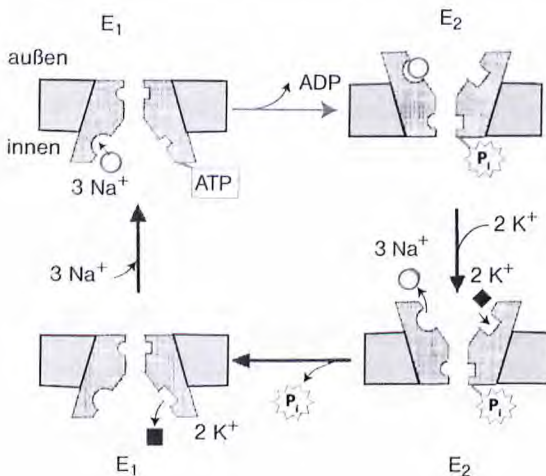


Abb. 9.7 Vereinfachtes Schema des molekularen Mechanismus des Na^+/K^+ -Antipports durch P-Typ-ATPasen. E_1 und E_2 sind zwei Konformationszustände der Pumpe. Der Übergang $E_1 \rightarrow E_2$ wird durch ATP-Hydrolyse und die Rückreaktion $E_2 \rightarrow E_1$ durch Phosphat-Abspaltung (P_i) getriggert. Na^+ bindet stark an E_1 und schwach an E_2 , K^+ verhält sich umgekehrt. Man beachte, dass pro ATP-Spaltung drei Na^+ -Ionen nach außen und zwei K^+ -Ionen nach innen gepumpt werden.

Der Pumpprozess besteht in einer zyklischen Folge von Ereignissen. Die Bindung von Na^+ aktiviert die Kopplung von ATP an eine Aspartat-Gruppe. Hydrolyse und Abspaltung von ADP induziert den Konformationsübergang von E_1 zu E_2 , wodurch die Bindungsstelle zur gegenüberliegenden Seite der Membran verschoben wird. Dort spaltet Na^+ aufgrund der reduzierten Bindungsstärke ab, während K^+ gleichzeitig an seine Bindungsstelle andockt. Die dadurch ausgelöste Abspaltung des Phosphats (P_i) induziert den Übergang von E_2 zu E_1 und schließt den Zyklus mit der Dissoziation des K^+ -Ions ab.

Die Ca^{2+} -ATPase funktioniert auf ähnliche Weise. In diesem Fall hat Ca^{2+} eine sehr hohe Affinität für den Zustand E_1 (Dissoziationskonstante $K_D = 10^{-7}$ M) und eine sehr kleine für E_2 ($K_D = 10^{-2}$ M). Es ist dieser enorme Unterschied in den K_D -Werten, der den Zellen erlaubt, eine intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration von $\sim 0,1 \mu\text{M}$ aufrechtzuerhalten (zur Struktur der Ca^{2+} -ATPase s. [19]).

9.4.2

Zur Energetik der Pumpen

Die Energiequellen der Transportproteine sind an die Aufgabe angepasst. Betrachten wir dazu die Na^+ - K^+ -ATPase der Erythrozyten. Diese hilft den Zellen, bei der Feinregulierung ihres osmotischen Gleichgewichts, falls die Ionenkonzentration des Blutplasmas geändert wird. Das Verhältnis der Ionenstärken muss im Innen- und Außenraum so eingestellt werden, dass die osmotische Druckdifferenz sehr klein ist (Abb. 9.8). Dies kann einerseits durch Ein- oder Ausfluss von Wasser geschehen, was mit einer Änderung des Volumens verbunden ist, und andererseits durch Änderung der Ionenstärke in der Zelle mithilfe der Pumpen.

Die chemischen Potenziale der Na^+ - und K^+ -Ionen zwischen Zytoplasma der Erythrozyten und Blutplasma betragen:

$$\Delta\mu_{\text{Na}} = k_B T \ln \frac{[\text{Na}^+]_{\text{in}}}{[\text{Na}^+]_{\text{a}}} \approx -6 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$\Delta\mu_{\text{K}} = k_B T \ln \frac{[\text{K}^+]_{\text{in}}}{[\text{K}^+]_{\text{a}}} \approx +9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Da pro Elementarakt drei Na^+ - und zwei K^+ -Ionen transportiert werden, wären ca. 36 kJ/mol zur Aufrechterhaltung des obigen stationären Gleichgewichts notwendig. Die pro ATP frei werdende freie Energie ΔG liegt unter den üblichen physiologischen Bedingungen der Zelle bei -50 kJ/mol, ist also ausreichend [8].

Wie viele andere Enzyme (z. B. die ATP-Synthase) können die ATPasen vom P-Typ in beide Richtungen betrieben werden. Wird der Konzentrationsgradient der Ionen so weit erhöht, dass das elektrochemische Potenzial höher ist als die freie Energie der ATP-Hydrolyse, so produzieren die Pumpen ATP.

Die P-Typ-ATPase gehört zu den wenigen Beispielen, an denen man die Wirkung von Pharmaka auf molekularer Ebene studieren kann. Die Pumpen besitzen auf der extrazellulären Seite eine Bindungsstelle für Steroide (insbesondere von Digitalis, einem Steroid aus dem Fingerhut). Deren Bindung inhibiert die Aktivi-

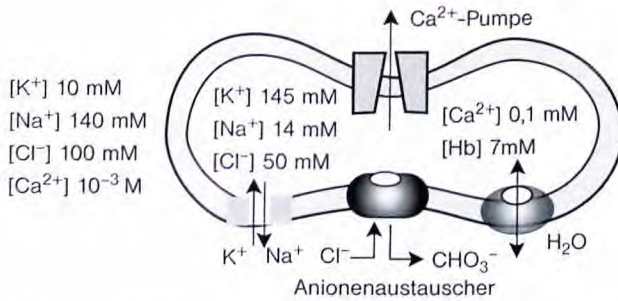


Abb. 9.8 Vergleich der Gleichgewichtskonzentrationen einiger wichtiger Ionen im Blut und im Zytosol der Erythrozyten. Das elektrische Potenzial über die Membran ist 6 mV (innen negativ). Hämoglobin (Hb) hat eine Überschussladung von $+14e$.

tät der ATPase und führt zu einem Anstieg des Ca^{2+} -Spiegels in der Zelle. Dadurch wird die Aktivität des Herzmuskels schon bei sehr kleinen Konzentrationen des Steroids ($\sim 10^{-8} \text{ M}$) erhöht.

9.5

Ein kurzes Intermezzo über die Biosynthese der Membranen

Wie schon erwähnt, sind die Membranen des Endoplasmatischen Retikulums (ER) der zentrale Orte der Biosynthese. Während die Proteine am rauen, mit Ribosomen bedeckten ER entstehen, werden die Lipide in der glatten Fraktion synthetisiert. Die Durchmischung der Komponenten erfolgt durch Diffusion in der Ebene der Membran. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Lipide und Membranproteine in konzertierter Weise synthetisiert werden, da die im Laufe der Evolution entstandene Zusammensetzung von Generation zu Generation weitergegeben wird. Wir werden in Kapitel 12 Mechanismen der selektiven Lipid-Protein-Wechselwirkung kennenlernen, die dafür sorgen können, dass die spezifische Zusammensetzung der Proteine und Lipide erhalten bleibt. Die Synthese neuer Membranen (z. B. von ER vor der Zellteilung) benötigt stets die bestehende Membran als Templat. Membranen sind daher auch Träger biologischer Information. Der Grund mag darin liegen, dass die Synthese eines Großteils der Proteine an Membranen des ER lokalisiert ist (s. Abb. 2.5).

Abbildung 9.9 zeigt ein vereinfachtes Schema der Synthese eines löslichen Proteins durch ein Ribosom und seines Transfers durch die Membran in das Lumen des ER. Die Natur hat für diesen Zweck im Laufe der Evolution eine raffinierte universelle Maschine entwickelt. Ein wesentlicher Bestandteil ist ein riesiger Komplex aus RNA und mehreren Proteinen, der so genannte *Signal-Erkennungskomplex* (SEK, engl. SRP für *signal recognition particle*), der ein Bindeglied zwischen Ribosomen und ER-Membran herstellt. Jede Synthese eines Proteins beginnt mit einer Vorläufer- oder Signalsequenz. Diese wird von dem SEK-Aggregat erkannt, das gleichzeitig an das Ribosom und an einen Rezeptor (den SEK-Re-

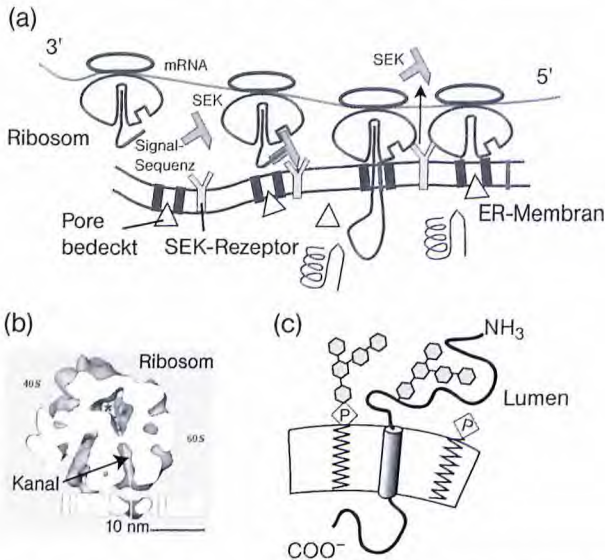


Abb. 9.9 (a) Transfer der neu synthetisierten Proteine durch die Membran des ER. Jedes neu synthetisierte Protein beginnt mit einer universellen *Signalsequenz*, die von der *Translationsmaschine* erkannt wird. Diese besteht aus einem Signal-Erkennungskomplex (SEK) und einem in der ER-Membran residierenden Rezeptor (SEK-Rezeptor). Der SEK besteht aus einem sehr großen (ca. 25 nm langen) Aggregat aus mehreren Proteinen und einem RNA-Strang. Die neu entstehende Signalsequenz bindet an den SEK und induziert dessen Kopplung an den membrangebundenen SEK-Rezeptor. Dadurch wird die Translokation der wachsenden Sequenz durch eine Pore in der ER-Membran eingeleitet (s. Text). Im Fall löslicher Proteine wird die Signalsequenz nach dem vollständigen Transfer wie im gezeigten Fall abgeschnitten. (b) Modell der Bindung des Ribosoms an die Transloka-

tions-Pore (sog. Sec61-Protein) in der ER-Membran, wodurch eine durchgehende Röhre vom Innern des Ribosoms durch die Membranpore in das Lumen gebildet wird. Man beachte, dass das Ribosom (Durchmesser 25 nm) die Pore dicht abschließt, damit kein Leck zwischen den beiden Räumen entsteht. Dadurch wird der Austausch von Ionen zwischen den beiden Räumen vermieden. Das Bild wurde aus EM-Aufnahmen rekonstruiert (nach [20]). (c) Transfer von Oligosacchariden von einem Lipid an die Kopfgruppe eines membranständigen Glykoproteins durch Bindung an die NH₂-Gruppe eines Asparagins. Man spricht daher von *N-Verknüpfung*. Die Glykoproteine werden später im Golgi modifiziert. In diesem werden auch andere Zuckermoleküle an die Proteine gekoppelt, wobei diese Kopplung über OH-Gruppen erfolgt und deshalb *O-Verknüpfung* genannt wird.

zeptor) in der Membran bindet, wodurch ersteres eng an die Membran angedockt wird. Seit Mitte der 1990iger-Jahre wissen wir, dass der Transfer der neu entstehenden Peptidkette durch die Membran durch eine Pore erfolgt, die von mehreren integralen Membranproteinen gebildet wird. Durch diese schieben sich die Signalsequenz und die wachsenden funktionellen Domänen des Proteins. Um den Verlust von Ionen (insbesondere Ca²⁺) zu verhindern, bindet das Ribosom so fest an die Membranoberfläche, dass eine dichte Verbindung entsteht. Es entsteht so ein abgeschlossener Kanal, der vom Innern des Ribosoms bis in das Zytoplasma reicht. Nach Abschluss der Synthese wird die noch in der Pore steckende

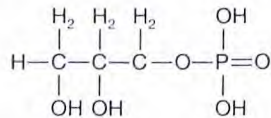
Signalsequenz von Schneideproteinen abgeschnitten und das Protein entweicht in das Lumen.

Die Universalität der Maschine zeigt sich darin, dass der Prozess auch bei integralen Membranproteinen funktioniert. In diesem Fall wird der Transfer durch eine zusätzliche hydrophobe Signalsequenz von Peptiden unterbrochen, die die extrazellulären und intrazellulären Domänen des Proteins trennt. Sobald diese die Membran durchdrungen hat, stoppt der Transferprozess. Die hydrophobe Signalsequenz bleibt in der Membran als Anker des Proteins, während die hydrophile wieder abgeschnitten wird. Eine detailliertere Darstellung des Synthese- und Transferprozesses für Rhodopsin findet man in [18].

Eine andere interessante Frage ist, wie der Erkennungskomplexes SEK so viele unterschiedliche Signalsequenzen der großen Vielfalt von Proteinen erkennen kann. Diese Fähigkeit beruht wieder auf dem hydrophoben Effekt. Ein Protein des Peptid-RNA-Aggregats bildet eine Tasche, die von einer Peptid-Sequenz aus sehr hydrophoben Methionin-Seitenketten gebildet wird. Da diese lange Seitenketten besitzen ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), bilden sie eine weiche Tasche, in welche sich die ebenfalls hydrophoben Signalsequenzen eingraben können. Insgesamt gesehen ist der Transfer der naszierenden (neu synthetisierten) Proteine wieder ein besonders schönes Beispiel des Zusammenspiels zwischen Genetik und Physik und der überragenden Bedeutung des hydrophoben Effekts für die Selbstorganisation biologischer Materie.

An den Ribosomen werden nur die Polypeptide gestrickt. Die Ankopplung der zahlreichen Oligozucker-Reste erfolgt separat, und zwar sowohl im ER als auch im Golgi (Abb. 9.11). Im ER werden sie an die NH_2 -Gruppen der Aminosäuren (wie Asparagin) gekoppelt, und zwar unter Vermittlung des Glykolipids *Dolicholsulfat* (s. Abb. 9.9c).

Die Phospholipide werden aus Fettsäuren und dem Rückgrat der Phospholipide, Glycerol-3-phosphat



aufgebaut, und zwar durch sukzessiven Transfer der Fettsäuren an die OH-Gruppen des Glycerols. Die zwei Fettsäuren werden über die äußere Monoschicht nacheinander durch Koenzyme übertragen. Dabei entsteht Phosphatidsäure als Vorläufer aller anderen Phospholipide. Die spezifischen Kopfgruppen werden schließlich über spezifische Transferasen an das Phosphat angedockt. Man kann sich gut vorstellen, dass die Synthese der Proteine und der Lipide so koordiniert wird, dass biochemische Prozesse der Membran optimiert werden.

Die Lipidsynthese erfolgt vorwiegend am glatten ER. Die Synthese der Proteine und der Lipide muss dabei jedoch so koordiniert werden, dass nicht nur das Verhältnis von Lipiden zu Proteinen gleich bleibt, sondern dass sich dabei auch die Zusammensetzung der Fettsäuren nicht wesentlich ändert. Das bestehende ER dient dabei offenbar als Templat. Wie die Zusammensetzung der neu syntheti-

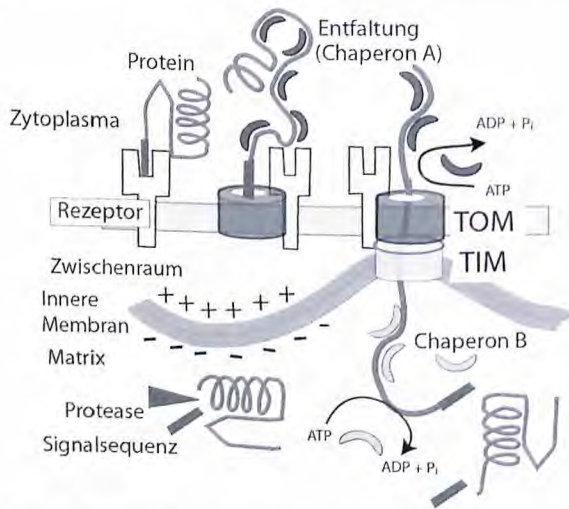


Abb. 9.10 Transfer der am ER synthetisierten Proteine (z. B. der Proteine der Elektronentransfer-Kette) in den Matrixraum der Mitochondrien. Das Protein trägt am Amino-Ende eine Signalsequenz mit einem hohen Anteil positiver Ladungen. Im ersten Schritt wird das Protein durch das Helferprotein Chaperon A in kontrollierter Weise entfaltet. Der Transfer erfolgt durch zwei Poren (Translokatoren) in der äußeren und inneren Membran (TOM und TIM), die während des Transfers miteinander gekoppelt sind. Nach dem Durchtritt der Signalsequenz wird diese durch eine Protease abgeschnitten, während die austretende Peptidkette des Enzyms von Chaperonen der Matrix empfangen wird. Diese liefern eine

treibende Kraft für den Transfer des Proteins in den Innenraum. Eine weitere Triebkraft ist das große elektrische Potenzial über die innere Membran. (nach [18, 22].) Die interessanteste physikalische Frage ist natürlich die nach dem molekularen Mechanismus der Translokation und der treibenden Kraft. Biologische Experimente zeigen, dass sowohl das sehr große elektrische Potenzial zwischen Innen- und Außenraum von -200 mV als auch die Chaperone im Matrixraum wichtig sind. Unterdrückt man das Potenzial durch Inhibition der oxidativen Phosphorylierung, so stoppt die Translokation. Mutanten mit fehlerhaften Chaperonen können keine Proteine mehr importieren.

sierten Lipide kontrolliert wird ist noch ein Rätsel. Möglicherweise spielt dabei die in Kapitel 12 diskutierte Adaption der hydrophoben Domänen der Lipiddoppelschicht und der Proteine eine Rolle.

9.5.1

Proteintransfer in Mitochondrien

Obwohl Mitochondrien (wie Chloroplasten) einen eigenen genetischen Apparat (aus DNA, Ribosomen und den anderen Helferproteinen) besitzen, werden die meisten (einige 100) mitochondrialen Proteine im Zytoplasma (durch gelöste Ribosomen) synthetisiert und müssen in den Matrixraum importiert oder in Membranen eingebaut werden. Wir skizzieren hier nur die wesentlichen Schritte des Transfers. Ausführliche Darstellungen des umfangreichen Gebiets findet man in [21] oder [18].

Der Transferprozess in das Mitochondrion ist komplexer als der durch das ER, denn er benötigt Transfersysteme (*Translokasen*) durch die äußere und die innere Membran. Die zum Import bestimmten Proteine tragen wieder Vorläufersequenzen, die so aus unpolaren, polaren und positiv geladenen Peptiden aufgebaut sind, dass sie amphipatische Helices bilden. Diese werden von Rezeptoren in der äußeren Membran erkannt. Der Transfer durch die äußere und innere Membran erfolgt durch zwei porenbildende supramolekulare Komplexe (TOM und TIM), die sich durch Deformation der inneren und äußeren Membranen sehr nahe kommen können, um einen durch beide Membranen gehenden Kanal zu bilden. Man nennt diese Poren auch *Proteintranslokatoren*. Der Transport durch enge Poren erfordert zunächst die Entfaltung der Polypeptide, eine Aufgabe, die von Chaperonen aus der Familie der Hitzeschockproteine übernommen wird.

Der Prozess erfolgt durch beide Poren gleichzeitig, wie folgendes elegante Experiment mit isolierten Mitochondrien zeigt. Man unterbricht den Transfer durch schnelles Ankühlen und spaltet im ersten Schritt das aus der Außenhülle ragende C-terminale Peptidende mit Proteasen ab. Nach Aufbrechen der Membranen mit Detergenzien spaltet man auch das aus der inneren Membran in den Matrixraum ragende Aminoende ab. Die Sequenzanalyse der Stücke zeigt, dass sich die Vorläufersequenz schon im Innenraum der Mitochondrien befindet, während die eigentliche Proteindomäne noch aus der Oberfläche hervorragt. Dies zeigt, dass das Protein gleichzeitig die TOM- und TIM-Pore durchdringt. Der Transfer von Membranproteinen ist etwas komplexer und der Leser wird auf die Darstellung dieses Prozesses in [18] verwiesen. Wie Abbildung 9.10 zeigt, erfordert die Entbindung der Chaperone auf beiden Seiten der Trennwand die Energie einer ATP-Spaltung.

Ein Modell der Translokation beruht auf folgender Idee des *Brownschen Flügelrads* (engl. *Brownian ratchet*). Wenn die Bindung des Proteinsegments in der Pore schwach ist, so wird dieses lebhaften Brownschen Bewegungen in Richtung der Achse ausführen. Daher wird das Vorderende des Proteins (aufgrund der eindimensionalen Diffusion) immer wieder ein Stück in den Innenraum hineinragen. Ist dieses Stück zufällig so lang, dass das Chaperon binden kann, wird es festhalten. Auf diese Weise wird das Protein nach und nach in den Innenraum gezogen.

9.6

Intrazellulärer Transport durch Vesikel schafft Ordnung in den Zellen

Was jedermann beim Betrachten vitaler Zellen im Mikroskop besonders beeindruckt, ist die lebhaft und chaotisch erscheinende Bewegung der intrazellulären Organellen. Eine wesentliche Ursache ist der geregelte und bidirektionale Materialtransport zwischen dem ER und der Plasmamembran, verbunden mit dem Export (Exozytose und Sekretion) von Abfallprodukten oder Hormonen und dem Import (Pinozytose und Endozytose) von Nährstoffen.

Es gibt zwei Mechanismen der Exozytose. Erstens einen ständigen Transfer von Vesikeln vom *trans*-Golgi zur PM, wobei wichtige Bausteine der Membran wie

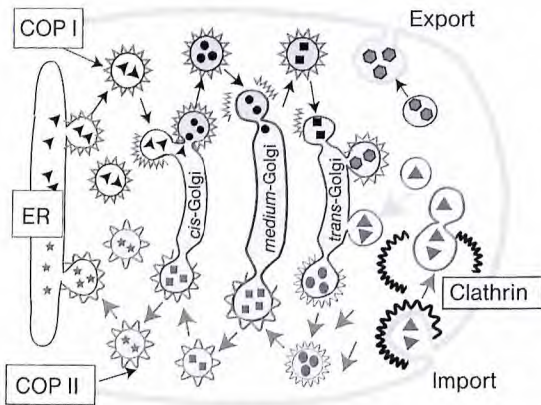


Abb. 9.11 Schrittweiser bidirektionaler, durch Vesikel vermittelter intrazellulärer Transport vom ER zur Plasmamembran (verbunden mit dem Materialexport = Exozytose) und von der Plasmamembran zum ER (verbunden mit dem Materialimport = Endozytose). Jeder Schritt erfordert eine Knospungs-Fissions-Fusions-Ereigniskette, wobei die Knospung meist durch Adsorption von Mantelproteinen eingeleitet wird. Der Transport zwischen dem ER und dem Golgi-Apparat wird durch das

Mantelprotein COP I und vom Golgi zum ER durch COP II vermittelt. Der Import wird durch Adsorption des Mantelproteins Clathrin induziert, wobei das abgespaltene, ummantelte Vesikel zuerst mit Lysosomen fusioniert (s. auch Abb. 9.13). Man beachte, dass die Abspaltung sekretorischer Vesikel für den Export ohne Mantelproteine erfolgen kann. Ein zweiter Weg des Imports läuft über Pinozytose und das Mantelprotein Caveolin (s. Kapitel 12).

Glykoproteine und Glykolipide, in die Zellhülle eingebaut werden. Zweitens der kontrollierte Export von Hormonen, der durch ein externes Signal (wie die Bindung eines Signalmoleküls an die Rezeptoren der PM) ausgelöst wird. Häufig wird dieser Weg der Exozytose durch Ca^{2+} -Ionen ausgelöst. Ein lebenswichtiges Beispiel für den kontrollierten Export ist die Sekretion von Insulin durch Zellen der Bauchspeicheldrüse (Pankreas). Ausführliche Darstellungen der Sekretion findet man in den Büchern über Zellbiologie [4, 18]. Ein Beispiel des Imports (die Aufnahme von Eisen) werden wir weiter unten kennen lernen.

Die Natur hatte das schwierige (aber topologisch interessante) Problem zu lösen, den Transport so zu gestalten, dass die Inhalte der Räume nicht durchmischt werden und die Asymmetrie der Membranen erhalten bleibt. Sie löste es durch den Transport über kleine (~ 100 nm große) Vesikel, die durch induzierte Knospung und Fission von einem Organell (z. B. dem ER) abspalten und mit dem anderen (dem Golgi oder der Plasmamembran) fusionieren (Abb. 9.11). Man kann sich leicht klar machen, dass durch diese Strategie keine Durchmischung zwischen dem Zytoplasma und den Lumina der Organellen oder dem Außenraum stattfindet und dass die Orientierung der Monoschichten erhalten bleibt. Der Transport erfolgt sukzessive vom ER (oder von der PM) über die drei Fraktionen des Golgi zur PM (oder zum ER) durch ständige Knospungs-Fissions-Fusions-Prozesse. Wie am Beispiel des Eisen-Imports ausführlich gezeigt wird (Abb. 9.13), wird die Knospung durch Adsorption von spezifischen Protei-

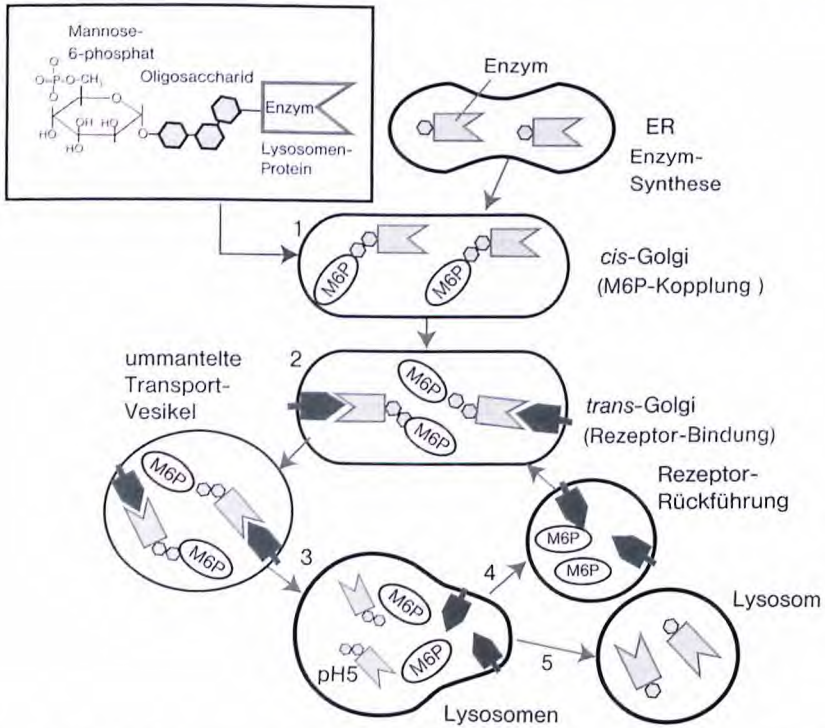


Abb. 9.12 Der Weg eines neu synthetisierten Glykoproteins vom ER zu den Lysosomen als Beispiel der Proteinsortierung in Zellen. Die Sortierung wird durch Kopplung mit einem Mannose-6-phosphat-Molekül eingeleitet (1). Nach Transfer in die *trans*-Fraktion des Golgi-Apparats bindet das Protein an spezifische

Rezeptoren (2). Von dort spalten mit dem Rezeptor beladene Vesikel ab und fusionieren mit den sauren Lysosomen (3). Danach entkoppelt das Protein vom Rezeptor, der zum Golgi zurückgeführt wird (4), während das Protein im Lysosom verbleibt (5).

nen (sog. Mantelproteine) eingeleitet, während die Fusion mit dem Zielorganell durch spezifische Fusionsproteine induziert wird. Wir werden in Kapitel 12 sehen, wie clever die Natur die Prozesse unter Ausnutzung der thermomechanischen Eigenschaften der Lipidmembranen steuert.

9.6.1

Konditionierung der Proteine: eine Aufgabe des Golgi-Apparats

Ein wichtiges Beispiel der Konditionierung genetisch kodierter Proteine durch biochemische Manipulation (engl. *post translational modification*) im Golgi ist die Synthese der Glykoproteine. Wie oben erwähnt (Abb. 9.9), unterscheidet man zwischen *O-Kopplung* und *N-Kopplung* von Kohlenhydratketten, je nachdem, ob die Zuckermoleküle an OH- oder NH₂-tragende Seitengruppen der Aminosäuren angedockt werden. Die *N-Kopplung* erfolgt im ER durch Übertragung größerer Oligosaccharide (typischerweise aus zehn Monomeren) auf das Protein, wie

wir bei der Besprechung der Translokation durch die Membranen sahen (Abb. 9.9). Die O-Kopplung erfolgt vorwiegend (aber nicht ausschließlich) im Golgi durch Übertragung eines Zuckermoleküls pro Schritt, die durch spezifische Transferasen vermittelt wird.

Ein eindrucksvolles Beispiel der zielgerichteten Modifikation der Proteine im Golgi-Apparat ist die Markierung gelöster Proteine für den Transfer zu den Lysosomen. Dabei betrachten wir Enzyme, welche in den sauren Lysosomen Proteine oder Polysaccharide der Bakterienwände abbauen. Der entscheidende Trick besteht in der Andockung einer oder mehrere Phosphatgruppen an einen Zuckerrückrest der gelösten Proteine. Ein Markenzeichen der für die Lysosomen bestimmten Proteine ist Mannose-6-phosphat. Es wird in der *cis*-Fraktion des Golgi andockend (Schritt 1 in Abb. 9.12) und durch ummantelte Vesikel zur *trans*-Fraktion transferiert. Dort bindet es an einen spezifischen Rezeptor (Schritt 2). Nach Ansammlung einer größeren Menge von beladenen Rezeptoren spalten die so mit Rezeptoren angereicherten Vesikel vom *trans*-Golgi ab und verschmelzen mit benachbarten Lysosomen (Schritt 3). Da der pH-Wert im Lysosom sauer ist (≤ 5), entbindet Mannose-6-phosphat vom Rezeptor. Um die Rückbindung zu verhindern, wird die Phosphatgruppe außerdem von der Mannose durch Phosphatasen abgespalten. Danach zerfällt das aufgeblähte Lysosom in zwei Teile. Einer ist mit freien Rezeptoren beladen und kehrt zum *trans*-Golgi zurück (Schritt 4), während der andere als Lysosom seine Aufgabe erfüllt (Schritt 5).

9.7

Eisen-Import durch Clathrin-ummantelte Vesikel

In der Biologie unterscheidet man drei Arten des Materialimports über die Plasmamembran durch Vesikel: Pinozytose, Endozytose und Phagozytose. Der Materialimport erfolgt in allen drei Fällen durch lokale Einstülpung der Plasmamembran, gefolgt von der Abspaltung von Vesikeln und deren Verarbeitung im Zytoplasma, häufig durch Fusion mit den Lysosomen. Unter Pinozytose versteht man die Aufnahme von Flüssigkeiten (man spricht auch vom Zelltrinken). Durch Endozytose werden essenzielle Bausteine der Zellen wie Lipoproteine und Eisen aufgenommen, die direkt oder indirekt an Rezeptoren binden. Durch Phagozytose werden größere Objekte wie Parasiten oder Bakterien internalisiert, die über Rezeptoren gebunden werden. Der Prozess ist aktiv und erfordert die Beteiligung des Aktin-Kortexes.

Ein lehrreiches und wichtiges Beispiel des Imports durch Endozytose ist die Aufnahme von Eisenionen (Fe^{3+}), da es für diese Ionen keine Ionenkanäle oder Pumpen gibt (Abb. 9.13). Fe^{3+} bindet an das Trägerprotein *Transferrin*, das von dem spezifischen Transferrin-Rezeptor erkannt wird. Die zytoplasmatischen Domänen der beladenen Rezeptoren binden an das Protein Clathrin, das zur Bildung zweidimensionaler Ausscheidungen führt (s. Kapitel 12). Diese wachsen und bilden ins Zellinnere zeigende Ausstülpungen, die schließlich als ummantelte Vesikel abspalten. Als nächster Schritt erfolgt die Ablösung des *Clathrin*-

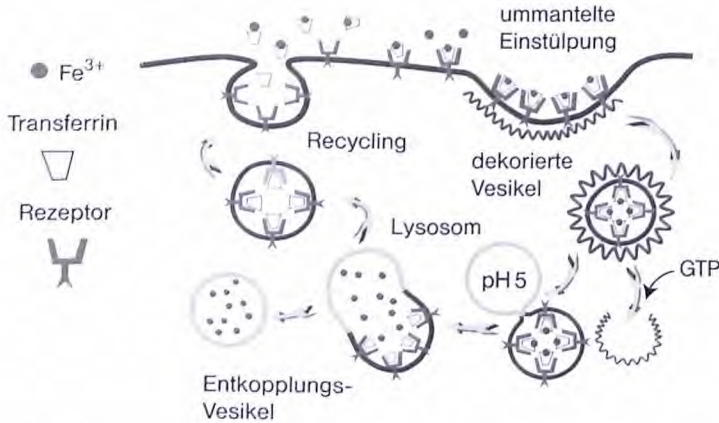


Abb. 9.13 Modell des durch Rezeptoren vermittelten Imports von Fe^{3+} und des Recyclings des Rezeptors von Transferrin und der Lipide der PM. Gezeigt wird (rechts oben) die durch Bindung von Clathrin induzierte laterale Aggregation der beladenen Rezeptoren, die zu lokalen, mit Clathrin dekorierten Einstülpun-

gen von ca. 30 nm Durchmesser (engl. *coated pit*) führt. Diese werden instabil und spalten als Vesikel ab, die in der Zelle, wie im Text beschrieben, verarbeitet werden. Die Abspaltung des Clathrins benötigt ATP als Energiequelle. (Zur Struktur und Elastizitätstheorie des Prozesses s. Kapitel 12.)

Mantels. Dieser Prozess erfolgt nicht spontan, sondern erfordert eine besondere Gruppe von Helferproteinen und ATP. Die nackten Vesikel (*Endosomen* genannt) fusionieren mit Lysosomen. In dem sauren Milieu dissoziieren die Eisenionen ab. Danach zerfällt das Organell auf noch unbekannte Weise in eine Fraktion mit gelöstem Eisen und ein Vesikel mit entleerten Rezeptoren. Letztere fusionieren mit der Plasmamembran, die Rezeptoren stehen damit erneut zur Verfügung.

Die Bindung des Trägers Transferrin und des Fe^{3+} -Ions wird auf elegante Weise über die pH-Abhängigkeit der Bindungskonstanten reguliert. In neutralem Milieu (des Außenraums) ist die Bindungskonstante des Transferrins an den Rezeptor sehr klein, wenn kein Fe^{3+} gebunden ist, wird aber sehr groß, wenn Fe^{3+} bindet ($K_D = 6 \cdot 10^{-9}$ M). Daher spalten die Fe^{3+} -freien Transferrine ab, wenn die Kopfgruppe des Rezeptors nach der Fusion in den Außenraum weist. Auf der anderen Seite ist die Bindungskonstante des Eisens an Transferrin bei pH 5 unmessbar klein. Aus diesem Grund entbinden die Fe^{3+} -Ionen nach Fusion des Endosoms mit dem Lysosomen vom Transferrin. Die Zykluszeit des Prozesses ist ca. 15 min und pro Zelle werden 10^4 Fe^{3+} -Ionen pro min eingeschleust. Trotz des enormen Umsatzes durch Endozytose und Exozytose bleibt die unterschiedliche Zusammensetzung der Plasmamembran und der intrazellulären Kompartimente stets erhalten. Es muss also Mechanismen geben, welche die Lipide und Proteine sortieren, die z. B. dafür sorgen, dass die Sphingomyeline und Cholesterol zur Plasmamembran zurückgeführt werden. Wir werden sehen, dass dabei die thermomechanischen Eigenschaften der Lipidmembranen eine wichtige Rolle spielen.

9.8

Signalübertragung und Signalverstärkung an Membranen

Die Entwicklung effektiver Mechanismen der Signalübertragung unter Zellen oder zwischen Zellen und der Umgebung durch Signalmoleküle war ein wichtiger Schritt auf dem Weg zur Entwicklung höherer Lebensformen. Die Natur hat zum Empfang und zur Verarbeitung externer Signale zwei wichtige Typen biochemischer Schaltkreise entwickelt. Beide beruhen auf dem Empfang externer Signalmoleküle durch membranständige Rezeptoren und deren Kopplung an intrazelluläre biochemische Reaktionskaskaden, welche durch biochemische Schalter aktiviert werden. Sie unterscheiden sich aber im Mechanismus der Signalverstärkung.

- Viele Hormone (wie Adrenalin²⁾), Duftstoffe, chemotaktische Signalmoleküle (wie cAMP) und Photonen werden durch eine Familie von Rezeptoren übermittelt, welche die Membran mit sieben Helices durchdringen und mit einer intrazellulären Schleife an einen biochemischen Schalter binden. Dieser besteht aus einem GTP spaltenden Proteinkomplex, der *heterogenen GTPase* (oder abgekürzt, $GTP_{\alpha\beta\gamma}$) genannt wird. Diese Bindung wird nach Empfang eines Signals eingeschaltet und aktiviert einen Schalter, der seinerseits ein Enzym veranlasst, eine große Zahl sekundärer *Botenmoleküle* zu erzeugen oder zu vernichten (wie Abb. 9.14 zeigt).
- Der zweite biochemische Schaltkreis dient vor allem zur Steuerung des Wachstums der Nerven, der Blutgefäße oder der Vermehrung (*Proliferation*) von isolierten Zellen durch Wachstumsfaktoren. Er reguliert aber auch metabolische Prozesse, beispielsweise durch Insulin. Der Mechanismus der Signalübertragung ist völlig verschieden (s. Anhang, Abschnitt 9.11 B). Die Rezeptoren tragen in ihren intrazellulären Domänen Kinasen und können sich darüber gegenseitig Phosphatgruppen (an Seitengruppen des Tyrosins) ankoppeln, wenn sie zusammentreffen oder Dimere bilden. Man nennt diese Gruppe von Signale übertragenden Membranproteinen *Tyrosinkinase-Rezeptoren*. Die phosphorylierten Rezeptoren lösen verschiedene intrazelluläre Signalkaskaden aus, von denen manche direkt in die Genexpression eingreifen können. Die Dimerisierung spielt eine zentrale Rolle für die allosterische Kontrolle dieser Art der Signalverstärkung.

Wir beschränken uns hier auf die genauere Beschreibung des ersten (auf der GTPase basierenden) Signalsystems und betrachten dazu das Beispiel des Primärprozesses des Sehorgans. Wir werden sehen, dass die Hormonverstärker uns erlauben, einzelne Photonen zu sehen. An diesem Beispiel werden wir auch sehen, wie wichtig die physikalischen Eigenschaften der Membranen für biologische Prozesse sind. Ausführliche Beschreibungen der molekularen Mecha-

2) Adrenalin (auch Epinephrin genannt) steuert eine große Zahl von Prozessen und ist ein Paradigma für die Vielseitigkeit der Hormonwirkung. Es steigert die Herzfre-

quenz, erhöht den Blutdruck und bewirkt, dass schnell Energiereserven durch Abbau von Fetten und Glucose bereitgestellt werden.

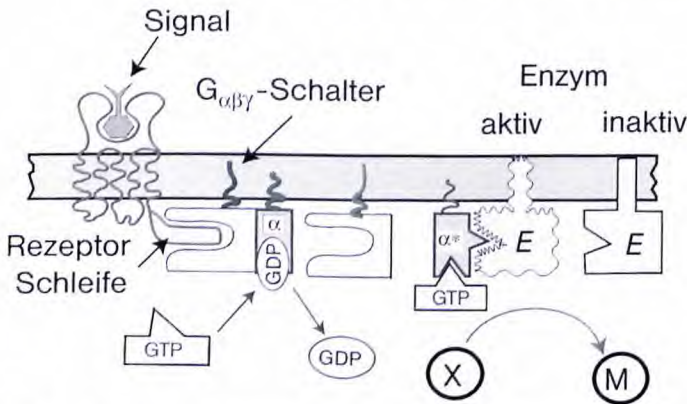


Abb. 9.14 Modell der Signalverstärkung adrenerger Hormone, wie Adrenalin in den Leberzellen oder der Photonen in der Retina der Sehzellen. Der Verstärker besteht aus dem in der Membran verankerten Rezeptor, dem trimeren GTPase-Komplex $G_{\alpha\beta\gamma}$ und dem sekundäre Botenstoffe (M) erzeugenden oder

vernichtenden Enzym E. Man beachte, dass die Komponenten des Trimeren $G_{\alpha\beta\gamma}$ -Komplexes über Fettsäuren in der Membran verankert sind und in dieser frei diffundieren können. Von den sieben die Membran durchdringenden α -Helices des Rezeptors sind zur Vereinfachung nur fünf gezeigt.

nismen beider Systeme findet man in den Monografien der Zellbiologie (siehe [4], Kapitel 16).

Abbildung 9.14 skizziert den Mechanismus der Hormonverstärkung durch die $G_{\alpha\beta\gamma}$ -Schalter. Die Bindung eines Hormons oder die Absorption eines Photons durch den Rezeptor induziert eine Konformationsänderung, die dazu führt, dass die intrazelluläre Domäne an $GTP_{\alpha\beta\gamma}$ bindet. Die Kopplung induziert den Austausch des energiearmen Nukleotids GDP gegen GTP an der Domäne G_{α} des biochemischen Schalters, wodurch diese vom Komplex abspaltet. Die über eine Fettsäure in der Membran verankerte Komponente G_{α} -GTP diffundiert durch die Membranschicht, bis sie auf ein zum Verstärkersystem gehöriges Enzym E trifft. Dieses kann nun sekundäre Botenmoleküle erzeugen oder vernichten. Ein häufig vorkommendes Enzym ist *Adenylatzyklase*, welche ATP in cAMP (zyklisches AMP) umwandelt. Ein zweites Beispiel ist *Phospholipase*, die von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PI-4,5-P2) Inositol-trisphosphat (IP3) abspaltet, welches Ca^{2+} -Kanäle öffnet und z. B. die Muskelkontraktion aktiviert. Ein drittes Beispiel werden wir gleich kennen lernen. Eine Zelle exponiert mehrere Klassen von Hormon-Rezeptoren, von denen aber oft nur wenige tausend Exemplare vorhanden sind. Man schätzt, dass typischerweise 10^4 bis 10^6 cAMP-Moleküle notwendig sind, um eine physiologische Wirkung zu erzielen. Zellen benötigen daher effektive Mechanismen zur Signalverstärkung und zur Adaption des Verstärkungsfaktors an die Konzentration der Hormone. Das membranassoziierte Verstärkersystem der Abbildung 9.14 leistet dies. Die hohen Verstärkungsfaktoren werden dadurch erreicht, dass ein Rezeptor etwa 500 $G_{\alpha\beta\gamma}$ aktivieren kann, von denen jedes bis zu 10 000 cAMP produziert.

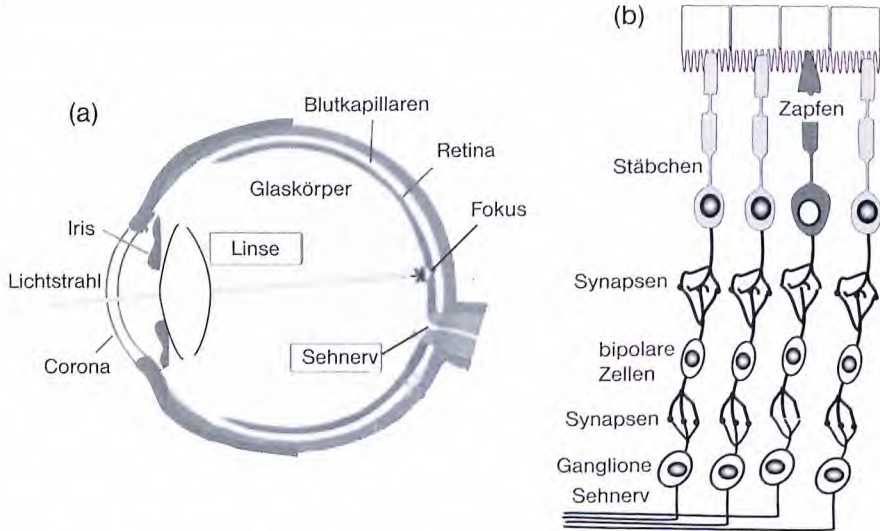


Abb. 9.15 (a) Stark vereinfachte Darstellung der Anatomie des Auges (modifiziert nach [17]). Die äußeren drei Schalen bestehen (von innen nach außen betrachtet) aus der lichtempfindlichen Retina oder Netzhaut, einer Schicht aus Gewebe mit Blutkapillaren und einer Umhüllung zur mechanischen Stabilisierung des Auges. Der Innenraum besteht aus dem transparenten Glaskörper (s. Abschnitt 23.3). (b) Vereinfachtes Schema des Aufbaus der Retina aus vier Schichten von Zellen. Die äußerste Schicht besteht aus Epithelzellen, deren Cilien mit den Sehzellen

in engem Kontakt stehen. Nach innen folgen die eigentlichen Sehzellen (die Zapfen und Stäbchen), die bipolaren Zellen und die Ganglionzellen, deren Enden sich zu den Nervenleitern vereinen. Hinzu kommen u. a. die großen Müllerschen Zellen, welche die ganze Retina durchdringen und die zur Vereinfachung weggelassen wurden. Vom Glaskörper ist die Retina durch eine Basalmembran getrennt, die nicht gezeigt wird. Die gesamte Dicke beträgt etwa 250 μm . Man beachte, dass das Licht alle vier Zellschichten durchdringen muss.

9.9

Photonenempfänger der Augen funktionieren nach dem Prinzip der Hormonverstärker

Die für unser tägliches Leben wichtigsten Sensoren sind das Auge mit den Sehzellen als elementare Wandler von Licht in elektrische Signale und das Ohr mit den Haarzellen als mechano-elektrische Überträger. Die Signalverstärkung erfolgt jedoch in den beiden Systemen nach völlig verschiedenen Mechanismen. Photonen werden durch Membranrezeptoren empfangen und die Signalübertragung erfolgt wie bei Hormonrezeptoren durch sekundäre Botenmoleküle. In den Haarzellen werden akustische Signale ohne Beteiligung von Botenmolekülen (über einen physikalischen Mechanismus) direkt in elektrische Signale umgewandelt.

Abbildung 9.15 zeigt ein stark vereinfachtes Schema unserer Augen und dient dazu, den Weg des Lichts zur *Retina* (auch Netzhaut genannt) zu illustrieren. Die Retina ist schichtartig aufgebaut. Die eigentliche photoempfindliche Schicht be-

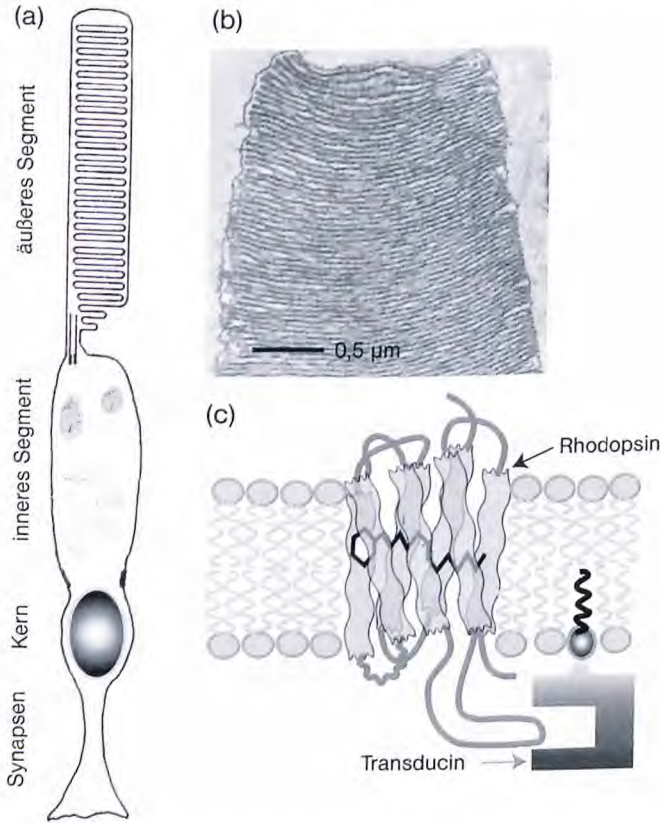


Abb. 9.16 (a) Mikroanatomie der Stäbchenzellen; (b) Dünnschnitt-EM-Aufnahme eines Stapels kollabierter Vesikeln einer Zapfenzelle; (c) Schema des Photonen-Rezeptors Rhodopsin mit dem in der hydrophoben Tasche verborgenen Farbstoffmolekül Retinal in *cis*-Konformation. Eine detaillierte Struktur findet man in [23].

steht aus Anordnungen von zwei Klassen länglicher Photorezeptor-Zellen: den Stäbchen und Zapfen. Diese sind über Synapsen mit zwei Lagen von Nervenzellen verbunden, die in den Nervenstrang einmünden. Auf der Außenseite werden die Sehzellen durch eine Schicht aus Epithelzellen abgedeckt, die den Kontakt mit dem Gewebe und den der Versorgung dienenden Blutkapillaren herstellen.

Menschliche Augen besitzen rund $5 \cdot 10^6$ Zapfen- und $9 \cdot 10^7$ Stäbchenzellen. Die Stäbchenzellen sind wesentlich lichtempfindlicher, aber nur für Schwarz-Weiß-Sehen geeignet. Die Zapfen funktionieren nur im Hellen und dienen dem Farbsehen. Dazu besitzen sie drei Gruppen von Lichtrezeptoren, deren Absorptionsmaxima bei 425 nm (blau), 530 nm (grün) und 560 nm (rot) liegen, wie Georg Wald erstmals 1950 zeigte [22]. Unsere Fähigkeit Farben zu sehen beruht also auf der Überlagerung von drei Farben. Das Absorptionsmaximum der Stäbchenzellen liegt bei ca. 500 nm.

Beide Typen von Sehzellen bestehen aus einem äußeren und einem inneren Segment, die durch eine Einschnürung getrennt sind (Abb. 9.16a). Das äußere Segment enthält Stapel kollabierter Vesikel (im Abstand von 30 nm), in deren Membranen die Lichtrezeptoren *Rhodopsin* eingebettet sind. In den inneren Segmenten sind alle wichtigen Organellen der Zellen enthalten. Man darf sich die kollabierten Vesikel des äußeren Segments jedoch nicht als stabile Gebilde vorstellen. Sie werden laufend durch Biosynthese an dem ER der inneren Segmente erneuert. Alte Vesikel werden von den über der Retina liegenden Endothelzellen über Phagozytose aufgenommen. Die Endothelzellen dienen somit auch zur ständigen Regeneration des Rhodopsins.

Der eigentliche Photonen-Rezeptor ist das integrale Membranprotein Rhodopsin (Abb. 9.16c). Wie oben erwähnt, ist es Mitglied einer sehr großen Familie von Signalrezeptoren für Hormone. Sie durchdringen die Membranen mit sieben hydrophoben Helices und die Signalübertragung erfolgt durch Kopplung der großen zytoplasmatischen Domäne (Schleife) mit der heterogenen GTPase ($GTP_{\alpha\beta\gamma}$), die hier *Transducin* heißt.

Eine überraschende Besonderheit der Signalübertragung beim Sehvorgang ist, dass kein Botenstoff erzeugt wird (wie das cAMP bei adrenergen Rezeptoren), sondern dass der Botenstoff *cGMP* durch das aktivierte Enzym E vernichtet wird. Wir werden nun diese Prozesse schrittweise diskutieren, um zu sehen, weshalb die Natur diesen erstaunlichen Weg gewählt hat und zum Schluss zeigen, wie die Natur es schafft, dass wir mit dunkeladaptierten Augen einzelne Photonen sehen können.

Der molekulare Photonenempfänger ist Retinal (Abb. 9.17a), ein sehr hydrophobes Farbstoffmolekül das in Form der Retinalsäure auch als Vitamin A eine wichtige Rolle bei der Regulation der genetischen Transkription spielt (s. [18]). Es absorbiert Licht im sichtbaren Spektralbereich, die Ursache dafür werden wir in Kapitel 31 sehen. Eine Besonderheit dieser Moleküle mit alternierenden Einfach- und Doppelbindungen (die man *Polyene* nennt, s. Kapitel 31) ist, dass die $C=C$ -Bindungen in metastabilen *cis*- und *trans*-Konformationen vorliegen können und dass *cis-trans*-Übergänge durch elektronische Anregungen induziert werden können³⁾. Im Fall des Rhodopsins (und im Gegensatz zu Bakteriorhodopsin) befindet sich das Molekül im Grundzustand in einer gebogenen Konformation, da die Doppelbindung zwischen den C-Atomen C11 und C12 in einer *cis*-Konformation vorliegt. Es ist in eine hydrophobe Tasche des Proteins Rhodopsin eingebettet und in der abgewinkelten Form kann das Molekül mit seiner $C(H)=O$ End-Gruppe mit einer Lysin-Gruppe des Proteins eine chemische Bindung eingehen. Dabei bildet sich unter Wasserabspaltung eine so genannte Schiff'sche Base, deren Struktur Abbildung 9.17a zeigt.

Bei Anregung durchläuft das Retinal eine Folge von metastabilen Zuständen und geht nach etwa 30 Sekunden in die *trans*-Konformation über, unter gleichzei-

3) Man beachte, dass die physikalischen Eigenschaften organischer Moleküle in Grund- und Anregungszustand sehr verschieden sein können. Für die biochemische Funktion

besonders wichtig sind die Änderungen der Konformation (z. B. *cis-trans*-Isomerisierungen), der elektrischen Dipolmomente und der Affinität für Elektronen (s. Kap. 31).

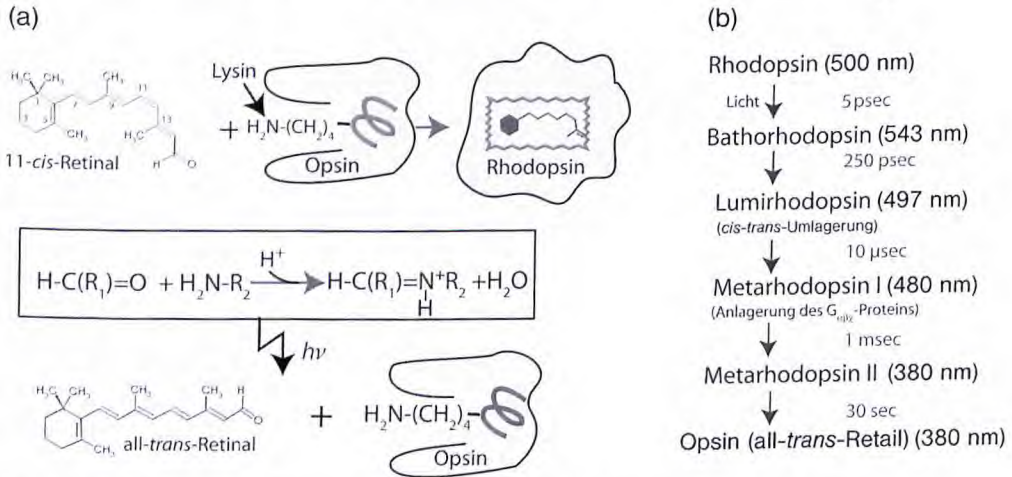


Abb. 9.17 (a) Schematische Darstellung der molekularen Struktur des Photonenempfängers Rhodopsin: Das Retinal ist in eine Bindungstasche des integralen Teils des Membranproteins eingebettet und bindet an eine Lysin-Seitengruppe des Proteins unter Bildung einer so genannten Schiff'schen Base (unter Wasserabspaltung), die im Grundzustand protoniert ist. Das Prinzip der Reaktion zeigt die mittlere Reihe. Die elektronische Anregung des Chromophoren induziert eine *cis-trans*-Umwandlung, bei der das Molekül

gestreckt und die Bindung dadurch gebrochen wird (unten). Man beachte, dass das O-Atom der C=O-Bindung beim *cis-trans*-Übergang des Moleküls um 0,5 nm ausgelenkt wird (s. [8]). (b) Abfolge der Zustände des Photonenrezeptors nach Anregung. Angegeben sind die Wellenlängen, bei denen die Zwischenzustände absorbieren, während die rechte Reihe die Übergangszeiten wiedergibt. Die Aktivierung der GTPase erfolgt im Zustand Metarhodopsin II, indem die Bindung deprotoniert wird.

tiger Dissoziation der Schiff'schen Base. Zahlreiche Untersuchungen der photo-physikalischen Eigenschaften des Rhodopsins zeigten, dass Metarhodopsin II der signalvermittelnde Zustand ist [24]. Er aktiviert das als biochemischer Schalter wirkende Transducin durch Kopplung der zytoplasmatischen Schleife (Abb. 9.16) an die GTPase und leitet die Signalverstärkung nach dem in Abschnitt 9.8 über Hormon-Signalverstärker dargestellten Mechanismus ein. In einer nachfolgenden Phase des zyklischen Prozesses wird das *cis*-Isomere wieder rückgebildet und mit Opsin zu Rhodopsin vereint. Dazu wird der Chromophor in die Endothelzellen transportiert und wird dort wieder (auf Umwegen) in 11-*cis*-Retinal umgewandelt und in die Sehzellen zurück transportiert.

Wir betrachten nun die Umwandlung des Lichts in elektrische Potenziale beim *Primärprozess des Sehvorgangs*, obwohl wir die elektrophysikalischen Hintergründe erst im Kapitel über die Physik der Nervenleitung (Kapitel 14–16) richtig verstehen werden. Man beobachtet den Vorgang durch Messung des elektrischen Potentials zwischen Zytoplasma und Gewebe mit einer Mikroelektrode nach der Methode der Patch-Clamp-Technik (s. Kapitel 15). Das in Abbildung 9.18 gezeigte Ergebnis ist vom Standpunkt der Elektrophysiologie überraschend. Während das *Membranpotential im Ruhezustand* der erregbaren Nervenzellen üblicherweise bei

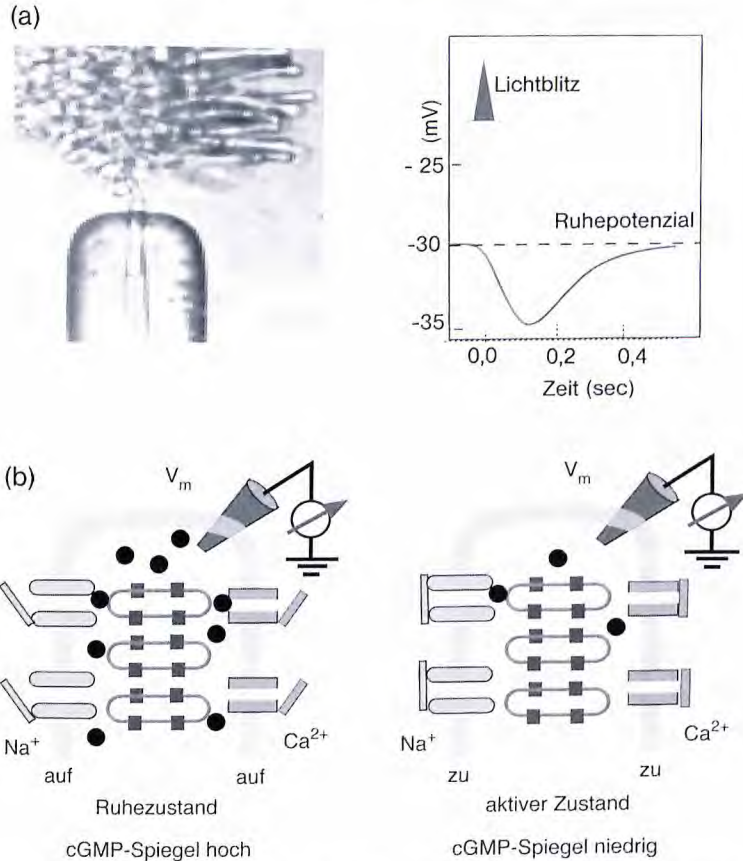


Abb. 9.18 (a) Messung des durch einen Lichtblitz induzierten elektrischen Potentials der Plasmamembran mit einer KCl-gefüllten Mikroelektrode, in welche die Zelle eingesaugt wurde (zu Details s. Patch-Clamp-Technik, Kapitel 15). Die untere Kurve zeigt das Membranpotential zwischen dem Zytoplasma und dem extrazellulären Raum nach Empfang eines Lichtblitzes. (b) Zur Kontrolle des Membranpotentials. Die Na^+ -Kanäle werden

durch das Botenmolekül cGMP offengehalten. Es wird ständig durch Gunaosin-Zyklase (GZ) hergestellt und durch Phosphodiesterase abgebaut. Durch den lichtinduzierten Abbau des cGMP werden die Na^+ -Kanäle geschlossen und die Membran wird depolarisiert. Die Ca^{2+} -Kanäle dienen der Adaption der Zellen an die Helligkeit der Umgebung. Sie werden ebenfalls durch das Botenmolekül offen gehalten.

$V_m \approx -60$ mV liegt, sind die Sehzellen teilweise depolarisiert (auf -30 mV). Wie wir in Kapitel 14 sehen werden, entspricht dies einem Zustand der ständigen Erregung der Zellen, durch den das Potenzial zu positiveren Werten verschoben wird. Durch einen Lichtblitz wird die Zelle kurzzeitig (für ca. 1 sec) depolarisiert, und das Membranpotential springt auf -35 mV. Diese kurzzeitige Störung des Ruhezustandes wird auf die bipolaren Zellen übertragen und führt zur Aussendung von Nervenimpulsen zum Zentralnervensystem. Den Mechanismus dieser Signalübertragung werden wir im Kapitel über Nervenleitung kennenlernen.

Wie funktioniert nun der Verstärkungsmechanismus? Aufgrund der Ähnlichkeit des Rhodopsins mit Rezeptoren für adrenerge Hormone hat man vermutet, dass die Signalübertragung nicht rein elektrisch erfolgt, sondern wie bei Hormonverstärkern durch biochemische Schalter auf der Basis der heterogenen GTPase $G_{\alpha\beta\gamma}$. Eine Besonderheit beim Sehvorgang ist jedoch, dass das sekundäre Botenmolekül (in diesem Fall zyklisches Guanosin-monophosphat, cGMP) nicht erzeugt, sondern vernichtet wird, und zwar durch das Enzym Phosphodiesterase (PDE), welches cGMP in ein unwirksames Produkt umwandelt. Ursache der ständigen Depolarisation der Zellen auf -30 mV ist die Öffnung der Na^+ -Kanäle durch cGMP-Moleküle, ein Vorgang, den wir erst in Kapitel 15 verstehen werden. Durch die lichtinduzierte Aktivierung des chemischen Schalters wird die cGMP vernichtende Phosphodiesterase aktiviert. Der cGMP-Spiegel sinkt, und die dadurch bedingte Schließung der Na^+ -Kanäle führt zur Hyperpolarisation der Membranen auf -35 mV.

Der enorme Vorteil der biochemischen Signalübertragung ist der große Verstärkungsfaktor. Ein PDE-Enzym eliminiert während seiner Aktivierung ca. 1000 cGMP-Moleküle. Da ein Photon etwa 500 $G_{\alpha\beta\gamma}$ -(Transducin-)Schalter aktiviert, werden etwa 500 000 cGMP vernichtet. Insgesamt schließt ein Photon einige hundert Na^+ -Kanäle.

Der zweite Vorteil des biochemischen Mechanismus der Signalverstärkung ist die erstaunliche Fähigkeit der Retina zur *Adaption* (Abb. 9.19). Die Sehzellen können Unterschiede der Lichtintensität über fünf Dekaden der Helligkeit mit gleicher Empfindlichkeit detektieren und dunkeladaptierte Augen können sogar einzelne Photonen registrieren. Die Adaption der Empfindlichkeit eines Sensors

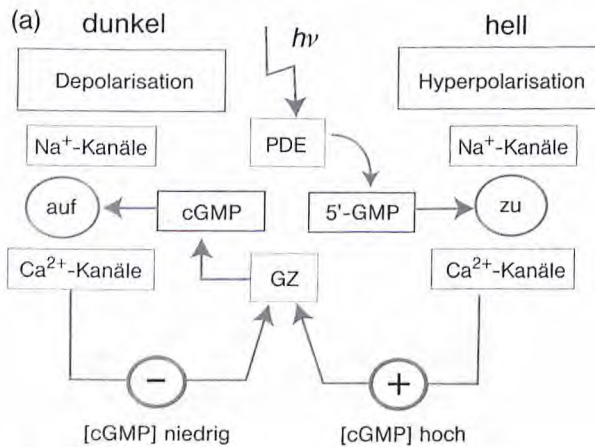


Abb. 9.19 (a) Adaption der Empfindlichkeit der Sehzellen an die Helligkeit der Umgebung über das Botenmolekül Ca^{2+} . Dieses hemmt die Aktivität der cGMP produzierenden Guanylat-Zyklase und reduziert die stationäre Konzentration dieser Botenmoleküle. Im Dunkeln ist der Ca^{2+} -Spiegel und damit auch

die Konzentration des cGMP niedrig. Da im Dunkeln die Zahl offener Kanäle daher kleiner ist als im Hellen, kann eine geringe Lichtintensität denselben Effekt hervorrufen wie ein starker Lichtimpuls im Hellen. Die Empfindlichkeit der Sehzellen steigt daher mit zunehmender Dunkelheit der Umgebung.

an die Signalstärke ist ein zentrales Problem aller sensorischen Organe. Am Beispiel des Sehvorgangs lässt sich besonders gut studieren, wie die Natur das Problem der Adaption intrazellulärer Signalkaskaden löste, welche Signale über Botenmoleküle vermitteln. Ein anderes Konzept werden wir in Kapitel 31 beim Hörorgan kennenlernen, bei dem die Adaption über mechanische Vorspannungen gesteuert wird.

Die Adaption erfolgt über die Einstellung des mittleren cGMP-Spiegels durch den sekundären Boten Calcium, indem dieser das cGMP erzeugende Enzym Guanylat-Zyklase (GZ) hemmt. Es ergibt sich dadurch folgendes Szenario: Im Dunkeln sind die Ca^{2+} -Kanäle offen. Ca^{2+} strömt ein und erniedrigt die Anzahl (N_B) der Botenmoleküle, da diese ständig durch eine basale Aktivität der PDE abgebaut werden. Andererseits wird durch ein Photon stets dieselbe Anzahl (ΔN_G) von cGMP-Molekülen zerstört. Daher ist die prozentuale Abnahme des cGMP Spiegels $(N_G - \Delta N_G)/N_G$ umso größer, je niedriger dessen mittlere Konzentration ist. Es wird also pro Lichtblitz ein höherer Prozentsatz an Kanälen geschlossen, wenn das Auge dunkeladaptiert ist.

9.10

Balance zwischen Universalität und Spezifität der Signal-Übertragung an Membranen

Am Beispiel der Hormonverstärker zeigen sich die Vorteile der Lokalisierung biochemischer Prozesse an fluiden Membranen besonders deutlich.

Ein Vorteil ist, dass diffusionsbestimmte Reaktionen in zwei Dimensionen schneller ablaufen als in drei. Um das zu sehen, betrachten wir einen kreisförmigen Zielbereich um eine zentrale Position Z mit dem Radius a , in dem sich einer der Reaktionspartner befindet. Der zweite Reaktionspartner R befindet sich im Abstand b von Zentrum Z. Die Zeit, die R im Mittel benötigt, um in das Zielgebiet zu gelangen, ist für zwei ($\tau^{(2)}$) und drei ($\tau^{(3)}$) Dimensionen gegeben durch [1]:

$$\tau^{(3)} \approx \frac{b^3}{3Da} \quad \text{und} \quad \tau^{(2)} \approx \frac{b^2}{2D} \ln \frac{b}{a} \quad (9.1)$$

wobei D der Diffusionskoeffizient ist (siehe [25]). Das Verhältnis der Reaktionszeiten wird dann:

$$\tau^{(2)}/\tau^{(3)} \approx \ln x/x$$

(mit $x = b/a > 1$). Mit zunehmendem Abstand b zwischen Ziel und Reaktionspartner werden die Reaktionen im Zweidimensionalen immer günstiger [25].

Auf Zelloberflächen können gleichzeitig mehrere spezifische Hormonrezeptoren vorkommen, die denselben Mechanismus der Signalübertragung und denselben biochemischen Schalter $G_{\alpha/\beta}$ benutzen. Außerdem kann jeder Rezeptor mehrere Hormone binden (z. B. Insulin und Wachstumsfaktoren). Auch wenn die Bindungskonstanten der Hormone unterschiedlich sind, kommt es oft zur Wechselwirkung (engl. *cross talk*) zwischen zwei Signalkaskaden. Dies bringt auch Nachteile, denn Arzneimittel können mit den Hormonen um Bindungsplätze

auf den Rezeptoren konkurrieren und deren Wirkung beeinflussen. Dies ist einer der wesentlichen Gründe für Nebenwirkungen von Arzneimitteln. Eine wichtige Frage ist daher, wie die Zellen es schaffen, zwischen den vielen Signalmolekülen zu diskriminieren. Wir diskutieren nun zwei Möglichkeiten.

Ein Weg besteht in der Variation der Bindungsstärke zwischen Rezeptoren und Hormonen und der Zahl der verfügbaren Rezeptoren auf der Plasmamembran. Die Dissoziationskonstanten wichtiger Hormone sind besonders klein, beispielsweise: $K_D = 2 \cdot 10^{-10}$ M für Insulin und $K_D \approx 10^{-11}$ M für Erythropoietin, das Signalmolekül, das die Produktion der Erythrozyten in unserem Körper stimuliert. Auch die Zahl der an der Zelloberfläche exponierten Rezeptoren ist sehr klein, z. B. 10 000 für Insulin und 1000 für Erythropoietin [4]. Bei einer basalen Insulinkonzentration von $5 \cdot 10^{-12}$ M sind ca. 3 % der Rezeptoren besetzt, und der Wert erhöht sich auf 15 %, wenn der Insulinspiegel um den Faktor 5 erhöht wird. Häufig steigt die physiologische Antwort schneller mit der Konzentration als der Bruchteil besetzter Rezeptoren. Daher sind oft fast 90 % der physiologischen Wirkung erreicht, wenn nur 20 % der Rezeptoren besetzt sind.

Eine Betrachtung des Gleichgewichts der Hormonwirkung zeigt, wie die Wirkung eines Hormons (H) durch Einstellung der Zahl verfügbarer Rezeptoren (R) reguliert werden könnte. Wir betrachten dazu das Gleichgewicht der Hormonbindung:



Der Bruchteil besetzter Rezeptoren ist:

$$\alpha = \frac{[HR]}{[HR] + [R]} = \frac{1}{1 + K_D/[H]} \quad (9.3)$$

wobei $K_D = [H][R]/[HR]$ und $[R_0] = [R] + [HR]$ die konstante Konzentration der für das Hormon zugänglichen Rezeptoren in der Membran ist. Nehmen wir nun an, es gäbe einen Schwellwert der Konzentration besetzter Rezeptoren $[HR]^*$, der erreicht werden muss, um eine gewünschte Wirkung zu erzielen. Nach Gleichung (9.3) ist die dazu notwendige kritische Konzentration der Hormone:

$$[H^*] = \frac{[HR]^* K_D}{[R_0] - [HR]^*} \quad (9.4)$$

Dieses hyperbolische Gesetz besagt, dass nahe der Schwelle $[R_0] \approx [HR]^*$ eine kleine Änderung der verfügbaren Rezeptoren $[R_0]$ die Schwellkonzentration $[H]^*$ sehr stark verändern kann. Die zur Aktivierung der Hormonwirkung notwendige Hormonkonzentration hängt daher sehr empfindlich von der Zahl verfügbarer Rezeptoren ab. Wir werden im Verlauf der folgenden Diskussion der *Abregulation* der Hormonwirkung sehen, wie die Dichte der Rezeptoren $[R_0]$ in Membranen sehr schnell kontrolliert werden kann.

Eine andere Möglichkeit der Diskriminierung zwischen verschiedenen Signalkaskaden besteht darin, gewisse Signalwege zu bevorzugen und andere zu unterdrücken. Dieser Kontrollmechanismus dient auch dazu, die Wirkung von hohen Dosen von Hormonen abzuschwächen, um Schädigungen der Zellen zu

vermeiden. So müssen sich beispielweise Sehzellen langfristig gegen hohe Lichtintensitäten schützen. Aus diesem Grund sind Mechanismen notwendig, mit denen die Wirkung der Signalmoleküle gegebenenfalls reduziert werden kann. Dazu gibt es verschiedene Möglichkeiten:

- Ein schneller Mechanismus besteht darin, die Bindung der intrazellulären Schleife der Rezeptoren an $G_{\alpha\beta\gamma}$ zu unterbinden. Dies erfolgt durch Phosphorylierung der Schleifen mittels spezifischer Kinasen. Im Falle der Sehzellen heißt diese Kinase Arrestin. Entscheidend ist dabei, dass die Abregulierung durch eine negative Rückkopplung verstärkt wird. Diese kommt dadurch ins Spiel, dass die Kinasen durch die sekundären Boten selbst aktiviert werden.
- Ein langsamer Mechanismus besteht in der Unterdrückung der Hormonwirkung und ist ein reiner Membranprozess. Die Rezeptoren werden von der Zelloberfläche durch Endozytose entfernt und in Lysosomen abgebaut, oder sie werden in lokalen Einstülpungen der Plasmamembran gespeichert. Dieser Prozess der Abreaktion dauert bei Rezeptoren für Wachstumsfaktoren rund 10 min. Die Rezeptoren aggregieren dabei (wie die beladenen Transferrin-Rezeptoren in Abb. 9.13) und induzieren eine lokale Instabilität der Plasmamembran. Die physikalischen Grundlagen für diesen Prozess werden wir in Kapitel 12 kennen lernen.

Anhang 9.A

Enzymgekoppelte Hormonverstärker (Rezeptor-Tyrosinkinasen)

Neben den über biochemische Schalter (wie $G_{\alpha\beta\gamma}$) wirkenden Hormon-Empfängern gibt es eine zweite Klasse von enzymatisch wirkenden Rezeptoren, die zur Verstärkung der Signale aus der Umgebung der Zellen dienen. Die Signalverstärkung wird durch intrazelluläre Domänen der Proteine vermittelt, welche als Kinasen wirken und Phosphate an Tyrosin-Gruppen benachbarter Rezeptoren koppeln können (s. Kapitel 13). Man nennt solche Rezeptoren daher Rezeptor-Tyrosinkinasen. Sie vermitteln vor allem die Stimulation der Zellproliferation durch Wachstumsfaktoren. Sie antworten auf sehr kleine Konzentrationen (10^{-9} – 10^{-11} M). Die Antwort ist meist sehr langsam und dauert oft mehrere Stunden, insbesondere wenn sie mit der Biosynthese neuer Moleküle durch Aktivierung der genetischen Expression verbunden ist.

Die Rezeptoren sind integrale Membranproteine und bestehen aus drei Teilen: dem Membrananker, der Empfangsdomäne und dem enzymatisch wirkenden, intrazellulären Segment. Das intrazelluläre Segment besitzt eine Domäne mit Kinase-Funktion. Es kann über diese die interzelluläre Domäne benachbarter Rezeptoren oder andere Proteine des Zytoplasmas phosphorylieren und auf diese Weise Enzymkaskaden einschalten. In der Regel wird die Phosphatgruppe an Tyrosin gekoppelt, woher der Name rührt.

Der häufigste Fall ist die in Abbildung 9.A.1 gezeigte, gegenseitige Phosphorylierung der Rezeptoren. Voraussetzung dafür ist, dass diese aggregieren und zu-

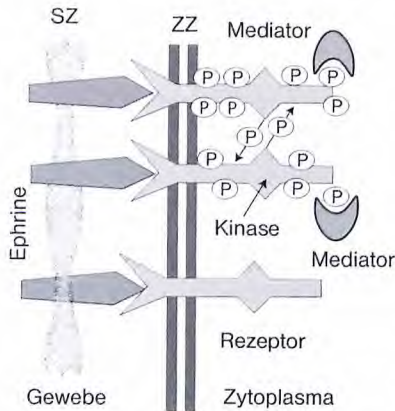


Abb. 9.A.1 Durch Zell-Zell-Adhäsion vermittelte Aggregation der Rezeptor-Tyrosinkinasen einer Zielzelle (ZZ) durch membrangebundene Signalmoleküle in der Plasmamembran signalisierender Zellen (SZ). Die Aggregation ist eine Folge der durch die Adhäsion verursachten spontanen Attraktion der Rezeptoren. Die Ursache dafür werden wir in Kapitel 13 diskutieren. Die Aggregation wird z. B. durch Wachstumsfaktoren wie *Ephrine* eingeleitet, die eine wichtige Rolle bei der Proliferation der Zellen während der embryonalen Entwicklung spielen.

mindest Dimere bilden. Die Aggregation kann dadurch vermittelt werden, dass die Signalsubstanzen zwei Rezeptoren überbrücken. Ein anderer Weg ist Bildung von Clustern des Rezeptors durch Zell-Zell-Adhäsion, der in Abbildung 9.A.1 gezeigt wird. Wie wir bei der Beschreibung der Zelladhäsion zeigen werden, führt diese in der Regel spontan zur Bildung von dicht gepackten Domänen aus Rezeptoren (Kapitel 13). Dieser Mechanismus der Aktivierung der Rezeptoren wird beispielsweise durch Hormone der Familie der *Ephrine* eingeleitet. Ephrine steuern die Zellteilung bei der embryonalen Entwicklung oder beim Wachstum neuer Blutgefäße. Eine Besonderheit stellt schließlich der Rezeptor für Insulin dar. Er bildet ein Dimeres und kann sich so selbst phosphorylieren.

Die Signalübertragung und -Verstärkung kann auf sehr verschiedene Weisen stattfinden. In der Regel bindet eine ganze Schar von intrazellulären Signalproteinen an die phosphorylierten Domänen der Rezeptoren. Von der Vielzahl von Möglichkeiten seien nur zwei Beispiele erwähnt:

- Phospholipasen werden durch Bindung an die phosphorylierten Domänen der Rezeptoren aktiviert. Ein Beispiel ist die Aktivierung der Phospholipase C, welche das Signalmolekül IP3 frei setzt. Ein anderes ist die Phosphorylierung der IP3-Kinase, welche eine Phosphatgruppe an das Phospholipid Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PI-4,5-P2) ankoppelt. Das Produkt Phosphatidylinositol-3, 4, 5-triphosphat (PI-3,4,5-P3) spielt eine zentrale Rolle bei der Polymerisation des Aktins.
- Die phosphorylierten Rezeptoren aktivieren biochemische Schalter, welche über eine Enzymkaskade zur Phosphorylierung der *MAP-Kinasen* (MAP von engl. *mitosis activating kinases*) führen. Diese sind Element in einer intrazellulären Signalkaskade, welche die Genexpression steuert.

9.11

Literatur

- 1 Allen, T.M., Cullis, P.R. (2004) Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, **303**, 1818–1822.
- 2 Tanaka, M., Sackmann, E. (2005) Polymer supported membranes as models of the cell surface. *Nature*, **437**, 656–663.
- 3 Lee, G., Abdi, K., Jiang, Y., Michaely, P., Bennett, V., Marszalek, P.E. (2006) Nanospring behaviour of ankyrin repeats. *Nature*, **440**, 246–249.
- 4 Lodish, H. et al. (2007) Molecular cell biology, W.H. Freeman and Company, New York.
- 5 Liu, S.C., Derick, L.H., Palek, J. (1987) Visualization of the hexagonal lattice in the erythrocyte membrane skeleton. *Journal of Cell Biology*, **104**, 527–535.
- 6 Broderick, M., Winder, S. (2002) Towards a complete atomic structure of spectrin family proteins. *Journal of Structural Biology*, **137**, 184–193.
- 7 Fritsche, W. (2002) Mikrobiologie, Spektrum Verlag, Heidelberg.
- 8 Berg, J., Tymoczky, J., Stryer, L. (2003) Biochemie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- 9 Op den Kamp, J.A.F. (1979) Lipid asymmetry in membranes. *Annual review of Biochemistry*, **48**, 47–71.
- 10 Sackmann, E. (1995) Biological membranes, architecture and function, in Handbook of Biological Physics, Vol. I (Ed. R. Lipowsky und E. Sackmann). Elsevier, Amsterdam.
- 11 Shen, B.W., Josephs, R., Steck, T.L. (1986) Ultrastructure of the intact skeleton of the human erythrocyte membrane. *Journal of Cell Biology*, **102**, 997–1006.
- 12 Gerke, V., Creutz, C.E., Moss, S.E. (2005) Annexins: linking Ca²⁺ signalling to membrane dynamics. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **6**, 449–461.
- 13 Kyte, J., Doolittle, R. (1982) A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *Journal of Molecular Biology*, **157**, 105–132.
- 14 Kopito, R.R., Lodish, H. F. (2004) Structure of the murine anion exchange protein. *Journal of Cellular Biochemistry*, **29**, 1–17 (2004)
- 15 Wang, D.N. (1994) Band 3 protein: structure, flexibility and function. *FEBS Letters*, **346**, 26–31.
- 16 Kopito, R.R., Lodish, H.F. (1985) Primary structure and transmembrane orientation of the murine anion exchange protein. *Nature*, **316**, 234–238.
- 17 Schmidt, R.F., Thews, G. (1995) Physiologie des Menschen, Springer-Verlag GmbH, Berlin, Heidelberg.
- 18 Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. (1995) Molecular biology of the cell, Garland, New York. Deutsche Ausgabe: Verlag Chemie, Weinheim.
- 19 Toyoshima, C., Nakasako, M., Nomura, H., Ogawa, H. (2000) Crystal structure of the calcium pump of sarcoplasmic reticulum at 2.6 Å resolution. *Nature*, **405**, 647–655.
- 20 Beckmann, R., Bubeck, D., Grassucci, R., Penczek, P., Verschoor, A., Blobel, G., Frank, J. (1997) Alignment of conduits for the nascent polypeptide chain in the ribosome-Sec61 complex. *Science*, **278**, 2123–2126
- 21 Pfanner, N., Hartl, F.U., Neupert, W. (1988) *European Journal of Biochemistry*, **175**, 205–212.
- 22 Wald, G. (1968) The molecular basis of visual excitation. *Nature*, **219**, 800–807.
- 23 Palczewski, K., Kumasaka, T., Hori, T., Behnke, C.A., Motoshima, H., Fox, B.A., Le Trong, I., Teller, D.C., Okada, T., Stenkamp, R.E., Yamamoto, M., Miyano, M. (2000) Crystal structure of rhodopsin: a G protein-coupled receptor. *Nature*, **289**, 739–745.
- 24 Ritter, E., Zimmermann, K., Heck, M., Hofmann, K. P., Bartl, F.J. (2004) Transition of rhodopsin into the active metarhodopsin II state opens a new light-induced pathway linked to Schiff base isomerization. *Journal of Biological Chemistry*, **279**, 48102–48111.
- 25 Hardt, S.L. (1979) Rates of diffusion controlled reactions in one, two and three dimensions. *Biophysical Chemistry*, **10**: 239–243.

9.12

Weiterführende Literatur

- Bennett, V. (1991) Spectrin-based membrane skeleton: a multipotential adaptor between plasma membrane and cytoplasm. *Physiol. Rev.*, **70**, 1029–1065.
- Bishop, W.R., Bell, R.M. (1988) Assembly of phospholipids into cellular membranes: biosynthesis, transmembrane movement and intracellular translocation. *Annu. Rev. Cell Biol.*, **4**, 579–610.
- Blobel, G. (1980). Intracellular protein topogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **77**, 1496–1500.
- Devaux, P.F. (1988) Phospholipid flippases. *FEBS Letters*, **234**, 8–12.
- Gennis, R.B. (1989) Biomembranes. Molecular Structure and Function. Springer, Berlin.
- Jamieson, G.A. (1977) Mammalian Cell Membranes, in *The Diversity of Membranes*, Vol. 2. Butterworth-Heinemann Ltd.
- Kaupp, U., Koch, K. (1986) Mechanism of photoreception in vertebrate vision. *Trends in Biochemical Sciences*, **11**, 43–47.
- Manno, S, Takakuwa, Y, Nagao, K, Mohandas, N. (1995) Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by beta-spectrin phosphorylation and dephosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, **270**, 5659–5665.
- Michanely, P., Tomchick, D.R., Machius, M., Anderson, R.G.W. (2002) Crystal structure of a 12 ANK repeat stack from human ankyrinR. *EMBO Journal* 6387–6396.
- Sackmann, E., Bausch, E., Vonna, L. 2002. Physics of composite cell membrane and actin Based cytoskeleton, in *Physics of biomolecules and cells.*, 237–284.
- Nato Advanced Study Institute Les Houches. Session LXXV. (Ed. H. Flyrberg et al.) Springer, EDP-Science, 2002.
- Seifert, U. (1997) Configurations of fluid membranes and vesicles. *Advances in Physics*, **46**, 13–137.
- Townes-Anderson, E., Dacheux, R., Raviola, E. (1988) Rod photoreceptors dissociated from the adult rabbit retina. *Journal of Neuroscence.*, **8**, 320–331.
- Van Hemmen, L. Topology of membranes. *Physics Report*



10

Selbstorganisation, Phasenumwandlungen und Dynamik biologischer Membranen

Das vorhergehende Kapitel brachte eine Einführung in die molekulare Architektur und eine kleine Auswahl der Aufgaben biologischer Membranen. Weitere Beispiele werden folgen. Diese kurze Einleitung zeigte uns aber auch, dass die Membranen der Zellhülle und der intrazellulären Organellen trotz ihres komplexen Aufbaus und des ständigen Materialaustausches im Mittel eine spezifische Zusammensetzung aufrecht erhalten, oder dass sich in den Vielkomponenten-Systemen spezifische Lipide und Proteine zu funktionellen Domänen zusammenfinden müssen. Wie schafft die Natur das? Dieser Frage werden wir in den Kapiteln 10–13 nachgehen. Dabei versuchen wir, den Stand der heutigen Kenntnis über die physikalischen Grundlagen der Selbstorganisation und Funktion biologischer Membranen darzustellen, die auf der Basis systematischer Untersuchungen von Modellmembranen gewonnen wurden.

Wir beginnen mit der durch den hydrophoben Effekt erzwungenen, spontanen Bildung zahlreicher komplexer Strukturen durch Quellen der Lipide in Wasser, wobei im Grenzfall sehr hoher Wassergehalte ($< 99\%$) erstaunlich stabile, geschlossene Schalen aus Lipid-Doppelschichten (Vesikel genannt) entstehen, die wir als primitivste Modelle der Zellmembran ansehen können. Eine besonders erstaunliche und für die biologische Funktion wichtige Eigenschaft dieser nur ca. 4 nm dicken Membranen ist ihre Fähigkeit, in verschiedenen Phasenzuständen zu existieren. Im zweiten Teil führen wir den Leser in die thermodynamischen Grundlagen dieser strukturellen Phasenumwandlungen ein und beschreiben die für die biologische Funktion der Membranen wichtigsten molekularen physikalischen Eigenschaften der Lipidschichten. Einen Schwerpunkt bilden dabei die dynamischen Eigenschaften fluider Membranen, da diese für die biochemischen Prozesse und die Hormon-Signalverstärkung eine fundamentale Rolle spielen. In den Kapiteln 11 und 12 folgt eine Einführung in die unkonventionellen elastischen Eigenschaften der Membranen und deren Bedeutung für die globalen Formumwandlungen von Zellen und Organellen einerseits und die Bildung funktioneller Domänen in Membranen andererseits. Die letztere Frage erfordert eine eingehende Diskussion der Phasentrennung in Lipid-Legierungen und deren Modulation durch selektive Lipid-Protein-Wechselwirkung. Wir werden sehen, dass auch hier die elastischen Eigenschaften der Lipidmatrix von zentraler Bedeutung sind. Diese spielen auch eine fundamentale Rolle für die Kontrolle

der Zelladhäsion durch Zusammenspiel spezifischer und generischer Grenzflächenkräfte, von denen wir einige in Kapitel 6 kennen lernten, und der Entropieelastizität weicher Schalen, die wir in Kapitel 13 behandeln.

10.1

Selbstorganisation und lyotroper Polymorphismus der Lipide in Wasser: einschalige Vesikel als Null-Modell biologischer Membranen

Oberhalb einer von der Art der Kopfgruppe und der Kettenlänge abhängigen Temperatur (in der älteren Literatur Krafft-Punkt genannt) quellen Phospholipide durch Aufnahme von großen Mengen von Wasser. Aufgrund der amphipatischen Struktur und des hydrophoben Effekts ordnen sich die Moleküle so an, dass die hydrophilen Kopfgruppen geschlossene Flächen bilden und die hydrophoben Ketten vom Wasser getrennt sind. Je nach Wassergehalt und Lipidstruktur entsteht eine erstaunliche Vielfalt supramolekularer Organisationsformen, die in der wässrigen Lösung suspendiert sind. Diese zeigen typische flüssigkristalline Eigenschaften. Sie fließen wie Flüssigkeiten, besitzen aber trotzdem wie Festkörper elastische Eigenschaften [1]. Die Kohlenwasserstoff-Ketten sind (wie in *smektischen Phasen* thermotroper Flüssigkristalle) parallel zueinander angeordnet, was zu anisotropen optischen Eigenschaften führt. Da Übergänge zwischen den unterschiedlichen Phasen durch Variation des Lipid/Wasser-Verhältnisses induziert werden können, spricht man von *lyotropen Flüssigkristallen* oder lyotropem Polymorphismus¹⁾ (Abb. 10.1).

Bei niedrigem Wassergehalt bilden die Moleküle drei Klassen homogener Zustände: die hexagonale Phase H, die kubische Phase Q und die lamellare

1) Die Entdeckung der Flüssigkristalle (1888) ist ein Beispiel der von Biologie inspirierten Physik. Die Flüssigkristalle wurden von dem Botaniker Friedrich Reinitzer während der Untersuchung von Derivaten des Cholesterols aus Pflanzen entdeckt, während die Aufklärung der strukturellen und physikalischen Eigenschaften zwischen Festkörper und Flüssigkeit auf den Physiker Otto Lehmann und den französischen Mineralogen Georges Friedel zurückgehen. Nachdem das Gebiet viele Jahrzehnte eingeschlafen war, erlebte es ab 1960 eine stürmische Renaissance, die zur Entwicklung der Flüssigkristallanzeigen (LCD, von engl. liquid crystal display) in Uhren und Taschenrechnern führte und so unser tägliches Leben interessanter machte. Flüssigkristalle werden bevorzugt von stäbchenförmigen Molekülen (z.B. α -helikale Polypeptide oder Derivate des Cholesterols) gebildet. Dabei beobachtet man drei Klassen von Zuständen: nematische, smektische und cholesterische, wobei

letztere nur von optisch aktiven Molekülen gebildet werden. In nematischen Phasen orientieren sich die Moleküle in Richtung einer bevorzugten Achse (dem Direktor), sind aber in alle Richtungen frei beweglich. In smektischen Phasen sind die Moleküle ebenfalls bevorzugt parallel orientiert. Sie sind aber in Multischichten angeordnet, wie die Lipidmembranen in Abb. 10.1b. In den cholesterischen Phasen sind die Moleküle lokal wie in der nematischen Phase parallel angeordnet. In Richtung senkrecht zum Direktor dreht sich die Achse der bevorzugten Orientierung jedoch kontinuierlich, sodass sich eine helikale Superstruktur mit definierter Ganghöhe ausbildet. Solche Phasen werden nur von optisch aktiven Molekülen gebildet. Aufgrund der konstruktiven Interferenz des an den Schichten gleicher Orientierung reflektierten Lichts sind die cholesterischen Kristalle oft farbig. Die Farbe der Flügel von Käfern ist teilweise durch cholesterische Phasen bestimmt.

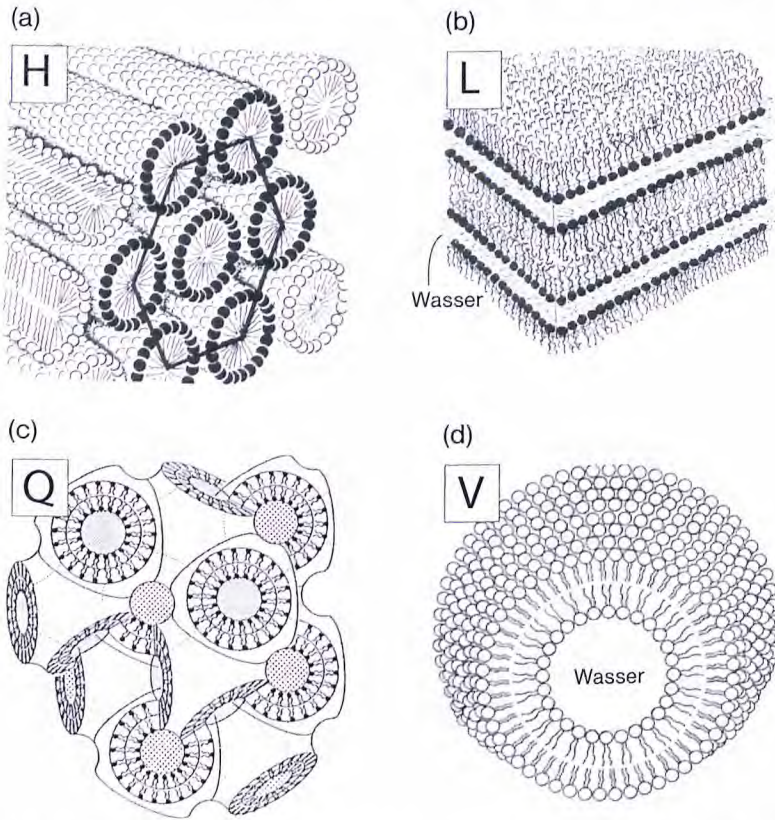


Abb. 10.1 Struktur einiger für die biologische Funktion der Membranen wichtigen (lyotropen) flüssigkristallinen Phasen der Phospholipide in Wasser: (a) hexagonale Phase (H); (b) lamellare Phase (L); (c) kubische Phase (Q); (d) isolierte einschalige Vesikel aus einer

Doppelschicht, die im Grenzfall unendlicher Verdünnung ($\sim 99\%$ H_2O) entstehen. Man beachte, dass die homogenen Phasen (a–c) auch invertiert auftreten können, wenn der Wassergehalt kleiner als zehn Gewichtsprozent ist. (Nach [1].)

Phase L. Diese lassen sich durch Röntgenbeugung unterscheiden und wurden vor ca. 40 Jahren durch V. Luzatti entdeckt (s. [1]).

1. In der hexagonalen Phase H ordnen sich die Lipidmoleküle zu langen Röhren (röhrenförmigen Mizellen) an, die an den Enden mit Kappen abgeschlossen sind. Die Zylinder orientieren sich parallel zueinander an und bilden hexagonales Gitter aus, was der Phase den Namen gab (Abb. 10.2 und [1]).
2. In der kubischen Phase Q ordnen sich Lipide und Wasser zu einem verschachtelten System von wassergefüllten Röhren an, sodass Wasser und hydrophobe Kettenbereiche wieder streng voneinander getrennt sind. Wasser und Lipide formen zwei ineinander verwobene kontinuierliche Räume, man spricht daher von bikontinuierlichen Phasen. Die Röntgenbeugung zeigt, dass die Ach-

- sen der Röhren ein kubisches Gitter bilden, das der Phase ihren Namen gab. Diese Phasen spielen eine zentrale Rolle bei Mikroemulsionen.
- In der lamellaren Phase bilden die Lipide parallel angeordnete Doppelschichten, die durch dünne Wasserfilme getrennt sind. Diese Multischichten bilden auf großen Skalen gekrümmte Flächen. Die Dicke der Wasserschicht nimmt mit zunehmendem Wassergehalt zu, allerdings nur bis zu einer gewissen Grenze, die von der Struktur der Kopfgruppe und dessen Ladungszustand abhängt. Bei zwitterionischen Lipiden, wie Phosphatidylcholin (PC), liegt die Grenze bei 20%, (Dicke der Wasserschichtdicke $d_w \sim 1,8 \text{ nm}$) während in Gegenwart geladener Lipide aufgrund der elektrostatischen Abstoßung zwischen den Membranen höhere H_2O -Gehalte (bis 50%) möglich sind. Bei weiterer Zugabe von Wasser zerfällt die homogene lamellare Phase in eine Suspension aus zwiebel-förmigen Anordnungen von Multischichten (sog. *Liposomen*) und Wasser.
 - Im Grenzfall sehr hoher Wassergehalte ($> 99\%$) entstehen schließlich sphärische Schalen (*Vesikel*), die je nach Behandlung aus einer oder mehreren Doppelschichten bestehen. Einschalige Vesikel sind die einfachsten Modelle bio-

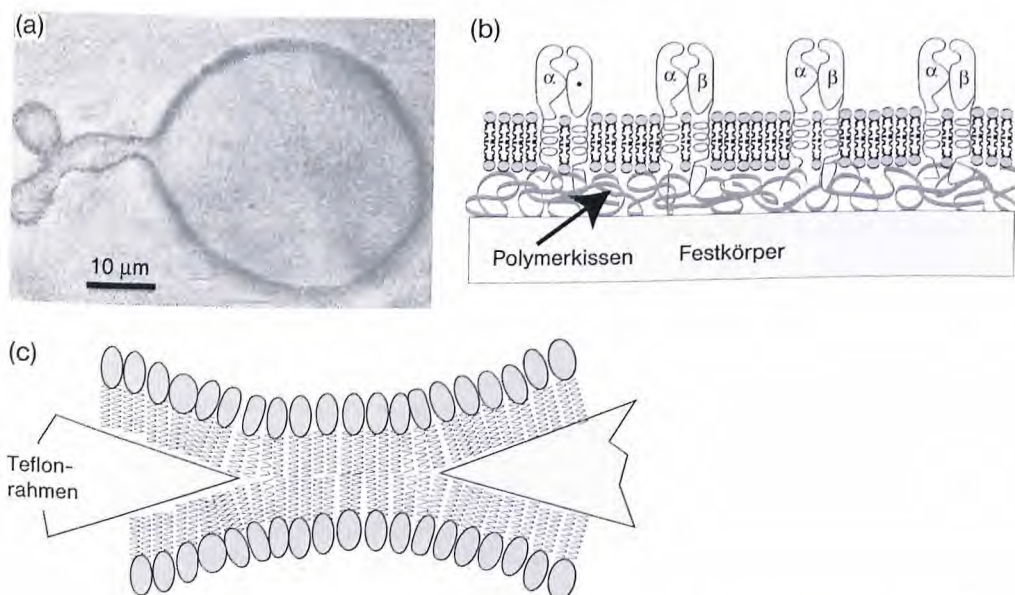


Abb. 10.2 Drei Klassen von Modellen zur Untersuchung der physikalischen Eigenschaften von Membranen: (a) einschaliges Riesenvesikel mit verzweigten Ausstülpungen (engl. tethers), (b) planare, festkörpergestützte Membranen. Durch Trennung der Lipid-Doppelschicht vom Festkörper durch ultradünne, hydrophile Polymerfilme erreicht man, dass die thermodynamischen und hydrodynamischen Eigenschaften der Membran erhalten

bleiben [2]. (c) Freischwebende, planare Membranen (sog. *schwarze Membranen*, die wir in Kapitel 15 ausführlicher behandeln werden), die durch Spreiten organischer Lösungen von Lipiden über Poren (Durchmesser $\Phi \sim 1 \text{ nm}$) in dünnen Teflonfilmen entstehen. Sie dienen vor allem zur Untersuchung der elektrischen Eigenschaften von Ionenkanälen.

gischer Membranen, an denen sich viele Verhaltensweisen natürlicher Membranen systematisch untersuchen lassen. Aus diesem Grund und wegen möglicher künftiger Anwendungen als smarte Transporteure für Pharmaka wurden sehr viele Methoden zu Herstellung einschaliger Vesikel entwickelt. Ihre Radien können zwischen 100 nm und 30 μm (sog. Riesenvesikel) variieren. Die Herstellung sehr kleiner Vesikel erfolgt durch Beschallen im Ultraschallbad oder indem man Liposomen durch Filter mit unterschiedlichen Porendurchmessern presst. Neben den Vesikeln werden häufig auch die in Abbildung 10.2 gezeigten Modellsysteme zur Untersuchung der physikalischen Eigenschaften biologischer Membranen eingesetzt.

10.1.1

Der hydrophobe Effekt bestimmt die Selbstorganisation und Stabilität der Zellmembranen

Eine der wichtigsten Anwendungen des in Kapitel 3 eingeführten hydrophoben Effekts in der Natur ist die spontane Assoziation der Lipide zu geschlossenen Doppelschichten. Die Assoziation der zweikettigen Phospholipide erfolgt schon bei außerordentlich niedrigen Konzentrationen (typischerweise bei $c^* \leq 10^{-12}$ M) und liegt praktisch unterhalb der Nachweisgrenze. Dies ist eine Folge der exponentiellen Abhängigkeit der kritischen Konzentration der Assoziation von der Arbeit (d. h. der chemischen Potenzialdifferenz $\Delta\mu$), die nötig ist, um ein Lipidmolekül aus einer assoziierten Lipidphase in ein monomeres Lipid in H_2O zu transferieren. Nach dem Nernstschen Verteilungsgesetz (Kapitel 3) gilt:

$$x^* = x_0 \cdot e^{-\frac{\Delta\mu}{k_B T}} \quad (10.1)$$

wobei x^* der Molenbruch des monomeren Lipids in Wasser und x_0 der Molenbruch in der Lipidphase ist.

Nach dem Eisberg-Modell des hydrophoben Effekts erwarten wir, dass $\Delta\mu$ etwa proportional zur Oberfläche der hydrophoben Kette und damit der Kettenlänge n_{CH_2} ist. Für Fettsäuren gilt bei ca. 25 °C die empirische Regel (s. [3] und [6]):

$$\Delta\mu \approx (\Delta\mu_0 - 3 \cdot n_{\text{CH}_2}) \frac{\text{kJ}}{\text{mol}} \quad (10.2)$$

mit $\Delta\mu_0 \approx 11$ kJ/mol. $\Delta\mu$ wurde für die biologisch wichtigen Phospholipide, wegen des kleinen Werts von x^* , noch nicht gemessen. Für Palmitoyl-lyssolezithin (einem C16:0 Phosphatidylcholin, dem eine Fettsäure mittels Phospholipase A2 abgespalten wurde) wurden x^* -Werte zwischen 10^{-6} und $2 \cdot 10^{-7}$ gemessen. Diese stimmen mit dem mit obiger Faustformel abgeschätzten Wert gut überein. Für das intakte Lipid (PC:C 16:1) erwartet man $x^* \leq 10^{-12}$ M.

Diese starke Bindung der Lipide zeigt sich auch darin, dass die Übergangshäufigkeit eines Phospholipids von der Membran in Wasser mit $k_{\text{escape}} \sim 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$ sehr klein ist, d. h. die mittlere Lebensdauer eines Lipids in der Membran kann über 10 h betragen.

Eine sehr elegante Methode zur experimentellen Charakterisierung der Stabilität der Membranen besteht in der Messung der Bindungskonstanten der Lipide mit der in Abschnitt 8.2 eingeführten Kraftmikroskopie. Man misst die Entbindungskraft durch lineare zeitliche Zunahme der Kraft (dF/dt) auf einzelne Lipide. Die Entbindungskraft hängt von der zeitlichen Änderung der Kraft ab. Sie ist für Dimyristoyl-phosphatidylcholin (und bei sehr kleinen Geschwindigkeiten dF/dt) $f^* \approx 12$ pN. Das entspricht einer Entbindungsarbeit pro Molekül von $\Delta g^* \sim 20 \cdot 10^{-21} \approx 5 k_B T$ und ist ein anderes Maß für die Bindungsenergie der Lipide in der Membran [4].

Die extrem geringe Löslichkeit der Phospholipide in Wasser sorgt für die außergewöhnliche Stabilität der Zellmembranen. Fettsäuren wären wegen ihrer hohen Löslichkeit völlig ungeeignet. Außerdem bilden sie keine Membranen, sondern nur Mizellen. Hinzu kommt, dass die nahezu zylinderförmige Form der Phospholipide dafür sorgt, dass schwach gekrümmte Membranen anstatt kugelförmiger Mizellen oder hexagonaler Phasen mit hohen Krümmungen entstehen.

Tatsächlich scheint das Verhältnis des Durchmessers der Kopfgruppe zum Durchmesser der hydrophoben Enden der amphiphilen Moleküle die durch Selbstassoziation in Wasser entstehenden Strukturen zu bestimmen. Es gibt viele Versuche, Zusammenhänge zwischen der Form der Lipide und der bevorzugten Überstruktur herzustellen. Zum Beispiel neigt Phosphatidylethanolamin, das eine kleine Kopfgruppe mit einer Tendenz zur Bildung von Wasserstoff-Brücken hat, dazu, invertierte Mizellen zu bilden. Der an dem Modell interessierte Leser sei auf die Literatur verwiesen [5]. Wir werden das Problem weiter unten eleganter mit der Elastizitätstheorie der Membranen behandeln.

10.2

Thermisch und elektrisch induzierte strukturelle Phasenumwandlungen der Membranen

10.2.1

Thermotrope Phasenumwandlung

Monomolekulare und bimolekulare Lipidschichten können in mehreren strukturellen Phasenzuständen existieren und sind aus diesem Grunde auch als Modelle zum Studium von Phasenumwandlungen in niederdimensionalen Systemen von generellem Interesse. Diese frappierende Fähigkeit der 2–5 nm dicken Filme spielt für die Bildung funktioneller Domänen (z. B. bei der Hormonverstärkung) und zur Kontrolle der Sortierung der Lipide und Proteine unter den intrazellulären Organellen eine zentrale Rolle, wie wir in den nächsten Abschnitten sehen werden (s. dazu auch [6]).

Die wichtigste physikalische Methode zur Beobachtung der Phasenumwandlungen isolierter Membranen und zur quantitativen Untersuchung ihrer thermodynamischen Eigenschaften ist die Differenzial-Kalorimetrie (engl. *differential scanning calorimetry*, DSC). Bei dieser Technik erwärmt man eine Suspension

von Vesikeln und eine reine wässrige Phase, welche sich in zwei getrennten, extrem gut wärmeisolierten Messzellen befinden, in gleicher Weise durch konstante Wärmezufuhr $\Delta Q/\Delta t$ und vergleicht die Temperaturerhöhung in beiden Zellen. Während einer *endothermen Phasenumwandlung* ändert sich die Temperatur in der Vesikelsuspension nicht oder nur sehr wenig (um ΔT_M), da die zugeführte Wärme von der Umwandlung aufgebraucht wird. Durch Vergleich mit der Temperaturerhöhung ΔT_R in der Referenzzelle kann man bei Kenntnis von deren spezifischen Wärme (C_R^0) die spezifische Wärme C_M messen, gemäß:

$$C_M = C_R^0 \frac{\Delta T - \Delta T_M}{\Delta T_M} \quad (10.3)$$

Mit modernen Mikrokolorimetern misst man direkt die zusätzliche Wärme (die sog. Exzesswärme, $\Delta Q_{ex}(T)$), die zugeführt (oder abgeführt) werden muss, um die Temperatur in beiden Gefäßen um ΔT zu erhöhen, und trägt $\Delta Q_{ex}/\Delta T$ gegen T auf. Im Bereich der Umwandlung entsteht eine Bande, die ein Maß für die Überschuss-Wärmekapazität C_p ist. Ein typisches *Thermogramm* (C_p - T -Diagramm) einer Suspension von Vesikeln aus einer Lipidkomponente zeigt Abbildung 10.3.

Die Untersuchung der Phasenumwandlungen künstlicher und biologischer Membranen ist seit über 30 Jahren ein intensiv bearbeitetes Gebiet der Membranforschung. Zahlreiche Untersuchungen mit einer Fülle experimenteller Methoden, wie Röntgenbeugung [7], Neutronenbeugung [8], Gefrierätz-Elektronenmikroskopie [9, 13], NMR-Spektroskopie [10, 11] und Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)-Spektroskopie [12] wurden angewandt. Das Gebiet ist sehr umfangreich, ist immer noch im Fluss und kann im Rahmen dieses Buches

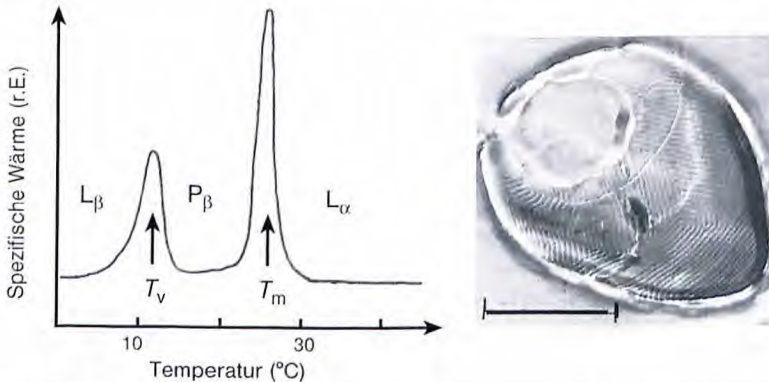


Abb. 10.3 Phasenumwandlung von einschichtigen Vesikeln aus Dipalmitoyl-phosphatidylglycerol (PG 16:0) mittels Differenzialkalorimetrie. Aufgetragen ist die Exzess-Wärmekapazität $C_p = \Delta Q_{ex}/\Delta T$ als Funktion der Temperatur. Man erkennt zwei Umwandlungen bei $T_V = 13^\circ\text{C}$ und $T_H = 24^\circ\text{C}$, die traditionsgemäß Vorumwandlung (V) und

Hauptumwandlung (H) genannt werden. Das rechte Bild zeigt das Oberflächenprofil der Membran der Phase zwischen T_V und T_H , die eine wellenförmige Textur aufweist. Man nennt sie daher auch Ripple-Phase (nach engl. *ripple* für Kräuselung). Die Aufnahme wurde mit Gefrierätz-Elektronenmikroskopie aufgenommen. Der Balken entspricht 10 μm .

nicht umfassend dargestellt werden. Der an mehr Details interessierte Leser wird auf das mehrfach zitierte *Handbook of Biological Physics* verwiesen. Nach dem heutigen Stand der Forschung ergibt sich folgendes Bild:

1. Membranen aus Lipiden mit großen Kopfgruppen und gesättigten hydrophoben Ketten, wie Phosphatidylcholin (PC m:0) und Phosphatidylglycerol (PG m:0) durchlaufen mit zunehmender Temperatur die in Abbildung 10.3 gezeigten drei Phasenzustände L_{β} , P_{β} und L_{α} . Bei Lipiden mit kleineren Kopfgruppen (z. B. Phosphatidylethanolamin) wird die P_{β} -Phase nicht gebildet. Nach mehrstündigem Ausheilen (bei $< 4^{\circ}\text{C}$) entsteht noch eine hoch geordnete kristalline Phase L_{α} .
2. In den Tieftemperaturphasen (L_{β} , P_{β}) sind die Lipidketten gestreckt (alle C=C-Bindungen sind in all-trans-Konfiguration) und sind gegen die Normale um den Winkel γ geneigt. Dies ist eine Folge des unterschiedlichen Flächenbedarfs, den die beiden Ketten (A_c) und der Kopf (A_h) beanspruchen, um optimal zu packen, sodass sich die beiden Teile der Moleküle im Minimum der zwischenmolekularen Wechselwirkung befinden. A_c und A_h sind durch die van der Waals-Radien der beiden Ketten senkrecht zur Längsachse und der Kopfgruppe bestimmt (Abb. 10.4b). Für Phosphatidylcholin (PC) ist $A_h \approx 0,52 \text{ nm}^2$ und $A_c \approx 0,4 \text{ nm}^2$. Daher wird $\gamma \approx 30^{\circ}$, wie man leicht nachrechnen kann. Im festen Zustand (P_{β}) bildet die Membran ein gewelltes Oberflächenprofil mit definierter Wellenlänge, das man sehr gut mittels Gefrierätz-Elektronenmikroskopie beobachten kann [13]. Der Grund für die wellenförmige Textur ist folgender: Wäre die Membran glatt, so würden sehr viele Bereiche mit unterschiedlicher Neigungsrichtung aufeinander stoßen, was zur Bildung zahlreicher, energetisch ungünstigen Defekte (z. B. von Neel-Wänden) führen würde. Durch Ausbildung der dachartigen Profile stehen die Lipide senkrecht zur mittleren Oberfläche und die Defekte werden vermieden (siehe Abb. 10.4a rechts oben). Das Verhalten ist ganz ähnlich wie bei der Ausbildung von Domänenstrukturen in Ferromagneten. Dies sieht man leicht ein, wenn man die Projektionen der geneigten Ketten auf die Membranebene betrachtet und die Richtung der Projektionen durch kleine Pfeile repräsentiert. Eine ausführlichere Diskussion der Defektstruktur der Membranen und Referenzen findet man in [9, 13 und der dort zitierten Literatur]).
3. Wie Abbildung 10.4b zeigt, müssen die Köpfe und die Ketten verschiedene Kristallgitter ausbilden, um optimal zu packen. Die Ketten bilden (wie in Kristalle aus Paraffinen oder Fettsäuren) Dreiecksgitter mit einer Gitterkonstanten $a = 0,42 \text{ nm}$ aus. Da die Kopfgruppen zwei Ketten verbinden, können sie bei optimaler Packung nur ein zweidimensionales orthorhombisches Gitter formen. Durch diese Frustration wird die Kristallstruktur stark gestört und durch zahlreiche Defekte des zweidimensionalen Gitters aufgelockert [9]. Man bezeichnet daher die Phasen L_{β} und P_{β} oft (etwas unpräzise) als Gel-Zustände, um mögliche Ähnlichkeiten mit Polymeren unterhalb des Glasübergangs hervorzuheben.

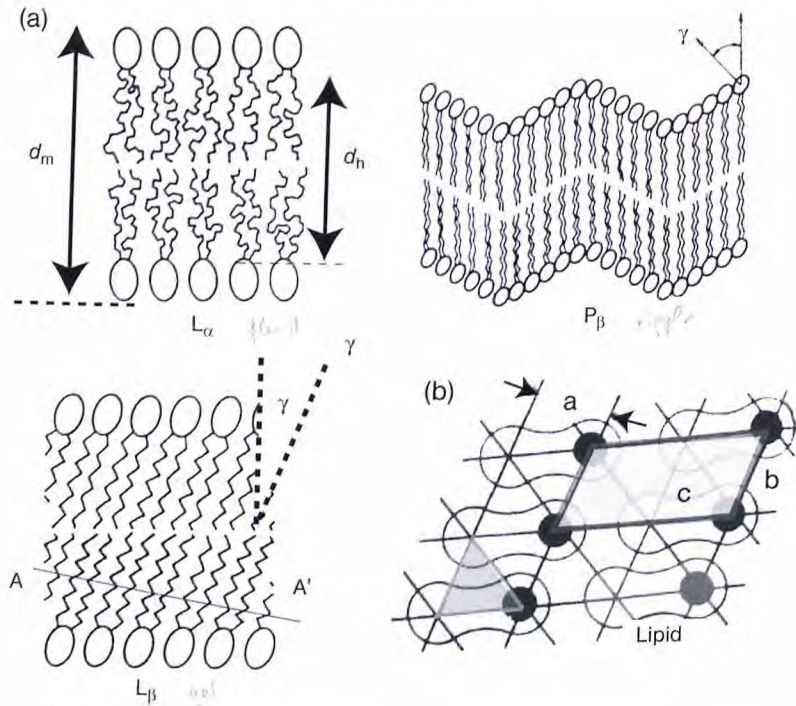


Abb. 10.4 (a) Molekulare Architektur des fluiden Zustands L_α und der zwei quasi-kristallinen Zustände P_β , L_β . In der Nomenklatur der flüssigkristallinen Phasen entsprechen L_α , L_β und L_c den Zuständen smektisch A und smektisch B. (b) Zur Struktur des Kristallgitters. Die Ketten der Phospholipide

bilden ein Dreiecksgitter (links unten) mit der Gitterkonstanten a , während die Köpfe aufgrund ihrer Asymmetrie nur ein orthorhombisches Gitter der Gitterkonstanten b und c bilden können. Es entsteht daher ein frustrierter quasikristalliner Zustand mit zahlreichen Gitterdefekten [13].

4. Der Übergang vom P_β -Zustand zur fluiden L_α -Phase ist mit dem Schmelzen der Ketten verbunden, dessen molekularen Mechanismus wir bei der Diskussion der Membrandynamik kennen lernen werden. Die Dicke der Membran wird reduziert (von $d_m \approx 4,6$ nm auf $d_m \approx 4,1$ nm) und die mittlere Fläche pro Lipid wird von $A_L \approx 0,52$ nm² auf $A_L \approx 0,64$ nm² erhöht.
5. Die Übergänge zwischen allen Zuständen isolierter Doppelschichten sind Phasenumwandlungen erster Ordnung. Allerdings kann der $L_\beta \rightarrow P_\beta$ -Übergang bei hohen lateralen Drücken von zweiter Ordnung werden, wie an monomolekularen Lipidfilmen an der Luft/Wasser-Grenzfläche beobachtet wurde (Literatur s. [14]). Der $L_\beta \rightarrow P_\beta$ -Übergang kann unterdrückt werden, wenn Vesikel unter hoher Spannung stehen [15] oder die Membranen auf Oberflächen haften.

10.2.2

Zur Kontrolle der Phasenumwandlung und deren Bedeutung für das Überleben der Zellen

Es gibt zahlreiche Hinweise, dass die Natur die Phasenzustände der Membranen an die Umweltbedingungen anpassen muss. Dafür gibt es mehrere Gründe. Lipide quellen in Wasser nur oberhalb der mit dem Kettenschmelzen verbundenen Hauptumwandlung. Einschalige Vesikel im L_{β} -Zustand sind nicht stabil und zerfallen durch Knospung und Abspaltung kleiner Vesikel. Die im vorherigen Kapitel beschriebenen Membranprozesse erfordern eine Balance zwischen Beweglichkeit und lokaler Strukturbildung durch laterale Phasentrennung, die wir später ausführlich besprechen werden. Manche Lipide wie Phosphatidylethanolamine (PE) und Sphingomyeline neigen in der Nähe der Hauptumwandlung zur Bildung von hexagonalen Phasen (s. Abb. 10.1) und tragen so zur Instabilität der Membran bei.

Die Anpassung des Phasenzustands der Membranen an die Umgebungsbedingungen spielt eine wichtige Rolle für die Kälteresistenz der Pflanzen. Die Membranen der Zellhüllen und der Kompartimente werden für Ionen durchlässig, wenn die Temperatur der Umgebung unterhalb den Wert von T_m der Lipide fällt. Dies führt zu einer schnellen Erhöhung des intrazellulären Ca^{2+} -Spiegels und in der Folge zum Tod der Zellen. Die Pflanzen haben daher Mechanismen zur Modifikation der Lipidstruktur entwickelt, sodass der Anteil mehrfach ungesättigter Lipide (mit *cis*-Konfiguration) bei Erniedrigung der Umgebungstemperatur erhöht wird. Dies erfolgt durch Biosynthese von Enzymen, welche gesättigte Fettsäuren in ungesättigte umwandeln. Auch Pflanzenzüchter versuchen den Anteil ungesättigter Ketten zu erhöhen, um kälteresistente Pflanzen zu züchten.

Da die Temperatur der Lebewesen konstant ist, muss die Natur die Komponenten der Materialien an die Umgebungsbedingungen anpassen. Es gibt mehrere Parameter zur Einstellung der Umwandlungstemperatur der Lipidmatrix der

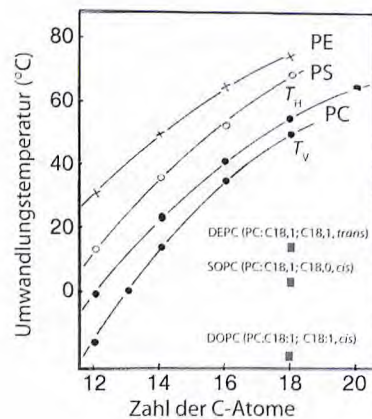


Abb. 10.5 Variation der Umwandlungstemperaturen der wichtigsten Phospholipide mit der Kettenlänge n . Für Phosphatidylcholin (PC) werden die Werte für die Vor- und Hauptumwandlungen (T_V und T_H) gezeigt. Für Phosphatidylethanolamin (PE) und Phosphatidylserin (PS) ist nur die Hauptumwandlung angegeben. Rechts unten werden die Umwandlungstemperaturen für PC mit zwei (C 18:1; 18:1) bzw. einer (C 18:1; 18:0) einfach ungesättigten C18-Kette wiedergegeben. Man beachte den starken Unterschied zwischen den Lipiden mit den Doppelbindung in der *cis*- (DOPC) und der *trans*-Konformation (DEPC). Abkürzungen der Trivialnamen: DOPC ((PC:C18:1; 18:1, *cis*)): Dioleil-phosphatidylcholin. DEPC (PC:C18:1; 18:1, *trans*): Dielaidin-phosphatidylcholin. SOPC (PC:C18:0; 18:1, *cis*): Stearoyl-oleyl-phosphatidylcholin.

Membranen; wie die Kettenlänge, die Zahl der Doppelbindungen, die Position der Doppelbindung in der Kette und den Ladungszustand der Membranen. Abbildung 10.5 gibt einen Einblick in die Möglichkeit, die Umwandlungstemperatur der Membranen durch Variation der Kettenlänge und der Zahl der Doppelbindungen einzustellen. Betrachten wir zunächst die Lipide PC, PE, PS mit gesättigten Ketten (PX m:o). Man beobachtet einen fast linearen Anstieg von T_m mit der Zahl der Kohlenstoff-Atome. Dies ist die Folge eines bemerkenswert konstanten Beitrags jeder CH_2 -Gruppe zu ΔH_t und ΔS_t . So findet man beispielsweise für die Phosphatidylethanolamine:

$$\frac{\delta\Delta H_t}{\delta n} = (4,5 \pm 0,5) \text{ kJmol}^{-1}; \quad \frac{\delta\Delta S_t}{\delta n} = (12 \pm 2) \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$$

PC- und PE-Lipide besitzen sehr ähnliche Werte der Inkremente von ΔH_t und ΔS_t . Dies ist ein sehr wichtiges Ergebnis, denn es zeigt, dass der $P\beta \rightarrow L\alpha$ -Übergang vorwiegend durch die Kohäsion der Ketten bestimmt ist. Der Einbau einer Doppelbindung in die Ketten, deren Position und deren Konformation beeinflusst die Hauptumwandlung dramatisch, wie das Beispiel der Phosphatidylcholine (PC) mit C18:1 Ketten zeigt. Befindet sich die Doppelbindung beispielsweise in der Mitte der beiden Ketten (an der Position C9), so erniedrigt sich die Umwandlungstemperatur vom Wert $T_m \approx 50^\circ\text{C}$ für C18:0-PC auf $T_m \approx -5^\circ\text{C}$, wenn die C=C-Bindung in der *cis*-Konfiguration vorliegt, aber nur auf $T_m \approx 12^\circ\text{C}$, wenn sie sich im *trans*-Zustand befindet. (s. Abb. 9.5 rechts unten). Tatsächlich ist der Effekt der Doppelbindung am größten, wenn diese in der Mitte der Kette liegt. Wird sie zur Kopfgruppe oder zum Kettenende hin verschoben, so wird die Umwandlung viel weniger stark zu tiefen Temperaturen verschoben [9].

10.2.3

Membranen als geladene Grenzflächen: ladungsinduzierte Phasenumwandlungen und Modifikation lokaler pH-Werte an Oberflächen

Wie bereits mehrfach erwähnt, enthalten natürliche Membranen etwa 7–10 mol% einfach negativ geladener Lipide. Da diese meist auf einer Seite der Membran konzentriert sind (z. B. auf der Innenseite der Plasmamembranen), ist die lokale Konzentration noch höher. Die innere Membran der Mitochondrien enthält sogar 20% des zweifach negativ geladenen *Cardiolipins*. Dies eröffnet die Möglichkeit, die laterale Organisation der Membranen über elektrostatische Kräfte zu kontrollieren. Die Beobachtung, dass die geladenen Lipide aktiv zur inneren Monoschicht der Plasmamembran transportiert werden (wahrscheinlich durch *Lipid-Flippasen*) weist darauf hin, dass die Natur diese Möglichkeit zur Optimierung der Eigenschaften der Membranen nutzt. Eine weitere Möglichkeit besteht in elektrisch induzierten Phasenumwandlungen, die wir im nun diskutieren wollen.

Das Verhalten geladener Membranen ist subtil, da die p_K -Werte (Definition s. Kapitel 3) der geladenen Köpfe (d. h. der pH-Wert, bei dem die Köpfe ihre Ladung ändern) durch die Oberflächenpotenziale erheblich gestört werden können, was oft zu erstaunlichen Phänomene führt (oder zu Verwirrungen, wenn man dies

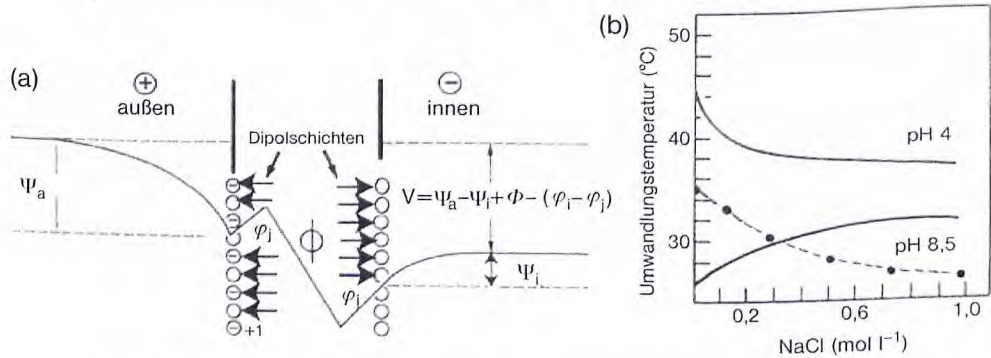


Abb. 10.6 (a) Zur Elektrostatik der Membranen. Schematische Darstellung des Verlaufs des elektrostatischen Potentials senkrecht zur Membran. Man beachte den inhomogenen Spannungsabfall im Innern der Membran aufgrund des Beitrags der Dipole des Glycerol-Rückgrats des Lipids, vor allem der O=C=O-Gruppen. (b) Einfluss der Ionenstärke auf die Übergangstemperatur von Vesikeln aus einfach geladenem DMPA-Methylester, bei dem eine P-O-Bindung durch Ankopplung einer -CH₃-Gruppe neutralisiert wurde. Das Lipid ist bei pH 8,5 vollständig dissoziiert und befindet sich bei pH 4 in der Mitte des Dissoziations-

gleichgewichts. Die gestrichelte Kurve zeigt den Effekt eines organischen (Ammonium-) Salzes auf die Umwandlung von Dimyristoylphosphatidylserin, das ebenfalls eine dissoziierbare Gruppe besitzt (s. [9] und dort angegebene Literatur). Die meisten elektrostatisch induzierten Konformationsumwandlungen an Vesikeln lassen sich erstaunlich gut mit der klassischen Gouy-Chapman-Debye-Theorie beschreiben, wie wir im Folgenden zeigen möchten. Eine ausführlichere Darstellung der elektrostatischen Effekte und Zitate bis 1996 findet man in [9] und [16].

nicht beachtet). Ein Beispiel zeigt Abbildung 10.6b, in der die Abhängigkeit der Umwandlungstemperatur T_m einer Membran aus einem einfach geladenen Lipid (das bei pH 4 dissoziiert) als Funktion der Ionenstärke dargestellt ist. Während bei pH 4 T_m mit der Ionenstärke abnimmt, findet bei pH 8,5 eine Zunahme statt. Es ist noch sehr wichtig zu beachten, dass die Effekte einfach geladener Ionen bei Salzstärken von 0,2 Mol/l gesättigt sind und in biologischen Membranen daher eine untergeordnete Rolle spielen. Zweiwertige Ionen und geladene Proteine können jedoch die Bildung von Domänen aus geladenen Lipiden auch bei hohen Salzstärken induzieren [9].

Die Änderungen der Umwandlungstemperatur T_m mit dem Ladungszustand der Membran lassen sich alle auf einen zusätzlichen elektrostatischen lateralen Druck π_{el} zurückführen. Nach der Clausius-Clapeyron-Gleichung führt eine Änderung des Drucks $\Delta\pi$ auf eine Variation von T_m gemäß:

$$\Delta T_m \approx - \frac{\Delta\pi \cdot \Delta A}{\Delta S}, \quad (10.4)$$

wobei ΔA die Umwandlungsfläche pro Molekül bei der Phasenumwandlung und ΔS die Umwandlungsentropie (in J K⁻¹) ist. Man beachte, dass T_m erniedrigt wird, wenn der Druck expansiv ist.

Der laterale elektrostatische Druck π_{el} (in mN/m gemessen) ist bestimmt durch die Energiedichte der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen den Kopfgruppen. Diese ist im Wesentlichen gleich der freien Energie der diffusen Doppelschicht. Für einwertige Ionen und schwache Wechselwirkungen ($e\psi_0/k_B T < 1$) hat diese die Form [16]:

$$\pi_{el} = 2\epsilon\epsilon_0\kappa\left(k_B T/e\right)^2 \left(\cosh\frac{e\Psi_0}{2k_B T} - 1\right) \quad (10.5)$$

wobei ψ_0 das Oberflächenpotential und κ die in Abschnitt 6.3 eingeführte reziproke Debye-Länge ist. Für praktische Zwecke ist es sinnvoll, κ nach Gleichung (6.5) durch die Konzentration c der Gegenionen (in Mol/l) auszudrücken. Für $T = 300$ K und $\epsilon = 80$ wird:

$$\pi_{el} \approx 0,3\sqrt{c} \left(\cosh\frac{e\Psi_0}{2k_B T} - 1\right)$$

wobei π_{el} in mN/m erhalten wird. Für ein Membranpotential von 100 mV ergibt sich ein lateraler Druck von $\Delta\pi_{el} = 1$ mN/m. Dies ist etwa 3% des eingepprägten lateralen Drucks der Membranen von $\pi \approx 30$ mN/m. Theoretisch interessierte Leser sollten beachten, dass die Ableitung dieser Gleichung trotz der anschaulichen Bedeutung von π_{el} aufwendig ist, da man berücksichtigen muss, dass die Oberflächenladung konstant ist. Eine detaillierte Ableitung der Gleichung findet man in [16].

Entscheidend für viele Ladungseffekte ist, dass Ψ_0 über den Dissoziationsgrad α (d. h. den Bruchteil dissoziierter Kopfgruppen) reguliert werden kann. Da die Ladungsdichte $\sigma = \alpha e/A$ ist (wobei A die Fläche pro Lipid ist), ergibt sich für Wasser als Lösungsmittel ($\epsilon = 80$) und für $T = 25$ °C folgende einfache Gleichung [9, 17]

$$\Psi_0 = \frac{2k_B T}{e} \operatorname{arcsinh}\left(\frac{134\alpha}{A\sqrt{c}}\right) \quad (10.6)$$

Wir betrachten zwei einfache, aber praktisch wichtige Effekte des Oberflächenpotenzials: Die Änderung des pH-Wertes und des Dissoziationsgrades an geladenen Oberflächen.

1. Die Konzentration der Protonen $[H_S^+]$ an der negativ geladenen Oberfläche der Membranen ist größer als der Wert $[H_0^+]$ in der Lösung (in der $\Psi = 0$ sei) und ist durch die Boltzmann-Verteilung bestimmt.

$$[H_S^+] = [H_0^+] \cdot \exp\left(\frac{-e\Psi}{k_B T}\right) \quad (10.7a)$$

2. Durch die Änderung des pH an der Oberfläche wird das Dissoziationsgleichgewicht $LH \leftrightarrow L^- + H^+$ der Lipide zu höheren pH-Werten verschoben. Der Dissoziationsgrad α ist

$$\alpha = \frac{K_D}{[H_S^+] + K_D} \quad (10.7b)$$

wobei K_D die Dissoziationskonstante der Reaktion ist. Da die Protonendichte an der Oberfläche erhöht ist, wird der Dissoziationsgrad gegenüber dem Wert in der Lösung reduziert. Der Effekt ist bei kleinen Ionenstärken erheblich, wird aber in Gegenwart von anderen Gegenionen wie Na^+ und K^+ reduziert. Die Modifikation des pH-Wertes an geladenen Oberflächen ist ein wichtiges Phänomen, das man bei Experimenten mit geladenen Grenzschichten stets beachten muss.

10.3

Molekular-statistisches Modell der Phasenumwandlung

Die mit dem Schmelzen der Ketten verbundene Phasenumwandlung $L_{\beta'} \rightarrow L_{\alpha}$ ist die Folge der thermisch induzierten Bildung von Kettendefekten (z. B. Kinken, Abb. 10.7c). Diese entstehen durch Aktivierung der *behinderten Rotation* um die C–C-Bindungen der Ketten. Dabei gehen die im Grundzustand in *trans*-Konfiguration vorliegenden Segmente der Ketten in höher angeregte *gauche*-Zustände über, die durch Rotation um die C–C-Bindungen um 120° entstehen. Die Aktivierungsenergie ε^* des *trans*→*gauche* Übergangs und die Anregungsenergie $\Delta\varepsilon$ der *gauche*-Konformation (Abb. 10.7) kennt man aus Untersuchungen des Glasübergangs von Polymeren und Paraffinen. Man kann damit den Bruchteil der angeregten *gauche*-Konformationen $\alpha_g = n_g/(n_g + n_t)$ als Funktion der Temperatur leicht berechnen (s. Übungsaufgabe 10.7). Dieser ist für 30°C : $\alpha_g \sim 0.2$, d. h. bei physiologischer Temperatur sind fast ein Viertel der C–C-Bindungen angeregt. Man kann mit der Arrhenius-Gleichung auch leicht abschätzen, dass Defekte längs der Kette mit Diffusionskoeffizienten von etwa $D \sim 1 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{sec}$ diffundieren können. Wie Abbildung 10.7c zeigt, sind die Defekte (z. B. Kinken) mit der Bildung freier Volumina verbunden, in denen kleine Moleküle wie H_2O oder Lokalanästhetika gelöst werden können. Die Diffusion der Defekte spielt eine wichtige Rolle für den molekularen Transport durch die Membran.

10.3.1

Charakterisierung der flüssigkristallinen Ordnung

Wie wir unten sehen werden, spielt die flüssigkristalline Ordnung der Ketten eine wichtige Rolle für die Lipid-Protein-Wechselwirkung. Diese wird (wie im Fall der Flüssigkristalle) durch den in Abbildung 10.8 definierten *Ordnungsgrad* charakterisiert. Die momentane lokale Orientierung des Segments k am Ort z wird durch den Winkel θ_k zwischen der C–H-Bindung und der Membran-Normalen n charakterisiert. Den Grund für diese etwas komplizierte Definition werden wir gleich sehen. Die mittlerer Orientierung der Segmente am Ort z ist dann durch den thermodynamischen Mittelwert $\langle S_k \rangle = 1/2 \langle (3\cos^2 \theta_k - 1) \rangle$ bestimmt. Durch Mittelung über alle Segmente k erhält man ein Maß für die mittlerer Orientierung der Ketten in der Membran gemäß:

$$S_{\text{CH}} = \frac{1}{N} \sum_1^N \langle S_k \rangle \quad (10.8)$$

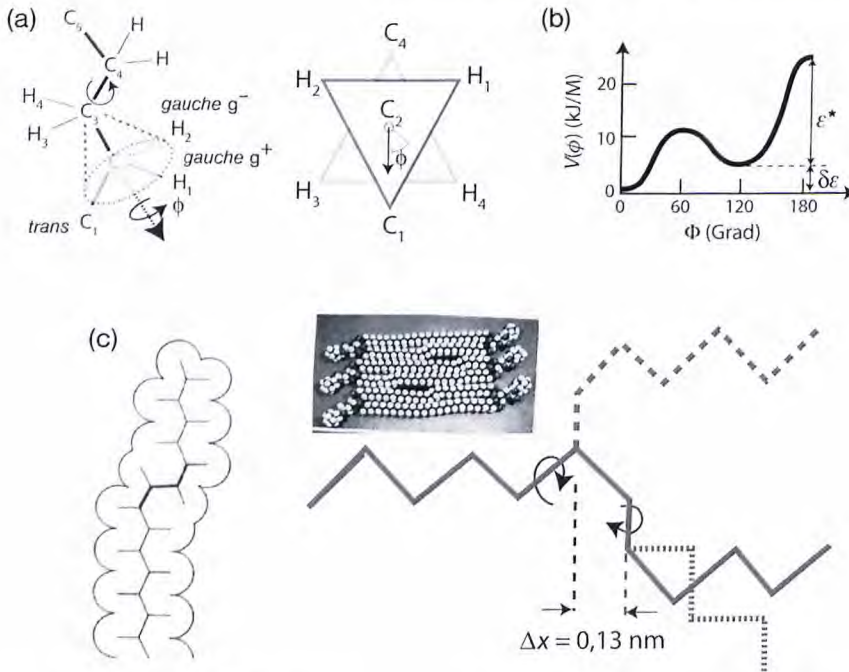


Abb. 10.7 Defektmodell der Membran-Phasenumwandlung. (a) Ein Fragment der Kette von der Seite (links) und in Richtung einer C–C-Achse betrachtet (rechts). Man erkennt leicht, dass die sterische Abstoßung für den angezeigten Rotationswinkel φ wegen des kleinen Molvolumens der Wasserstoffatome minimal ist. Eine metastabiler Zustand höherer Energie, die *gauche*-Konformation ($\delta\varepsilon \approx 4$ kJ/M) entsteht durch gehinderte Rotation um den Winkel $\varphi = 120^\circ$, da in diesem die Kohlenstoffatome benachbart sind. (b) Potenzial der sterischen Wechselwirkung als Funktion des Rotationswinkels φ

um die C–C-Achse. Die Werte von ε^* und $\delta\varepsilon$ kennt man aus Untersuchungen an Polymeren und Paraffinen [18]. (c) Kalottenmodell einer Kinke. Dieser Defekt höherer Ordnung entsteht durch simultane Bildung zweier *gauche*-Konformationen, die durch eine C–C-Bindung in *trans*-Konfiguration getrennt sind. Die Kette verkürzt sich dabei um $\Delta x \approx 0,13$ nm [13, 18]. Man beachte, dass eine solche Kinke weniger freies Volumen beansprucht als eine einzelne *gauche*-Konformation und die Phasenumwandlung in Anordnungen dicht gepackter Ketten begünstigt.

Man kann leicht nachvollziehen, dass mit dieser Definition der lokale und der mittlere Ordnungsgrad in beiden Fällen Werte zwischen null (für isotrope Orientierungen) und eins (für perfekte Orientierung der Ketten) annehmen.

Eine Standardmethode zur Messung des lokalen Ordnungsgrades $\langle S_k \rangle$ ist die Deuterium-Kernresonanzspektroskopie (NMR). Deuterium hat ein Quadrupolmoment, und man beobachtet eine Dublettaufspaltung des ^2H -NMR-Spektrums aufgrund der Wechselwirkung des Kernspins ($I = 1$) mit dem anisotropen elektrischen Feld der C–D-Bindung. Den Ordnungsgrad S_{CD} der C–D-Bindung erhält man aus der Dublettaufspaltung $\Delta\nu_Q$ gemäß

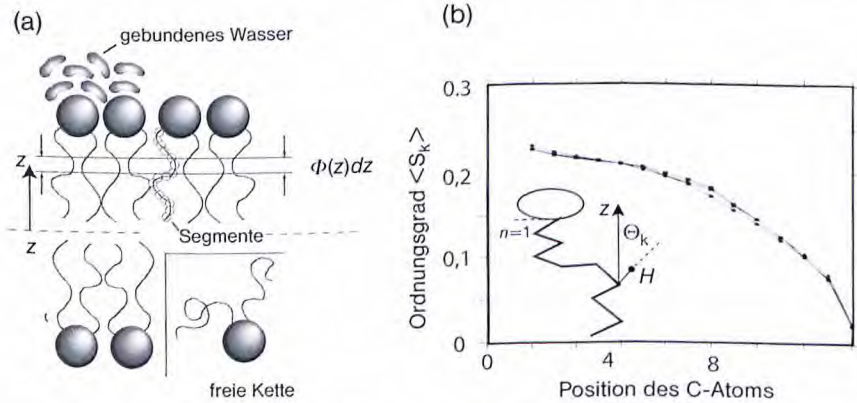


Abb. 10.8 (a) Lokale Konformation der Ketten in einer planaren Membran (nach [20]). Jedes aus einer CH_2 -Gruppe bestehende Segment befindet sich in einer Konformation α (*trans*- oder *gauche*-Zustand). Der Zustand am Ort z wird durch die Zahl der CH_2 -Gruppen (n_c) im Volumen $\phi(a,z)$ dz charakterisiert, wobei $\phi(a,z)$ die besetzte Fläche und dz die Dicke der betrachteten Schicht ist. Diese Zahl ist $n_c = \phi(a,z) dz/\nu$, wobei ν das mittlere

verfügbare Volumen pro CH_2 -Gruppe ist ($\nu = 27 \cdot 10^{-3} \text{ nm}^3$). Man beachte, dass unter der Wirkung der Kohäsionskräfte zwischen den Ketten die Bewegungsfreiheit der Segmente wesentlich eingeschränkt wird. (b) Variation des lokalen Ordnungsgrades der k -ten CH_2 -Gruppe in der L_α -Phase von DPPC als Funktion der Position der C-Atome. Θ_k ist der Winkel zwischen der C-H-Bindung und der Membrannormalen. (Nach [21].)

$$S_{\text{CD}} = - \frac{2}{3} A^{-1} \Delta\nu_Q \tag{10.9}$$

wobei A die bekannte Quadrupol-Kopplungskonstante für die C–D-Bindung der CH_2 -Ketten ist. Eine ausführliche Darstellung der Methode findet man in [10, 11]. Anderer Methoden zur Messung der lokalen Ordnungsgrade sind die Elektronenspinresonanz - und die Ramanspektroskopie. Alle Methoden zeigen, dass der Ordnungsgrad von den Kopfgruppen zu den Kettenenden stark abfällt. Wie Abb. 10.8 zeigt, ist der Ordnungsgrad bis zur Mitte der Kette nahezu konstant und fällt dann zum Kettenende hin fast um einen Faktor fünf ab. In der Mitte verhält sich die Membran wie eine isotrope Flüssigkeit. Wir werden diese Abnahme der lokalen Ordnung bei der Diskussion der Membrandynamik besser zu verstehen lernen. Messungen des Ordnungsgrades mittels NMR-Spektroskopie sind ein wichtiges Werkzeug zur Untersuchung der Störung der Membranstruktur durch Cholesterol und Proteine oder zum Erstellen von Phasendiagrammen [19].

10.3.2

Theoretische Modelle der Phasenumwandlung

Eine wichtige Rolle für unser heutiges Verständnis der fundamentalen Eigenschaften biologischer Membranen spielten auch zahlreiche theoretische Modelle, die parallel zu den experimentellen Untersuchungen entwickelt wurden. Eine de-

taillierte Darstellung würde hier aber zu weit führen, und wir beschränken uns daher auf eine kurze Zusammenfassung der Methoden sowie einiger wichtiger Ergebnisse:

Landau-Theorie: Einen guten Zugang zum Verständnis der thermodynamischen Eigenschaften der Membranen und der Phasenumwandlungen ermöglicht die klassische Landau-Theorie. Sie bildet die physikalische Basis für die experimentelle Aufklärung der Ordnung der Phasenumwandlungen (s. Übungsaufgabe 10.5) monomolekularer und bimolekularer Lipidfilme und deren Abhängigkeit vom lateralen Druck. Man erhält damit Einblick in die Symmetrie der Phasenzustände und kritische Phänomene. Sie ermöglicht die Abschätzung der Fluktuation der Ordnungsparameter der Membran, deren Störung durch eingebaute Proteine sowie die dadurch vermittelte Protein-Protein-Wechselwirkung. Eine ausführliche Darstellung der Landau-Theorie der Phasenumwandlungen der Membranen und Lipid Monoschichten, deren Anwendungen zur Analyse der Ordnung der Umwandlungen sowie der Literatur findet man in [9]).

Molekularstatistische Modelle: Ein einfaches, aber sehr erfolgreiches Modell basiert auf der Einführung einer Wahrscheinlichkeitsverteilung $P(\alpha)$ der angeregten Konformationen der Ketten, wobei sich jede CH_2 -Gruppe (Segment genannt) nur im *trans*- oder einem der *gauche*-Zustände befinden kann (Abb. 10.7a) [20]. $P(\alpha)$ ist die Wahrscheinlichkeit, eine Kohlenwasserstoffkette in der Konfiguration α zu finden.

Man berechnet $P(\alpha)$ nach den klassischen Methoden der statistischen Thermodynamik über die Zustandssumme (s. Kapitel 3) und bestimmt die wahrscheinlichste Verteilung der Konformation der Ketten durch Minimalisierung der freien Energie. Durch Berücksichtigung wichtiger experimenteller Randbedingungen wie der Anregungsenergie $\varepsilon(\alpha)$ der *trans-gauche*-Übergänge ($\delta\varepsilon$ in Abb. 10.7b), einer festen Flächen pro Molekül, und homogener Dichte der Segmente im Kettenbereich lassen sich realistische Verteilungen berechnen. Mit diesen Verteilungen lassen sich beobachtbare Parameter berechnen und mit experimentellen Daten vergleichen. Die Qualität der Verteilungsfunktion wird getestet, indem man bekannte physikalische Eigenschaften wie die Profile der Ordnungsgrade (Abb. 10.8b) oder elastischer Konstanten berechnet und mit experimentellen Daten vergleicht. Eine gut verständliche Einführung in die Theorie und zahlreiche Anwendungen bis 1995 findet man in dem Übersichtsartikel von A. Ben-Shaul [20].

Die zweite erfolgreiche molekularstatistische Methode zur Berechnung der physikalischen Eigenschaften von Membranen basiert auf Monte Carlo-Simulationen. Hier beschränkt man sich auf eine *a priori*-Auswahl wahrscheinlicher Konformationen. Ein häufig benutzter Ansatz ist das 10-Zustandsmodell von Pink, das vor allem erfolgreich zur Beschreibung von Lipidmischungen eingesetzt wurde (s. [21]).

Moleküldynamik-Simulationen: Mit der Entwicklung immer leistungsfähigerer und schnellerer Rechner gewinnt die Untersuchung der physikalischen Eigenschaften oder einzelner Membranprozesse mittels Moleküldynamik-Simulationen (MD) zunehmend an Bedeutung. Damit lassen sich insbesondere Einblicke in schnelle dynamische Prozesse gewinnen oder die Bewegung kleiner Moleküle wie Wasser oder Pharmaka simulieren. Als Beispiel zeigt Abbildung 10.9 die

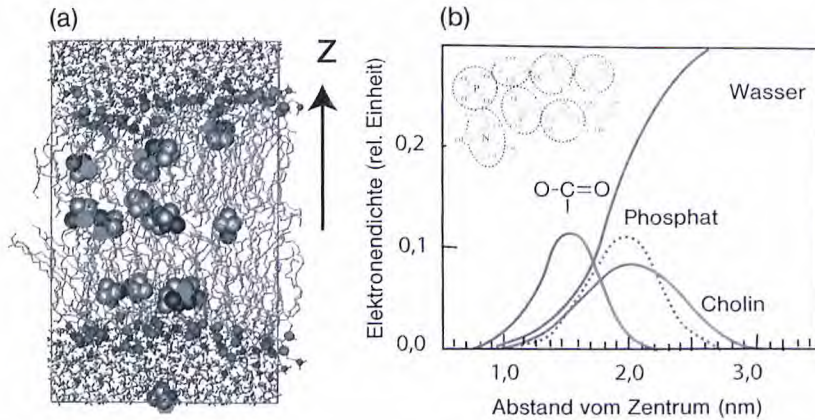


Abb. 10.9 (a) Momentanbild einer mittels Moleküldynamik-Rechnung simulierten Membran. Die gelben Moleküle stellen das Lokalanästhetikum Halothan (CF_3CHBrCl) dar. (Nach [23] mit Genehmigung der Autoren.) (b) Charakterisierung der molekulare Struktur der Phospholipide im fluiden L_α -Zustand (Beispiel DPPC bei 25 Vol% Wasser) durch die Verteilung der Elektronendichten in Normalenrichtung (vom Zentrum der Membran aus

gerechnet). Die Verteilungen wurden durch Röntgenbeugung [8, 24] und Moleküldynamik-Simulationen [25] bestimmt. Man beachte, dass die polare $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})$ -Gruppen, über die die Kohlenwasserstoff-Ketten und die Kopfgruppen verbunden werden, ca. 0,5 nm in den hydrophoben Bereich eindringen können. Dadurch entsteht ein relativ breites, semi-polares Band von 0,9 nm Breite (s. dazu auch Abb. 10.6a).

Simulation einer Membran mit gelösten Molekülen von Halothan. Dies ist ein stark hydrophobes Lokalanästhetikum zur Betäubung durch Einatmen, das nur durch Lösen in den Membranen in den Körper gelangt. Wie wir in Kapitel 12 sehen werden, spielen die MD-Methoden eine besonders hilfreiche Rolle bei der Analyse von experimenteller Untersuchungen der Membrandynamik mittels quasielastischer Neutronenstreuung (QENS) oder NMR-Relaxationsmethoden [22].

Das Grundprinzip der MD-Simulation ist sehr einfach. Wie in Kapitel 7 beschrieben, bedient man sich der Gesetze der klassischen Mechanik und löst Bewegungsgleichungen aller Atome in einem effektiven Potenzial. Man startet von einer gewissen Ausgangssituation und betrachtet die Entwicklung des Systems als Funktion der Zeit durch Lösen der Newton-Gleichungen. Mit dem derzeitigen Stand der Technik lassen sich Systeme aus rund 100 Lipiden beherrschen, wobei die Entwicklung während der ersten 100 psec verfolgt werden kann [23, 25].

10.4 Hierarchie dynamische Membranprozesse

Wir haben schon mehrfach darauf hingewiesen, dass viele biologische Membranprozesse entscheidend durch die molekulare Beweglichkeit der Komponenten kontrolliert werden. Die Dynamik der Membranen ist durch eine komplexe Hie-

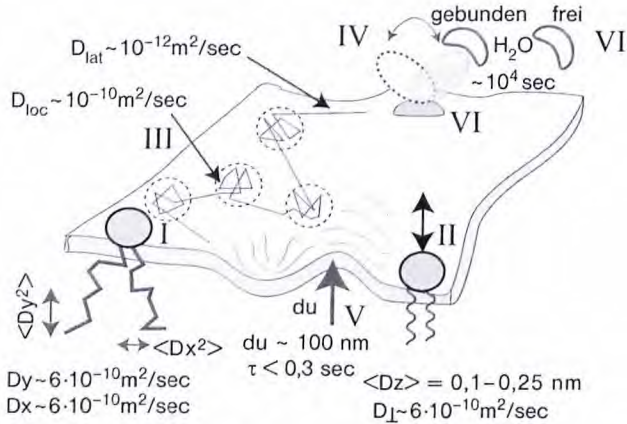


Abb. 10.10 Hierarchie der Bewegungsprozesse in Membranen. Diese umfassen: diffusive Sprünge der Kettensegmente parallel und senkrecht zur Membranebene (I), Zitterbewegungen einzelner Moleküle in die Normalenrichtung, die man als Diffusion in einem Potenzial verstehen kann (II); lokale und freie

Diffusion der Lipide in der Ebene der Membran (laterale Diffusion genannt, III); Umlappprozesse der Kopfgruppen (IV); thermische Anregungen von Biegefluktuationen (Membranflackern, V); Austausch zwischen gebundenem und freiem Wasser (VI).

rarchie von Bewegungsprozessen bestimmt, die sich über eine Zeitskala von 10^{-12} bis 1 sec erstrecken. Um diese zu erfassen, wurde eine breite Palette von Methoden entwickelt, die wir hier nur teilweise besprechen können. Einblicke in schnelle Prozesse, die in wenigen Pikosekunden ablaufen, lassen sich seit einigen Jahren auch durch Simulation mit Methoden der Moleküldynamik oder MC-Methoden recht zuverlässig gewinnen (s. [23, 25] und Abb. 10.9), was auch neue Möglichkeiten zur Interpretation experimenteller Daten eröffnet. Dies kommt vor allem Methoden zugute, mit denen man molekulare Bewegungsprozesse sehr detailliert erfassen kann, wie quasielastische Neutronenbeugung (QENS) oder NMR-Relaxations-Spektroskopie, bei denen die Interpretation der Daten über Modelle erfolgen muss.

Abbildung 10.10. zeigt eine Zusammenstellung der wichtigsten dynamischen Prozesse zusammen mit typischen Relaxationszeiten und Diffusionskoeffizienten:

1. Die schnellsten Prozesse sind die Schwingungen der Molekülbindungen oder die die *trans-gauche*-Übergänge treibenden Torsionsschwingungen um die C–C-Bindungen mit Relaxationszeiten von etwa $2 \cdot 10^{-12}$ sec.
2. Auf etwas längeren Zeitskalen (10^{-10} - 10^{-8} sec) findet die diffusive Bewegung der Kettensegmente statt, die durch die Torsionsschwingungen angeregt werden. Diese Prozesse lassen sich besonders effektiv mithilfe der quasielastischen Neutronenbeugung und Methoden der NMR-Relaxationsspektroskopie studieren (Abschnitt 10.6 und [26]). Dabei zeigt sich, dass jedes Segment der Kette

- Sprünge mit gleicher Sprungfrequenz parallel und senkrecht zur Membranebene durchführt. Darauf folgt, dass das mittlere Verschiebungsquadrat (Δx^2) der Ketten in x -Richtung linear von der Kopfgruppe zum Kettenende hin zunimmt, was exakt dem in Abb. 10.8 gezeigten Gradienten des Ordnungsgrades entspricht (Abb. 10.8 und [20, 26]).
3. Die Lipidmoleküle führen lokale Zitterbewegungen in lateraler und transversaler Richtung aus, die man als eingeschränkte Brownsche Bewegung in Potentialen beschreiben kann. Die Bewegung in die Normalenrichtung führt zu einer lokalen dynamischen Rauigkeit mit Amplituden von ca. 0,2 nm, die man auch mittels Moleküldynamik-Simulation beobachtet hat (Abb. 10.9)
 4. Die Diffusion in der Ebene der Membran besteht aus einer lokalen Zitterbewegung der Lipide in dem durch die anderen Lipide gebildeten Käfig und einer freien Diffusion, die oft unter dem Namen *laterale Diffusion* läuft. Die Überlagerung der Prozesse bildet die Basis für das Modell des freien Volumens, das wir weiter unten behandeln werden.
 5. Am langen Ende der Zeitskala findet schließlich die thermische Anregung von Biegefluktuationen statt, die man oft Membran-Flackern, oder engl. *flickern* nennt. Diesen Prozess werden wir bei der Behandlung der Membranelastizität ausführlich diskutieren.

10.5

Membranen als Flüssigkeiten zwischen zwei und drei Dimensionen

Eine alte, aber immer wieder studierte Frage ist, ob sich Membranen wie Flüssigkeiten oder eher wie amorphe Festkörper verhalten. Dies führte dazu, dass zahlreiche Methoden zur Messung der Diffusionskoeffizienten über kurze (< 10 nm) und lange Strecken (> 100 nm) entwickelt wurden. Systematische Messungen der Diffusion sind aber auch ein wichtiges Hilfsmittel, um Einblick in die molekulare Architektur und Dynamik der Lipidmatrix biologischer Membranen zu gewinnen. Fast alle Methoden beruhen auf der Analyse der Beweglichkeit von Reporter-molekülen, z. B. von Lipiden oder Proteinen, die fluoreszierenden Chromophoren tragen oder an deren Kopfgruppen Goldpartikel angekoppelt wurden. Man kann die Diffusion der Sonden in der Ebene der Membran auf mehrere Weisen beobachten und messen (s. Abb. 10.11):

Die klassische Methode ist das Photobleichen, das in der englischen Literatur *fluorescence recovery after photobleaching* (FRAP) genannt wird. Dazu bleicht man die Farbstoffe auf einem kreisförmigen Bereich von ca. 1 μ m Durchmesser mit einem Lichtblitz hoher Intensität aus und beobachtet die zeitlichen Erholung der Fluoreszenzintensität $F(t)$ aufgrund der Diffusion ungebleichter Reporter-moleküle in den gebleichten Bereich (Abb. 10.11a). Die quantitative Auswertung erfordert die Lösung der Diffusionsgleichung in zweidimensionalen (oft gekrümmten) Flächen. Dies ist ein schwieriges Problem, da die Differenzialgleichung in zwei Dimensionen keine analytischen stationären Lösungen besitzt [27]. Es ist ein altes Problem, das man aus der Wärmeleitungsgleichung kennt. Man kann

die Gleichungen jedoch numerisch lösen, wenn man das Profil des Bleichstrahls kennt, das Gauß-förmig oder rechteckig sein kann [27]. Die numerische Analyse der Fluoreszenz-Erholung liefern zwei wichtige Größen: die Halbwertszeit $t_{1/2}$ der Erholung und den Bruchteil R der Erholung. Aus $t_{1/2}$ erhält man einen Diffusionskoeffizienten D über die Gleichung $t_{1/2} \approx w^2/4D$, wobei w der Durchmesser des Bleichflecks ist. Der Wert von R liefert Information darüber, ob die Membran homogen fluide ist oder feste Domänen enthält, in denen (nach dem Bleichen) kein Austausch zwischen gebleichten und fluoreszierenden Sonden erfolgt. Im ersten Fall ist $R \sim 1$, während im zweiten R wesentlich kleiner werden kann. In Kombination mit Monte Carlo-Simulationen kann man aus Diffusionsmessungen auch Information über die Größe der Domänen erhalten [28].

Etwas aufwendiger ist die Methode der Partikelverfolgung, die schon Jean Baptiste Perrin zur Prüfung der Einstein-Beziehung in normalen Lösungen anwandte, was ihm den Nobelpreis einbrachte. Man markiert die Lipide oder Proteine mit Farbstoffen oder Nanopartikeln wie Quantendots oder Goldpartikeln von einigen nm Durchmesser. In den ersten beiden Fällen beobachtet man die Bewegung der Sonden im Fluoreszenzmikroskop und im letzteren Fall mit dem Ultramikroskop. Man misst das mittlere Verschiebungsquadrat $\langle |x(t) - x(0)|^2 \rangle$ einzelner Sonden als Funktion der Zeit [29, 30].

Auch hieraus kann man wichtige Information über die Organisation der Membranen erhalten. Gilt die Einstein-Beziehung

$$\langle |x(t) - x(0)|^2 \rangle = 2Dt \quad (10.10a)$$

so ist die Membran homogen aufgebaut. Folgt jedoch $\langle |x(t) - x(0)|^2 \rangle$ einem anderen Potenzgesetz:

$$\langle |x(t) - x(0)|^2 \rangle = 2Dt^\alpha \quad (10.10b)$$

mit $\alpha \neq 1$, so kann man daraus schließen, dass die Membran (für die beobachtete Sonde) heterogen aufgebaut ist. Eine solche Anwendung diskutieren wir in Kapitel 11. Ein anderes findet man in [29]. Bei der Diskussion der viskoelastischen Eigenschaften der Membranen werden wir sehen, dass Abweichungen von dem Einstein-Gesetz (10.10a) auch durch die Zeitabhängigkeit der Reibungskoeffizient verursacht werden können.

Zur Beobachtung der Diffusion über kurze Strecken (~ 10 nm) mittels Partikelverfolgung benötigt man sehr schnelle, hochempfindliche CCD-Kameras [30]. Einfacher ist es, diffusionsbestimmte bimolekulare Reaktionen auszunutzen. Eine einfache photophysikalische Methode beruht auf der Bildung von angeregten Komplexen (*Excimeren*) aromatischer Farbstoffe, insbesondere von Pyren [31]. Dabei handelt es sich um Dimere, die zwischen einem angeregten (P^*) und einem Molekül im Grundzustand (P)



gebildet werden. Die Reaktion ist diffusionsbestimmt und die Dimere zerfallen nach ca. 50 nsec unter Fluoreszenz-Emission. Da die angeregten Monomere und Dimere bei verschiedenen Wellenlängen ($\lambda_d \approx 480$ nm und $\lambda_m \approx 400$ nm)

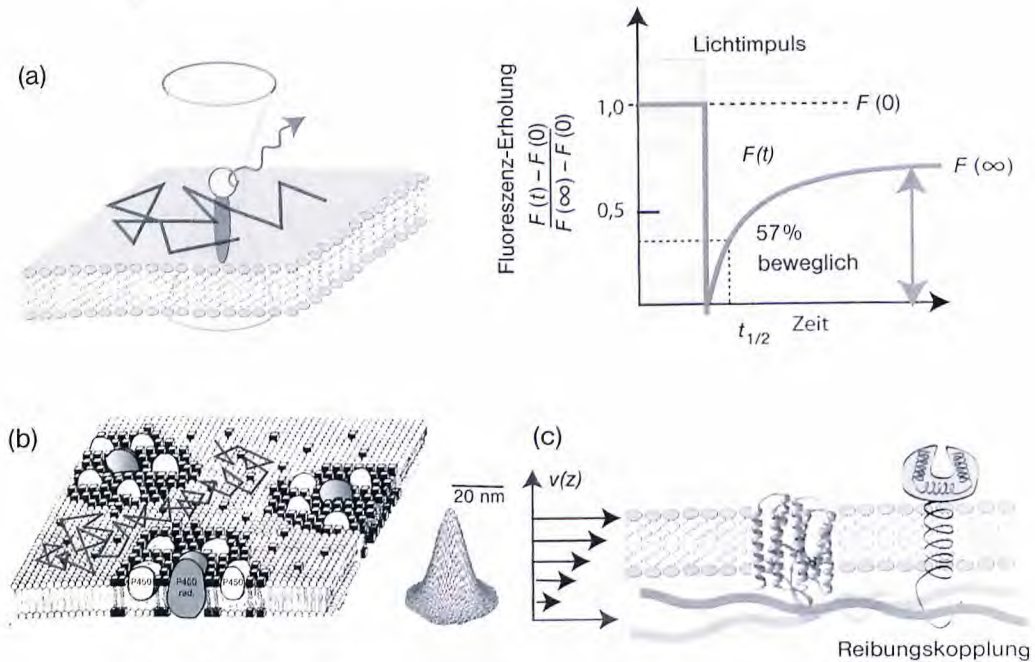


Abb. 10.11 (a) Linke Seite: Schematischer Aufbau der Photobleich- und FCS-Technik zur Messung von Diffusionskoeffizienten in Membranen. Die Lichtintensität in der Objektebene der Membran ist bei starker Fokussierung annähernd Gauß-verteilt. Rechts: Fluoreszenz-Erhholung nach Ausbleichen der Farbstoffsonden im Fokus (FRAP). Die Intensität zur Zeit $t = 0$ ist $F(0)$ und nach $t \gg \tau_{1/2}$ $F(\infty)$. (b) Beobachtung der durch Lipid-Protein-Domänen behinderten Diffusion durch direkte Beobachtung der Sondenbewegung. Der Einsatz (rechts) zeigt einen Schnappschuss der Verteilung der Fluoreszenz-

intensität $I(x,y)$, die mit einer auf -190°C gekühlten CCD-Kamera aufgenommen wurde. Die Verteilung $I(x,y)$ ist Gauß-artig, da sie durch die optische Transferfunktion der punktförmigen Lichtquelle bestimmt ist (s. Kapitel 37). Die Linienbreite ist durch die Varianz der Gauß-Verteilung bestimmt und beträgt $\pm 48 \mu\text{m}$, die Genauigkeit der Positionsbestimmung 30 nm (nach [29]). (c) Behinderung der Diffusion durch Reibung der Sonde mit einer Unterlage oder durch kurzfristige Bindung des beobachteten Proteins an Proteine des Zytoskeletts oder der Glykokalix (s. [37] und 10.6).

fluoreszieren, kann man das Verhältnis der Quantenausbeuten der beiden Spezies messen (s. Kapitel 31). Aus diesem Verhältnis erhält man durch Anwendung der Theorie der Diffusion auf zweidimensionalen Gittern (der Gitterkonstante a) die Sprunghäufigkeit ν_j der Moleküle [31]. Daraus ergibt sich der Diffusionskoeffizient gemäß $D \approx 1/4\nu_j a^2$.

Eine moderne und vielseitig einsetzbare Weiterentwicklung des Photobleichens ist die Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS). Der Aufbau des Fluoreszenzmikroskops ist im Wesentlichen derselbe wie beim Photobleichen. Man regt die Fluoreszenzsonden in einem möglichst kleinen Volumen ($V \sim 1 \mu\text{m}^3$) an und registriert das aus diesem in den Detektor emittierte Fluoreszenzlicht.

Die Zahl der Moleküle im Beobachtungsvolumen wird jedoch so klein gehalten, dass die Fluktuationen der beobachteten Intensität $I(t)$ möglichst groß sind. Wir werden im Abschnitt 10.7.3, zeigen, wie man aus der Korrelationsfunktion der Intensität $\langle I(t) I(0) \rangle$ den Diffusionskoeffizienten erhält und welche Beziehung zwischen den Methoden FCS und QENS besteht.

Zwei Methoden, die ohne störende Sonden auskommen, sind die NMR-Relaxationsspektroskopie [32] und die inkohärente quasielastische Neutronenbeugung (QENS). Beide Methoden erfordern allerdings orientierte Multischichten. Wie oben erwähnt, liefern sie dafür aber gleichzeitig Information über die Beweglichkeit der Ketten und Kopfgruppen.

10.6

Messung hydrodynamischer Radien und Reibungskoeffizienten von Membranproteinen

Eine wichtiges praktisches Ziel Einsteins bei der Entwicklung der Theorie der Brownschen Bewegung war die Suche nach einer Methode zur Messung hydrodynamischer Radien R_h von Molekülen sowie nach Zusammenhängen zwischen der atomistischen Struktur und den phänomenologischen Eigenschaften der Materie, wie der hydrodynamischen Reibung. Diese Parameter spielen auch eine zentrale Rolle für die Funktion biologischer Membranen. Messungen der translatorischen und rotatorischen Diffusion von Lipiden, Proteinen oder Pharmaka in künstlichen und biologischen Membranen sind ein wichtiges und ständiges Thema der Membranphysik. Um diese Parameter zu messen, müssen wir die theoretischen Grundlagen der Diffusion in 2D-Flüssigkeiten verstehen und uns fragen, ob die berühmte Stokes-Einstein-Beziehung ($D = k_B T / 6\pi\eta R_h$) auch hier gilt.

Tabelle 10.1 zeigt eine kleine Auswahl repräsentativer Koeffizienten der lateralen Diffusion D_{lat} von Lipiden, Proteinen und von Pyren, das wir als Beispiel eines hydrophoben Arzneimittels betrachten. Mehr Daten findet man in [28]. Der Hauptteil der Masse aller Proteine der Tabelle (mit Ausnahme des Glykophorins) steckt in der Membran. Würde das Stokes-Einstein-Gesetz gelten, könnte man erwarten, dass D_{lat} proportional zum Radius der hydrophoben Domäne ist. Dies ist keineswegs der Fall. Rhodopsin (mit $R = 2$ nm) diffundiert in Modellmembranen nur etwa zweimal langsamer als Phospholipide (mit $R \approx 0,5$ nm). Ähnliches gilt für das noch größere Bande III-Protein in Erythrozyten, das bei Körpertemperatur (37 °C) erstaunlicherweise fast so schnell diffundiert wie Phospholipide.

Es gibt drei (oft gleichzeitig vorliegende) Gründe für das oben diskutierte seltsame Verhalten der Diffusionskoeffizienten, die wir im Folgenden einzeln diskutieren werden.

Ein Grund ist, dass sich Membranen wie 2D-Flüssigkeiten verhalten. Die Diffusion eines membranständigen Proteins ist äquivalent zum Verhalten eines sehr langen Zylinders, der sich in einer Flüssigkeit senkrecht zur Längsachse mit der Geschwindigkeit u bewegt. Das vom Zylinder mit Radius R_h und vom dif-

Tabelle 10.1 Auswahl von Diffusionskoeffizienten D_{lat} hydrophober, amphiphiler Moleküle und von Membranproteinen in künstlichen und biologischen Membranen. Das Pyren ist ein Beispiel eines kleinen, hydrophoben Moleküls, wie Lokalanästhetika. R_h sind die Radien der hydrophoben Domänen der Lipide und Proteine. Für den Radius einer α -Helix wird 0,5 nm angenommen, (Daten nach [9, 28]). Abkürzungen: AC, Acetylcholin; Py-DS, Pyren-Decansäure; M, Monomer; T, Tetramer; Lec.: Lecithin.

Molekül	Radius (nm)	MG (kDa)	Lipid-Matrix	D_{lat} ($\mu\text{m}^2\text{sec}^{-1}$)
Pyren	----	0,2	DMPC (30 °C)	30
Pyren-DC*	----	0,4	DMPC (30 °C)	15
Pyren-PE*	0,5	0,88	DMPC (30 °C)	7
Phospholipid*	0,5	0,78	DMPC (35 °C)	4–7
Phospholipid	0,5	0,78	Erythrozyten (37 °C)	0,3–0,5
Glykophorin	0,5	50	DMPC (30 °C)	1,7
AC-Rezeptor (M)	1,5	50	Soya-Lec. (37 °C)	3,3
AC-Rezeptor (T)	6,0	200	Soya-Lec. (37 °C)	3,1
Rhodopsin	2,0	50	DMPC (35 °C)	3,0
Bande III***	3,3	470	Erythrozyt (37 °C)	0,2
Integrin-Rezeptor***	1,0		DMPC	0,6

* Messung mittels Exzimer-Technik.

*** Messung in festkörpergestützten Membranen.

fundierenden Teilchen in der Membran erzeugte Geschwindigkeitsfeld $v(x,y,z,t)$ fällt sehr langsam mit dem Abstand ab. Daher hat die Reibungskraft (pro Länge) die Form [33]:

$$f_R \sim \frac{4\pi\eta_m u}{\log\{R_h/R_0\}}$$

wobei u die Geschwindigkeit und R_0 eine Art Abschirmradius ist (s. Kapitel 22 und 25). Die analytische Berechnung von R_h/R_0 ist im Fall der Membranen sehr schwierig. Für die Situation freier Membranen (Dicke d_m) gilt nach [34] $R_h \approx \eta_m d_m / \eta_w$, wobei η_m und η_w die Viskosität des Wassers und der Membran (beide mit der Dimension $[\eta_m] = \text{N sec}/\text{m}^2$) sind. D_{lat} hat die Form:

$$D_{\text{lat}} = \frac{k_B T}{4\pi\eta_m} \ln \frac{\eta_m d_m}{\eta_w R_h} \quad (10.12)$$

Die geringe Abhängigkeit von D_{lat} vom Radius liegt also an diesem logarithmischen Gesetz. Man kann $\eta_m d_m$ auch als zweidimensionale Viskosität der Lipidmatrix auffassen.

Die Situation ändert sich ganz wesentlich, wenn die Teilchen einer zusätzlichen Reibungskraft unterliegen. Ein Beispiel ist die hydrodynamische Kopplung zwischen einer Membran und einer festen Wand, die für den Transport von Pro-

teinen in festkörpergestützter Membranen eine wichtige Rolle spielt [2]). Auch die Diffusion der Proteine in Plasmamembranen kann durch schwache chemische Bindungen der aus der Membran ragenden Domänen an die Glykokalix oder an das Zytoskelett behindert werden. Aufgrund der dynamischen Wechselwirkung zwischen den Proteinen und der Umgebung kommt eine zusätzliche Reibungskraft auf die Membran oder einzelne Proteine ins Spiel, von der wir nur annehmen, dass sie proportional zur Geschwindigkeit v ist.

Zur Vereinfachung betrachten wir hier nur den Fall einer starken Reibung zwischen einem Protein und einer Wand. Durch Reibungskopplung des Proteins (Radius R) mit der Wand (im Abstand H) wird eine Reibungskraft

$$f_R = \pi R^2 b_c u \tag{10.13}$$

eingeführt, wobei $b_c = \eta_c/H$ und η_c die Viskosität des Flüssigkeitsfilms zwischen Membran und Oberfläche ist. Man beachte, daß $\sigma_t = b_c u$ die zusätzliche tangentielle Spannung auf die Proteine ist. Der Diffusionskoeffizient wird daher im Fall sehr starker Reibung

$$D_{lat} = \frac{k_B T}{\pi b_c R^2} \tag{10.14}$$

Man sieht, dass bei starker Kopplung D_{lat} mit dem Quadrat des Proteinradius abnimmt. Das ist eine hilfreiche Gleichung, mit der man die Reibung zwischen Membranen und Grenzflächen messen oder Proteinradien bestimmen kann. Man kann den Diffusionskoeffizienten allgemein als Funktion eines normierten Radius

$$\zeta = R \sqrt{\frac{b_c}{\eta_m d_m}}$$

Die effektive Reibung durch molekulare Entbindungsprozesse

In vielen Fällen binden die aus der Membran ragenden Domänen der Membranproteine an das Zytoskelett oder an die Glykokalix, wobei die Bindung durch ein chemisches Gleichgewicht bestimmt ist. Auch in diesem Fall kann man das Gesetz der starken Reibung anwenden, wenn die Bindungen so schwach sind, dass ihre Lebensdauern mit den beobachtbaren Sprungzeiten vergleichbar sind. Nehmen wir an, das Protein in Abbildung 10.11c binde an das Zytoskelett und bewege sich unter der Wirkung einer externen Kraft F_{ex} mit der mittleren Geschwindigkeit v . Sind k_{on} und k_{off} Übergangswahrscheinlichkeiten der Bindung und Entbindung, so ist der Bruchteil der im Mittel gebundenen Proteine $\varrho_B = k_{on}/(k_{off} + k_{on})$. Die

Bindungen werden durch die Bewegung des Proteins wie eine Feder um Δx gestreckt und speichern die elastische Energie $w_{ela} = \frac{1}{2} K \Delta x^2$. Dann ist die Wahrscheinlichkeit $p(x)$, dass eine Bindung die Deformation Δx erreicht ehe sie entbindet, durch eine Poisson-Verteilung gegeben [36]

$$p(x) \sim (v/k_{off}) \exp(-x k_{off}/v)$$

Die dissipierte Energie pro Sekunde (in J/sec) ist

$$dG/dt = 1/2 \rho_B k_{off} K \Delta x^2 \sim \zeta_{eff} v^2$$

Wir können $\zeta_{eff} = \varrho_B K/k_{off}$ (Dimension J sec/m²) als einen effektiven Reibungskoeffizienten definieren und analog zu Gl. (12.13) schreiben $b_c = \zeta_{eff}/\pi R^2$.

ausdrücken. Bei $\varepsilon \ll 1$ gilt das Gesetz der schwachen Kopplung und damit die Saffman-Delbrück-Gleichung. Bei $\varepsilon \gg 1$ gilt die obige Gleichung der starken Kopplung. Eine Interpolationsformel zwischen den beiden Extremen findet man in [35].

Die dritte Ursache für das komplexe Verhalten der Diffusion, besonders in natürlichen Membranen, ist der mosaikartige Aufbau aus Domänen, in denen die Proteine unterschiedlich beweglich sind. Besteht die Membran aus fluiden und festen Bereichen, so sind die Experimente sehr schwierig zu analysieren. Eine Methode besteht in der Messung der Diffusionskoeffizienten als Funktion der Messzeit und dem Vergleich der experimentellen Daten mit Simulation der Diffusion mittels Monte Carlo-Methoden [28].

Das Freie-Volumen-Modell: die Beweglichkeit hängt von der Packungsdichte der Lipide ab

Die Temperaturabhängigkeit der Diffusionskoeffizienten zeigt Arrhenius-Verhalten: $D_{\text{lat}} = D_0 \exp\{-A^*/k_B T\}$. A wird oft als Aktivierungsenergie interpretiert. Die Brownsche Bewegung in Flüssigkeiten ist jedoch kein thermisch aktivierter Prozess wie in Festkörpern, sondern wird durch die Fluktuation der Packungsdichte ρ der Lipide und der damit zusammenhängenden Schaffung von freiem Volumen bestimmt. Wie Abbildung 10.10 zeigt, besteht der Diffusionsprozess aus sehr schnellen, statistischen Zitterbewegungen in dem durch die Umgebung geschaffenen Käfig mit Diffusionskoeffizienten von ca. 10^{-10} m²/sec und Sprüngen von der Größenordnung der Abstände zwischen den Lipiden. Weit reichende Sprünge der letzten Art sind jedoch nur möglich, falls der Durchmesser der durch thermische Dichtefluktuationen geschaffenen Lücke zwischen zwei Lipiden in der Membran größer wird als der van der Waals-Durchmesser des Moleküls. Nur dann kann das Molekül an eine andere Position in der Membran springen. Diese Idee des freien Volumenmodells wurde von Cohen und Turnbull für die Diffusion in Gläsern entwickelt und in auf Membranen übertragen [37], wobei statt des freien Volumens die freie Fläche A_f betrachtet wird [28, 31]. Eine statistische Betrachtung der Bildung freier Flächen liefert ein exponentielles Gesetz der Form:

$$D = D_0 \exp\{-gA^*/A_f\} \quad (10.15)$$

Dabei ist A^* die für einen Sprung benötigte minimale Fläche, $A_f = A(T) - A^*$ die mittlere freie Fläche pro Lipid und g ein geometrischer Faktor der Grösse 1. Da die mittlere Fläche (oder die Teilchendichte $\rho = A^{-1}$) aufgrund der thermischen Ausdehnung linear mit der Temperatur steigt, kann man schreiben:

$$D = D_0 \exp\left\{\frac{-gA^*}{A_0\alpha(T - T_m)}\right\} \quad (10.16)$$

Dabei ist α der thermische Ausdehnungskoeffizient, A_0 die Fläche pro Molekül im L_{β} -Zustand und T_m die $L_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$ -Umwandlungstemperatur. Das Arrhenius-Verhalten der Temperaturabhängigkeit von D ist also vor allem eine Folge der thermischen Ausdehnung. Das Modell wurde experimentell mittels QENS bestätigt [26] und hat sich zur Interpretation der Diffusion kleiner Moleküle und der Abhängigkeit von D von der Packungsdichte der Membranen als hilfreich erwiesen. So zeigen Diffusionsmessungen, dass Cholesterol die Packungsdichte der Membranen wesentlich erhöht. Eine ausführliche Ableitung des exponentiellen Gesetzes (10.15) würde hier zu weit führen. Der theoretisch interessierte Leser wird jedoch ermuntert, sich die besonders lehrreiche Ableitung des Gesetzes in der Originalarbeit von Cohen und Turnbull anzusehen [37].

10.7

Beobachtung der molekularen Dynamik durch quasielastische Neutronenstreuung (QENS) und Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS)

10.7.1

Die Verteilungsfunktionen molekularer Sonden bilden die gemeinsame Basis der Methoden

Zwei Methoden haben in den letzten Jahren neue Möglichkeiten zur quantitativen Analyse der molekularen Bewegung in Membranen eröffnet: Die Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS) [38, 42] und die inkohärente quasielastische Neutronenbeugung (QENS) [26, 41]. Beide Methoden beruhen auf derselben physikalischen Grundlage, die wir im Folgenden einführen möchten.

Wir betrachten dazu in einem Gedankenexperiment ein Ensemble von N Molekülen (fluoreszierende Reporter-moleküle oder Isotope), die in einem amorphen Material statistisch verteilt sind. Dabei kann es sich im Fall der FCS um fluoreszierende Moleküle handeln und im Fall der QENS um H-Atome. Wir können deren Verteilung und Bewegung durch eine Summe von δ -Funktionen darstellen, von denen jede ein Teilchen repräsentiert. Die Teilchendichte am Ort \mathbf{r} ist dann:

$$n(\mathbf{r}, t) = \sum_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i(t)) \quad (10.17)$$

Sie ist eine zeitlich und räumlich fluktuierende Funktion mit dem thermodynamischen Mittelwert $\langle n \rangle = N/V$ [39]. Der Vorteil dieser Definition wird verständlich, wenn wir bedenken, dass die δ -Funktion ein Maß für die Wahrscheinlichkeit ist, das Teilchen zur Zeit t am Ort \mathbf{r} zu finden.

Im Experiment können wir jedoch nur *Korrelationsfunktionen* solcher statistischer Funktionen bestimmen. Dabei müssen wir zwei Fälle unterscheiden, je nachdem ob wir zwei unterschiedliche Teilchen an zwei verschiedenen Orten zu verschiedenen Zeiten oder den Ort desselben Teilchens zu verschiedenen Zeiten betrachten [39, 41].

Im ersten Fall ist:

$$G^{\text{coh}}(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|, t) = \langle n(\mathbf{r}', 0) n(\mathbf{r}, t) \rangle - \langle n^2 \rangle = \left\langle \sum_{i,k} \delta(\mathbf{r}' - \mathbf{R}_i(0)) \cdot \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_k(t)) \right\rangle - \langle n^2 \rangle \quad (10.18)$$

wobei $\langle \dots \rangle$ die zeitliche Mittelung über alle thermodynamischen Zustände symbolisiert. Außerdem haben wir $\langle n^2 \rangle$ abgezogen, da wir nur an den Fluktuationen der Dichte interessiert sind. Wir haben auch eine Zeit null gesetzt, da die Funktion invariant gegen Zeitverschiebungen ist.

Die Funktion $G^{\text{coh}}(\mathbf{r} - \mathbf{r}' | , t)$ hat eine anschauliche Bedeutung. Sie ist ein Maß für die (bedingte) Wahrscheinlichkeit, das Teilchen i zur Zeit t am Ort \mathbf{r}' zu finden, wenn wir wissen, dass k zur Zeit $t = 0$ am Ort \mathbf{r} war. Man nennt sie *Dichte- oder Paar-Verteilungsfunktion*. Sie ist im thermodynamischen Gleichgewicht nur vom Abstand $|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|$ zwischen den zwei betrachteten Teilchen abhängig.

Im zweiten Fall betrachten wir dasselbe Teilchen, daher hat die Korrelationsfunktion die Form:

$$G^{\text{inc}}(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|, t) = \left\langle \sum_i \delta(\mathbf{r}' - \mathbf{R}_i(0)) \cdot \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i(t)) \right\rangle - \langle n^2 \rangle \quad (10.19)$$

Diese Funktion ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, das Teilchen i zur Zeit $t' = 0$ am Ort \mathbf{r} und zu $t' = t$ am Ort \mathbf{r}' zu finden. Man nennt sie daher Selbstkorrelationsfunktion.

An dieser Stelle sind noch zwei Bemerkungen wichtig:

- Man sollte sich noch Folgendes klar machen. $G_V^{\text{coh}}(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|, t)$ liefert Information über die kollektiven Bewegungen des Materials, da sie angibt, wie sich zwei Sonden relativ zueinander bewegen. $G_V^{\text{inc}}(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|, t)$ gibt die zeitliche Bewegung einzelner Sonden wieder. Im Fall der Neutronenbeugung zeigt sie beispielsweise, wie sich ein Proton der Lipidmoleküle bewegt. Die Bedeutung der oberen Indizes wird gleich klar werden.
- Die statische Struktur der Materialien wird durch die statische Dichte-Korrelationsfunktion bestimmt. Diese werden durch ganz analoge, aber zeitunabhängige Funktionen dargestellt. Da wir aber an der Dynamik interessiert sind, betrachten wir diesen Fall nicht weiter.

Eine gute Darstellung der Verteilungsfunktionen findet man in der Monografie von H. E. Stanley [39].

Wir betrachten nun die Anwendung der Methode. Dabei beginnen wir mit der QENS-Technik, da man an dieser den Zusammenhang zwischen der am Detektor registrierten Messgröße und der kohärenten bzw. inkohärenten Verteilungsfunktion am einfachsten verstehen kann. Wir beschreiben dann die FCS-Technik anhand eines wichtigen Beispiels aus der Membranphysik.

10.7.2

Quasielastische Neutronenbeugung

Betrachten wir zunächst die Anwendung des Konzepts der Dichte-Korrelationsfunktionen auf die Untersuchung der molekularen Bewegungsprozesse mittels dynamischer Neutronenbeugung (oder Lichtstreuung). Wie Physiker und viele andere Naturwissenschaftler im Laufe ihres Studiums mehrfach lernen, ist die gestreute Intensität einer einfallenden Licht- oder Teilchenwelle proportional zur Fourier-Transformierten der Korrelationsfunktion der Dichteschwankungen des Materials. Dabei ist $n(\mathbf{r}, t)$ im verallgemeinerten Sinne die Dichte der streuenden Zentren, von denen die Elementarwellen ausgehen, die interferieren und im Detektor registriert werden. Die gesamte Intensität besteht aus dem (durch die Streuung abgeschwächten) Primärstrahl und den durch die Streuung erzeugten Seitenbanden. Dabei ist ersterer durch die Fourier-Transformierte der mittleren Dichte $\langle n^2 \rangle$ in Gleichung (10.19) bestimmt. Bei den Streuzentren handelt es sich im Fall der Neutronenbeugung um Kerne und im Fall der Lichtstreuung um Volumina ΔV (mit Durchmessern klein gegen die Wellenlänge λ) (Abb. 10.12).

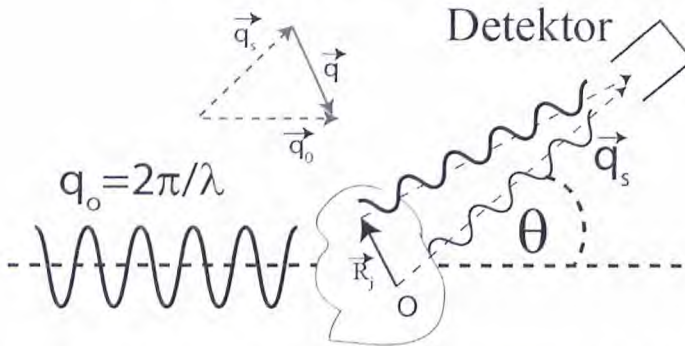


Abb. 10.12 Geometrische Darstellung des Verlaufs der einfallenden Welle mit dem Wellenvektor \mathbf{q}_0 und zweier gestreuter Wellen mit Wellenvektoren \mathbf{q}_s . O ist ein willkürlich gewählter Ursprung. Der Streuwinkel Θ ist durch die Differenz der Wellenvektoren der einfallenden und der gestreuten Welle wie folgt

bestimmt: $|\mathbf{q}| = 2\pi/\lambda \sin^2\theta/2$, wobei $\mathbf{q} = \mathbf{q}_0 - \mathbf{q}_s$ in der Abbildung definiert ist. Im Fall der kohärenten Streuung analysiert man die Intensität der durch Interferenz der beiden Teilwellen gebildeten Amplitude. Im Fall der inkohärenten Streuung analysiert man die Intensität jeder Teilwelle.

Die Grundlagen der Streuung an amorphen Materialien und Kernen wurden von Einstein, Debye und Born gelegt. Wir gehen hier von der berühmten Bornschen Näherung aus, ohne diese abzuleiten. Sie besagt, dass die gestreute Amplitude $A(\mathbf{q})$ in Richtung θ durch die Überlagerung aller Elementarwellen, die von den N Zentren aus dem Streuvolumen V ausgehen, bestimmt ist:

$$A(q,t) = \frac{1}{N} \sum_n \sigma \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i(t)) \exp\{i\mathbf{q}\mathbf{r}\} \quad (10.20)$$

wobei σ die Amplitude der gestreuten Elementarwelle und \mathbf{q} der in Abbildung 10.12 definierte Streuvektor ist. Jedes Streuzentrum verhält sich dabei wie ein Dipolstrahler.

Wir betrachten zunächst die Neutronenbeugung, konzentrieren uns aber auf die *inkohärente Streuung*. Nur für diese gilt die Analogie zwischen FCS und QENS als verwandte Methoden, mit denen die molekulare Beweglichkeit einzelner Moleküle detailliert beobachtet werden kann. Die QENS beruht auf zwei Besonderheiten der Neutronenwellen:

1. Neutronen wechselwirken mit Kernen der Materie durch Kernkräfte extrem kurzer Reichweite. Die von den Kernen gestreute Amplitude σ_i ist proportional zu der für jeden Kern charakteristischen *Neutronen-Streulänge* b (gemessen in barn $\approx 10^{-14}$ m). Da die Reichweite der Neutron-Kernwechselwirkung extrem kurz ist, wird die Amplitude der gestreuten Elementarwelle proportional zu $\sigma_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i)$. Man hat es also mit einer wirklich punktförmigen Sonde zu tun.
2. Da zwischen Neutronen und den streuenden Kernen jedoch auch Spin-Spin-Wechselwirkungen bestehen, kann die gestreute Welle durch Spin-Umklappprozesse ihr Phasengedächtnis verlieren. Dadurch geht die Kohärenz und damit die Interferenz der (aus verschiedenen Bereichen der Probe) gestreuten

In der quasielastischen Neutronenbeugung betrachtet man in der Regel den differenziellen Wirkungsquerschnitt

$$W(\Omega, \omega, \mathbf{q}) = d^2\sigma/d\omega d\Omega \quad (10.21)$$

der angibt, welcher Anteil der auf die Probe

fallenden Neutronen in den (vom Detektor erfassten) Winkelbereich $d\Omega$ und Frequenzbereich $d\omega$ gestreut wird. Er liefert die uns interessierende Information über die Änderung der Energie, die das Neutron beim Streuprozess erleidet.

Teilwellen verloren. Besonders effektiv sind diese Prozesse bei der Streuung der Neutronen an Kernen mit $\text{spin } 1/2$.

Da nur ein Teil der gestreuten Neutronen inkohärent gestreut wird, setzt sich der Wirkungsquerschnitt aus einem kohärenten und einem inkohärenten Anteil zusammen. Wir sind hier aber nur an dem inkohärenten Anteil interessiert, der Information über die Bewegung einzelner Kerne liefert. Er ist proportional zur Fourier-Transformierten der Streuintensität.

$$W^{\text{inc}}(\Omega, \omega, \mathbf{q}) = \sigma_{\text{inc}} \int_{-\infty}^{+\infty} I_{\text{inc}}(\mathbf{q}, t) \exp\{-i\omega t\} dt$$

wobei σ_{inc} der Streuquerschnitt des streuenden Isotops ist. Die meisten Instrumente basieren auf Messungen der Flugzeit der Neutronen, und die Detektoren registrieren die Intensitäten als Funktion des Streuvektors \mathbf{q} . Diese ist durch die Konvolution der Amplituden $A(\mathbf{q}, t)$ in Gleichung (10.20) bestimmt.

$$I_{\text{inc}}(\mathbf{q}, t) = \frac{1}{N} \sum_i \langle \exp\{i\mathbf{q}\mathbf{R}_i(t)\} \exp\{-i\mathbf{q}\mathbf{R}_j(0)\} \rangle \quad (10.22)$$

Man bezeichnet $I_{\text{inc}}(\mathbf{q}, t)$ oft als intermediäre Streufunktion, da sie das primäre Messergebnis darstellt, aus dem die uns vertrautere Streufunktion im Frequenzraum $I(\mathbf{q}, \omega)$ gewonnen wird.

Wir müssen nun im letzten Schritt den Zusammenhang zwischen $I(\mathbf{q}, t)$ und der raum-zeitlichen Selbstkorrelationsfunktion suchen. Dazu betrachten wir die Fourier-Transformierte $FT\{I(\mathbf{q}, t)\}$ der Streuintensität:

$$G(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{(2\pi)^3} \iiint d\mathbf{q}^3 I(\mathbf{q}, t) \exp\{-i\mathbf{q}\mathbf{r}\} \quad (10.23)$$

Man kann nun unter Berücksichtigung der Definition der δ -Funktion

$$\delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i(t)) = \iiint d\mathbf{q}^3 \exp[i\mathbf{q}\{\mathbf{r} - \mathbf{R}_j(t)\}]$$

mit einiger Mühe zeigen, dass $G(\mathbf{r}, t)$ bis auf einen Normierungsfaktor N mit der Fourier-Transformierten der Selbstkorrelationsfunktion identisch ist.

$$I(\mathbf{q}, t) = \iiint d\mathbf{r}^3 G(\mathbf{r}, t) \exp[-i\mathbf{q}\mathbf{r}] \quad (10.24)$$

Dies ist das zentrale Ergebnis der Theorie der Neutronenstreuung von L. van Hove [40].

Die inkohärente Streuung hat den großen Vorteil, dass wir die Selbstkorrelationsfunktion $G^{\text{inc}}(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|, t)$ direkt messen können. Sie ist also eine optimale Methode zur Messung der Bewegung einzelner Moleküle (wie deren Diffusion) oder von Molekülgruppen (wie den *trans-gauche*-Übergängen der Lipidketten). Dies geht mit keiner der anderen Streumethoden.

Da die Frequenz der an einem sich bewegendem Atom gestreuten Welle aufgrund des Dopplereffekts geändert wird, wird auch die Wellenlänge (oder der Streuvektor) leicht modifiziert.

Der entscheidende Vorteil der Neutronenbeugung ist das unterschiedliche Streuverhalten von Protonen (H) und Deuteronen (D). H streut vorwiegend inkohärent und D kohärent (s. Übungsaufgabe 10.8). Man kann außerdem durch Mischung von H_2O und D_2O den Kontrast so anpassen, dass man nur die Protonen oder nur Deuteronen beobachtet. Auf diese Weise lassen sich spezifische Bewegungsvorgänge (wie die lokale Beweglichkeit von Molekülen oder Seitengruppen) oder kollektive Bewegungen (wie Biegefluktuationen der Membranen) selektiv beobachten. Fast alle der in Abbildung 10.10 dargestellten dynamischen Prozesse wurden mittels inkohärenter QENS gemessen. Nur zur Messung der Biegefluktuationen muss man die kohärente Streuung einsetzen.

Kehren wir wieder zur Praxis zurück, in der man der Anschaulichkeit wegen das Frequenzspektrum der intermediären Streufunktion betrachtet. Sie besteht aus einem nicht verbreiterten und einem durch den Dopplereffekt verbreiterten Anteil.

$$I^{\text{inc}}(\mathbf{q}, \omega) = I_{\text{ela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q}) + I_{\text{inela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q}, \omega) \quad (10.25)$$

Letzterer ist durch die statische Dichteverteilung bestimmt. Man nennt ihn daher elastischen Anteil.

Aus der Linienbreite von $I_{\text{inela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q}, \omega)$ erhält man nun die Korrelationszeiten der Bewegung und aus $I_{\text{ela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q})$ deren Amplituden. Ist z. B. die Diffusion der Lipide in der Ebene der Membran frei, so wird $I_{\text{ela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q})$ null. Ist sie eingeschränkt (wie bei der Brownschen Bewegung eines Teilchens in einem Käfig oder einem harmonischen Potenzial) so hat $I_{\text{ela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q})$ einen endlichen Wert. Der Grund dafür liegt an der endlichen Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Sonden an der Wand des Käfigs. Man kann daher durch Messung von $I_{\text{ela}}^{\text{inc}}(\mathbf{q})$ lernen, wie weit sich Moleküle bewegen können, und erhält so zusätzliche wichtige Information über die molekulare Struktur des Materials.

Die QENS hat noch zwei weitere Vorteile. Durch Wahl des Instruments lassen sich spezifische Zeitfenster der Bewegung (zwischen ca. 10^{-7} und 10^{-12} sec) herausfiltern. Durch gezielte Orientierung der Proben relativ zum Streuvektor lassen sich Bewegungsrichtungen (z. B. senkrecht und parallel zur Membranebene) trennen. Eine genaue Analyse der Daten erfordert jedoch die Anwendung von Modellen und den Vergleich berechneter und gemessener Streuintensitäten. Dazu gibt es zahlreiche Programme.

Ein Nachteil der Neutronenbeugung ist die geringe Streustärke, weshalb man für dynamische Experimente immer noch einige 100 μg an Substanz benötigt. Zur Untersuchung der Dynamik von Membranen benötigt man Multischichten. Dieses Problem kann man hoffentlich in Zukunft durch Spallationsquellen und Methoden der Neutronenreflektivität an festkörpergestützten Membranen lösen.

Wir betrachten nun als einfaches Beispiel die Messung der Diffusionskoeffizienten für den Fall einer freien Diffusion in Lösung. Die Messung des Diffusionskoeffizienten beruht auf der Analyse lokaler zeitlicher Fluktuationen der Konzentration $\delta c(\mathbf{r}, t)$. Diese zerfallen aufgrund der Diffusion und ihre zeitliche Evolution ist durch die Diffusionsgleichung bestimmt.

$$\frac{\partial \delta c(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = D \cdot \nabla^2 \delta c(\mathbf{r}, t) \quad (10.26)$$

Durch Fourier-Transformation von $\delta c(\mathbf{r}, t)$

$$\delta c(\mathbf{q}, t) = \frac{1}{\sqrt{(2\pi)^3}} \int_V \delta c(\mathbf{r}, t) \cdot \exp[-i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}] d^3\mathbf{r}$$

erhält man die leicht lösbare Differenzialgleichung

$$\frac{\partial \delta c(\mathbf{q}, t)}{\partial t} = -\mathbf{q}^2 \cdot D \delta c(\mathbf{q}, t)$$

wie man leicht nachvollziehen kann. Die Lösung der Differenzialgleichung ist $\delta c(\mathbf{q}, t) = \text{konst} \exp[-i\mathbf{q}^2 \cdot Dt]$ und man erhält daher für die Intensität als Funktion der Zeit oder Frequenz:

$$I_{\text{inc}}(\mathbf{q}, t) = C \cdot \exp[-\mathbf{q}^2 \cdot Dt] \text{ oder } S_{\text{inc}}(\mathbf{q}, \omega) = \frac{2C}{\pi} \frac{D\mathbf{q}^2}{\omega^2 + (D\mathbf{q}^2)^2} \quad (10.27)$$

$S_{\text{inc}}(\mathbf{q}, \omega)$ hat die Form einer Lorentz-Kurve, und man erhält den Diffusionskoeffizienten direkt aus der Linienbreite der Streukurve. Durch geeignete Orientierung der Membran bezüglich der einfallenden Neutronenwelle kann man D in verschiedenen Richtungen Θ der Membrannormalen messen.

10.7.3

Fluoreszenzkorrelations-Spektroskopie FCS

In diesem Experiment geht man wie bei der in Abbildung 10.11 gezeigten Methode der Partikelverfolgung zur Messung der Diffusion in Membranen vor. Man regt durch einen fokussierten Laserstrahl in einem sehr kleinen Volumen die Fluoreszenz der in dem Material verteilten Farbstoffe an und beobachtet die Fluktuation der Intensität des aus diesem Volumen in einen Winkelbereich zwischen θ und $\theta + \delta\theta$ emittierten Fluoreszenzlichts. Diese ist durch die Zahl N der fluoreszierenden Moleküle in dem belichteten Bereich bestimmt. Da das Volumen sehr klein ist, fluktuiert die Zahl N der Sonden in dem Beobachtungs-

volumen und man beobachtet das in Abb. 10.12 gezeigte Blinken. Da der Zerfall der Fluktuation δN der Teilchenzahl in Lösungen durch die Diffusionsgleichung bestimmt ist, liefert die Messung der Korrelationsfunktion der am Detektor registrierten fluktuierenden Intensität den Diffusionskoeffizienten der Sonden (zur Fluktuation der Teilchenzahl siehe Aufgabe 10.9) Obwohl die Idee schon rund 40 Jahre alt ist, konnte sie erst mit der Entwicklung der konfokalen Mikroskopie praktisch eingesetzt werden.

Die FCS beruht auf demselben Prinzip wie die inkohärente QENS [41]. Die Fluoreszenz ist ein inkohärenter Prozess, d. h. zwischen den emittierten Lichtwellen besteht keine Phasenbeziehung. Daher registriert man im Detektor die Intensität, die durch die Summe aller in dem Winkel θ ausgesandten Photonen bestimmt ist.

$$I(t) = F(\mathbf{r}) \sum_i a_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{R}_i)_r \quad (10.28)$$

Die Summe erstreckt sich über alle im Anregungsvolumen befindlichen Sonden. Dabei ist $F(r)$ eine Filterfunktion die angibt, welcher Bruchteil des emittierten Lichts am Detektor ankommt. Sie ist radialsymmetrisch bezüglich der optischen Achse, und r ist der Abstand von der optischen Achse. $F(r)$ hängt von vielen Parametern und dem experimentellen Aufbau ab. Man bestimmt daher $F(r)$ in der Regel empirisch [38], beispielsweise durch Messung der Diffusionskoeffizienten der Sonden in einer Lösung bekannter Viskosität.

Im Detektor registriert man die Fluktuation $\delta I(t)$ des Stromes (Abb. 10.13) und bestimmt dessen Korrelationsfunktion. Diese ist direkt proportional zur Korrelationsfunktion des Fluoreszenzlichts:

$$K_F(\tau) = \langle \delta I(t) \delta I(t + \tau) \rangle \quad (10.29)$$

Mit der bei der Ableitung des inkohärenten Streufaktors der QENS diskutierten Idee und der Definition der δ -Funktion als Fourier-Integral Gl (23b) lässt sich mit etwas Rechenaufwand zeigen, dass die Korrelationsfunktion der Fluoreszenz $K_F(t)$ durch das folgende Integral über die \mathbf{q} -Vektoren bestimmt ist:

$$K_F(\tau) = C \int d\mathbf{q} F(\mathbf{q}) F(-\mathbf{q}) I_{inc}(\mathbf{q}, \tau) \quad (10.30)$$

Die Funktion $I_{inc}(\mathbf{q}, t)$ ist wieder die Fourier-Transformierte der Selbstkorrelationsfunktion. Der wesentliche Unterschied gegenüber dem oben betrachteten Fall der Streuung ist, dass nun die Fourier-Transformierte der Filterfunktion $F(r)$ berücksichtigt wurde. Dabei ist r der Radius des zylinderförmig belichteten Bereichs.

Als einfachstes Beispiel betrachten wir wieder die Bestimmung der Diffusionskoeffizienten. Wir nehmen an, dass die angeregten Farbstoffsonden keine chemischen Reaktionen eingehen (wie Übergänge in Triplettzustände oder photochemische Reaktionen). Die Lichtintensität des Anregungslichts bei der konfokalen Mikroskopie zeigt mit guter Näherung eine Gauß-Verteilung, d. h. $F(r)$ ist von der Form $F(r) \sim \exp\{-2r^2/w^2\}$. Dabei ist w ein Maß für den Radius des zylinderförmigen belichteten Volumens.

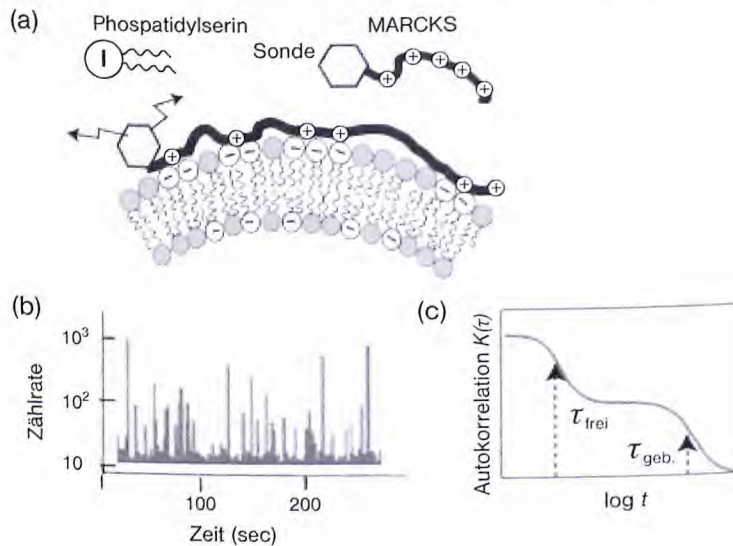


Abb. 10.13 Analyse der Protein-Membran-Bindung durch FCS. (a) Illustration der Proteinbindung. (b) Zeitliche Folge der in den Detektor gelangenden Lichtblitze. Die Dichte der Impulse ist ein Maß für die Zahl der registrierten Photonen und entspricht aller zur

Zeit t durch den Fokus diffundierenden Teilchen. (c) Simulation der Autokorrelationsfunktion der Fluoreszenz unter der Annahme, dass die Beweglichkeit der Sonde im gebundenen Zustand viel langsamer ist als im freien.

Wie im Fall der QENS diffundierender Sonden erwartet man, dass die Korrelationsfunktion die Form einer Lorentz-Linie besitzt. Eine längere Rechnung liefert das folgende Gesetz [41]:

$$K_f(\tau) = 1 + C' \frac{1}{1 + \frac{4D\tau}{w^2}} \quad (10.31)$$

Man beachte, dass $4D/w^2$ die Zeit ist, die ein Teilchen benötigt, um durch den Fokus zu laufen. Sie entspricht der Zerfallszeit einer Konzentrationsfluktuation der Wellenlänge $\Lambda = 2\pi/q$ in Gleichung (10.28). Finden mehrere dynamische Prozesse statt, wie Singulett→Triplet-Übergänge (s. Kapitel 31) oder Reaktionen zwischen den Reportermolekülen, so ist die Situation viel komplizierter. Der Leser wird hier auf die Spezialliteratur verwiesen [38, 42].

Wir betrachten zum Abschluss die Untersuchung der elektrostatischen Wechselwirkung von Proteinen mit partiell negativ geladenen Membranen als eine biophysikalische Anwendung. In dem Experiment [42] wurde die Bindung des basischen Proteins MARCKS an Membranen mit negativ geladenen Lipiden untersucht. Es handelt sich um eine wichtige biologische Fragestellung. MARCKS ist ein Protein, welches das Zytoskelettprotein Aktin bindet, und seine Kopplung an die Zelloberfläche vermittelt. Durch Anknüpfung von negativ geladenen Phosphat-

gruppen (durch Phosphorylierung) kann es von einem bindenden in einen nicht-bindenden Zustand umgeschaltet werden. In dem Experiment nutzt man aus, dass die Diffusion der Sonde im gebundenen Zustand sehr viel langsamer ist als im freien Zustand. Das FC-Spektrum besteht daher aus zwei Stufen, von denen jede durch eine Gleichung der Form (10.31) bestimmt ist. Aus dem Verhältnis der Höhen der Stufen $A_{\text{frei}}/A_{\text{gebunden}}$ kann man die Gleichgewichtskonstanten und die freie Energie der Bindung des Proteins bestimmen (siehe auch Aufgabe 10.10).

10.8

Literatur

- 1 Seddom, J.M., Templer, R.H. (1995) Polymorphism of lipid water systems, in Handbook of Biological Physics, Vol 1. (Ed. R. Lipowsky und E. Sackmann) Elsevier, Amsterdam.
- 2 Tanaka, M., Sackmann, E. (2005) Polymer-supported membranes as models of the cell surface. *Nature*, **437**, 656-663.
- 3 Tanford, C. (1980) The hydrophobic effect, Wiley, New York.
- 4 Evans, E.A., Ludwig, F. (1999) Dynamic strength of molecular anchoring and material cohesion in fluid biomembranes. *Journal of Physics: Condensed Matter*, **12**, A315-A320
- 5 Israelachvili, J.N. (1991) Intermolecular and surface forces: with applications to colloidal and biological systems. 2nd ed., Academic Pr Inc. London
- 6 Sackmann E. (2006) Thermo-elasticity and adhesion as regulators of cell membrane architecture and function. *Journal of Physics: Condensed Matter*, **18**, R785-R825.
- 7 Tardieu, A., Luzzati, V., Reman, F.C. (1973). Structure and polymorphism of the hydrocarbon chains of lipids: a study of lecithin-water phases. *J. Mol. Biol.*, **75**, 711-733.
- 8 Büldt, G., Gally, H.U., Seelig, J., Zaccai, G. (1979) Neutron diffraction studies on phosphatidylcholine model membranes. I. Head group conformation. *J. Mol. Biol.*, **134**, 673-691.
- 9 Sackmann, E. (1995) Biological membranes, architecture and function, in Handbook of Biological Physics, Vol. I (Ed. R. Lipowsky und E. Sackmann). Elsevier, Amsterdam.
- 10 Seelig, J. (1977) Deuterium magnetic resonance: theory and application to lipid membranes. *Q. Rev. Biophys.*, **10**, 353-418.
- 11 Mouritsen, O.G., Bloom, M. (1984) Mattress model of lipid-protein interactions in membranes. *Biophys J.*, **46**, 141-153.
- 12 Mantsch, H.H., McElhaney, R.N. (1991) Phospholipid phase transitions in model and biological membranes as studied by infrared spectroscopy. *Chemistry and Physics of Lipids*, **57**, 213-226.
- 13 Sackmann, E. (1982) in Biophysik Kapitel 12. (Ed. W. Hoppe et al.) Springer Verlag Berlin, New York, Basel
- 14 Möhwald, H. (1996) Phospholipid monolayers, in Handbook of Biological Physics, Elsevier, Amsterdam.
- 15 Evans, E., Needham, D. (1996) Physical properties of surfactant bilayer membranes: thermal transitions, elasticity, rigidity, cohesion and colloidal interactions. *Journal of Physical Chemistry*, **91**, 4219-4228.
- 16 Jähnig, F. (1976). Electrostatic free energy and shift of the phase transition for charged lipid membranes. *Biophys. Chem.*, **4**, 309-318.
- 17 Hiemenz, P.C., Rajagopalan, R. (1997) Principles of colloid and surface chemistry. Revised, Expand. Marcel Dekker Inc. New York, Basel
- 18 Träuble, H. (1971) The movement of molecules across lipid membranes: A molecular theory. *Journal of Membrane Biology*, **4**, 193-208.
- 19 Ipsen, J.H., Mouritsen, O.G., Bloom, M. (1990). Relationships between lipid membrane area, hydrophobic thickness, and acyl-chain orientational order. *The effects of cholesterol. Biophys. J.*, **57**, 405-412.
- 20 Ben Shaul, A. (1995) Molecular theory of chain packing elasticity and lipid-protein interaction in lipid bilayers, in Handbook of Biological Physics, Vol 1. (Ed. R. Lipowsky und E. Sackmann, Elsevier, Amsterdam.
- 21 Bloom, M., Evans, E., Mouritsen, O.G. (1991) Physical properties of the fluid lipid-bilayer component of cell membranes: a perspective. *Q. Rev. Biophys.*, **24**, 293-397.
- 22 Gliss, C., Randel, O., Casalta, H., Sackmann, E., Zorn, R., Bayerl, T. (1999) Anisotropic motion of cholesterol in oriented DPPC bilayers studied by quasielastic neutron scattering: the liquid-ordered phase. *Biophys J.*, **77**, 331-340.
- 23 Saiz, L., Klein, M.L. (2002) Computer simulation studies of model biological membranes. *Accounts of chemical research*, **35**, 482.

- 24 Nagle, J.F., Zhang, R., Tristram-Nagle, S., Sun, W., Petrache, H.I., Suter, R.M. (1996) X-ray structure determination of fully hydrated L alpha phase dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers. *Biophys J.*, **70**, 1419–1431.
- 25 Heller H, Schaefer M, Schulten K. 1993. Molecular dynamics simulation of a bilayer of 200 lipids in the gel and in the liquid crystal phase. *The Journal of Physical Chemistry*, **97**: 8343–8360.
- 26 König, S., Pfeiffer, W., Bayerl, T., Richter, D., Sackmann, E. (1992) Molecular dynamics of lipid bilayers studied by incoherent quasi-elastic neutron scattering. *Journal de Physique*, **2**, 1589–1615.
- 27 Axelrod, D., Koppel, D.E., Schlessinger, J., Elson, E., Webb, W.W. (1976). Mobility measurement by analysis of fluorescence photobleaching recovery kinetics. *Biophys J.*, **16**, 1055–1069.
- 28 Almeida, P.F.F., Vaz, W.L.C. (1996) Lateral Diffusion in Membranes, in Handbook of Biological Physics Vol 1. (Ed. R. Lipowsky und E. Sackmann), Elsevier Amsterdam.
- 29 Schütz, G.J., Kada, G., Pastushenko, V.P., Schindler, H. (2000) Properties of lipid microdomains in a muscle cell membrane visualized by single molecule microscopy. *EMBO J*, **19**, 892-901.
- 30 Tomishige, M., Kusumi, A. (1999) Compartmentalization of the erythrocyte membrane by the membrane skeleton: intercompartmental hop diffusion of band 3. *Mol Biol Cell.*, **10**, 2475–2479.
- 31 Galla, H.J., Hartmann, W., Theilen, U., Sackmann, E. (1979) On two-dimensional passive random walk in lipid bilayers and fluid pathways in biomembranes. *J. Membr. Biol.*, **48**, 215–236.]
- 32 Köchy, T., Bayerl, T. (1993). Lateral diffusion coefficients of phospholipids in spherical bilayers on a solid support measured by ²H-nuclear-magnetic-resonance relaxation. *Physical Review E*, **47**: 2109-2116.
- 33 Landau, L.D., Lifschitz, E.M. (1991) Lehrbuch der theoretischen Physik, Bd. 6, 7th ed. Deutsch (Harri). Akademie Verlag Berlin
- 34 Saffman, P. G., Delbrück, M. (1975) Brownian motion in biological membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **72**, 3111-3113.
- 35 Evans, E., Sackmann, E. (1988) Translational and rotational drag coefficients for a disk moving in a liquid membrane associated with a rigid substrate. *Journal of Fluid Mechanics Digital Archive*, **194**, 553-561.
- 36 Tawada, K., Sekimoto, K. (1991) Protein friction exerted by motor enzymes through a weak-binding interaction. *J. Theor. Biol.*, **50**, 193-200.
- 37 Cohen, D., Turnbull, M.H. (1961) Free-Volume Model of the Amorphous Phase: Glass Transition. *J. Chem. Phys.*, **34**, 120-125.
- 38 Medina, A., Schwille, P. (2002) Fluorescence correlation spectroscopy for the detection and study of single molecules in biology. *BioEssays*, **24**, 758-764.
- 39 Stanley, H. (1971) Introduction to Phase Transitions and Critical Phenomena. Oxf.U.P.
- 40 Van Hove, L. (1954) Temperature Variation of the Magnetic Inelastic Scattering of Slow Neutrons. *Phys. Rev.*, **93**, 268-269.
- 41 Bee, M. (1988) Quasielastic Neutron Scattering: Principles and Applications in Solid State Chemistry, Biology and Material Science: Adam Hilger Bristol.
- 42 Rika, J., Binkert, Th. (1989) Direct measurement of a distinct correlation function by fluorescence cross correlation. *Phys. Rev. A*, **39**, 2646-2652.
- 43 Rusu, L. *et al.* (2004) Fluorescence correlation spectroscopy studies of peptide and protein binding to phospholipid vesicles. *Biophys J.*, **87**, 1044-1053

11

Membranen als semiflexible elastische Schalen

11.1

Einführung in die Grundlagen der Elastizität weicher Schalen

In der Natur sind gekrümmte Platten und Schalen allgegenwärtig und umfassen eine enorme Bandbreite der Deformierbarkeit. Einige Beispiele, wie die sehr harten Schalen der Muscheln oder die weichen Hüllen eukaryontischer Zellen, haben wir schon kennen gelernt. Andere, wie die Bakterienwände und die Kapseln der Viren, werden wir noch besprechen. Die Young-Module biologischer Schalen reichen von wenigen 100 Pascal (wie die Schale der Erythrozyten) bis 1 MPa (Schalen der Makadamia-Nüsse). Offenbar spielte die Biosynthese von Schalen, deren Elastizität an die biologische Funktion angepasst ist, im Verlauf der biologischen Evolution eine wichtige Rolle. Das Studium der kontinuumsmechanischen Eigenschaften und der mechanischen Stabilität von Schalen und Platten ist daher nicht nur für Ingenieure von zentraler Bedeutung, sondern auch eine wichtige Aufgabe der Biomaterialforschung. Es hilft uns, Einblicke in die Konstruktionsprinzipien der Natur zu gewinnen und kann den Ingenieuren Anregungen zur Entwicklung neuer Konzepte des Leichtbaus geben. Es handelt sich aber auch um ein sehr interessantes Gebiet der Physik, auf dem noch viel Neuland zu entdecken ist.

Die Theorie elastischer Platten und Schalen gilt als eines der schwierigsten Kapitel der Kontinuumsmechanik und die Berechnung der Deformationen als Funktion äußerer Kräfte ist nur für wenige Spezialfälle analytisch möglich. Wir wollen nur wenige, für die Zellbiologie wichtige Beispiele diskutieren und versuchen an diesen die wesentlichen physikalischen Konzepte so darzustellen, dass der Student die Aussagen ohne detaillierte Kenntnisse über partielle Differenzialgleichungen verstehen kann.

Platten zeichnen sich dadurch aus, dass ihre Dicke d_m klein gegen die laterale Dimension $L \times L$ ist, dass sie eben sind und freie Ränder besitzen. Schalen sind stark gekrümmte, in der Regel geschlossene Gebilde. Wir haben es mit drei Stufen der Komplexität zu tun: 1. schwach gekrümmte Platten, mit Deformationen δu in der Normalenrichtung klein gegen die Dicke d_m , 2. stark gekrümmte Platten mit $\delta u \sim h$ und 3. geschlossene Schalen. Im ersten Fall hat man es meist mit

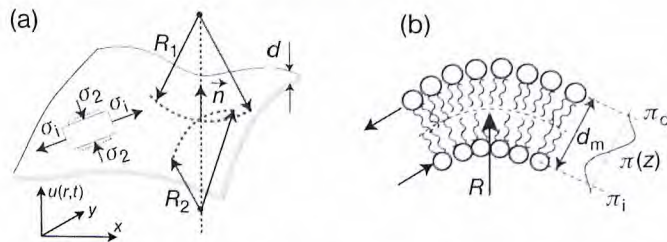


Abb. 11.1 Darstellung der Grunddeformationen dünner Platten und Schalen. (a) Links: Ebene Deformationen durch zwei senkrecht aufeinander stehenden Spannungspaare σ_1, σ_2 (der Dimension N/m). Rechts: Definition der Hauptkrümmungen. R_1 und R_2 sind die

Krümmungsradien und n die Membrannormale. (b) Darstellung der Biegedeformation einer Platte der Dicke d_m durch ein Paar entgegengerichteter tangentialer Spannungen (τ_0, τ_1) die am oberen und unteren Rand angreifen.

reiner Biegung zu tun, während in den letzten beiden Fällen Biegung und laterale Spannung nicht zu trennen sind.

Eine auch für Experimentalphysiker geeignete Einführung in das Gebiet findet man in Band VII (Elastizitätstheorie) des Lehrbuchs für Theoretische Physik von Landau und Lifshitz [1], wobei es sich in jedem Fall lohnt, die Einleitungen zu den einzelnen Kapiteln zu lesen, die nach den oben genannten zunehmenden Graden der Komplexität geordnet sind. Eine umfassende (rigorosere) Darstellung findet man auch in der Monografie von Boal [2]. Eine moderne, aber mathematisch sehr anspruchsvolle Theorie der Schalen aus zweidimensionalen Kristallen stammt von D. Nelson [3]. Wir werden sie im Kapitel 35 kurz ansprechen.

Die Deformation der Platten und Schalen ist durch drei Deformationsmuster bestimmt (Abb. 11.1a): die isotrope Kompression (oder Dilatation), die Scherdeformation und die Biegung. Die ersten beiden Deformationen sind tangential zur Fläche und werden durch zueinander orthogonale Paare von Spannungen σ_1 und σ_2 erzeugt, die parallel zur Ebene der Platten wirken. Da die Membranen zweidimensionale Körper sind, haben die Spannungen die Dimension N/m. Um die Schale zu biegen, dehnen wir eine Seite (z. B. die obere in Abb. 11.1) durch eine laterale Spannung (τ_0) und stauchen die andere durch eine entgegengerichtete Spannung τ_1 . Wir betrachten nun die theoretischen Grundlagen der lateralen Deformation und der Biegung separat.

Laterale Deformation: Im Gegensatz zu Schalen aus kondensierten Materialien (z. B. der Muscheln, aber auch von Lipidmembranen), die nur bis zu relativen Dehnungen von $\delta L/L \leq 10^{-3}$ dem Hookschen Gesetz gehorchen und bei stärkerer Dehnung plastisch verformt werden, können weiche Schalen aus makromolekularen Netzwerken (wie das Zytoskelett der Erythrozyten) um mehr als 100 Prozent elastisch gedehnt werden (s. Abb. 11.2). Ihr elastisches Verhalten gleicht dem von Gummi. In Analogie zur klassischen Theorie der Gummielastizität charakterisiert man die tangentialen Deformationen durch die relativen Dehnungen $\lambda_1 = L_1/L$ und $\lambda_2 = L_2/L$ in zwei zueinander senkrechten Richtungen [2, 4–6]. Ein quadratisches Membranstück der Fläche $A_0 = L^2$ wird in ein Rechteck der Flä-

che $A = \lambda_1 \lambda_2 L^2$ deformiert, d. h. $(1 - \lambda_1 \lambda_2)$ ist die relative Flächenänderung. Sind σ_1 und σ_2 gleich groß, aber entgegengerichtet (Abb. 11.1), so ist $\lambda_1 = \lambda_2^{-1}$. Die Fläche bleibt erhalten und man hat es mit dem Fall der reinen Scherung zu tun. Die gesamte elastische Energie der ebenen Deformation ist [6]:

$$G_{\text{planar}} = \frac{1}{2} K \iint dO (1 - \lambda_1 \lambda_2)^2 + \frac{1}{2} \mu \iint dO \left(\frac{\lambda_1}{\lambda_2} + \frac{\lambda_2}{\lambda_1} - 2 \right) \quad (11.1)$$

wobei K der Kompressionsmodul und μ der Schermodul ist. Man beachte, dass diese zweidimensionalen Module gleich dem Produkt der dreidimensionalen Module (z. B. μ) und der Membrandicke (z. B. $\mu \cdot d_m$) sind.

Wir werden es im Folgenden auch häufig mit Situationen zu tun haben, in denen Lipidmembranen unter isotropen lateralen Spannung σ stehen. In diesen Fällen ist es bequemer und gebräuchlich, die klassische Theorie der Dehnung anzuwenden. Dazu stellen wir die durch die Spannung induzierte relative Flächenänderung in der den Physikern vertrauten Form

$$\delta A/A \approx 1/2 \{ (\partial u / \partial x)^2 + (\partial u / \partial y)^2 \} = 1/2 (\text{grad } u)^2 \quad (11.2a)$$

dar. Die mit der Dehnung verknüpfte elastische Energie ist daher:

$$G_{\text{dehn}} = \frac{1}{2} \sigma \left\{ \frac{\delta A}{A} \right\}^2 \quad (11.2b)$$

Mit Ausnahme der Diskussion der Formumwandlung der Erythrozyten werden wir von dieser Gleichung und der Helfrich-Gleichung (11.3) für die Biegeelastizität Gebrauch machen.

Biegedeformation: Zur Betrachtung der Biegung berücksichtigen wir die endliche Dicke d der Platte. Wir erzeugen eine eindimensionale Biegung durch ein Paar entgegengerichteter lateraler Spannungen π_0 , π_u , die an der Oberseite bzw. der Unterseite der Platte angreifen und diese stauchen bzw. dehnen (s. Abb. 11.1b). Es gibt stets eine deformationsfreie, neutrale Fläche, in der die tangentielle Spannung Null ist. Die induzierte Deformation ist durch die Krümmung

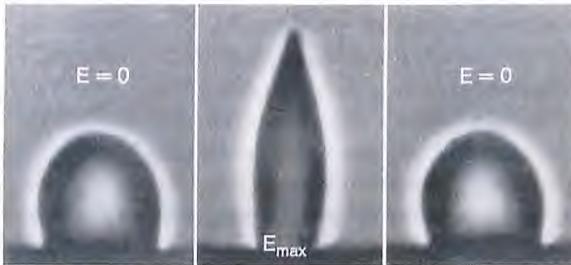


Abb. 11.2 Demonstration des elastischen Verhaltens von Erythrozyten über einen sehr großen Bereich der Deformation. Die Deformation erfolgte im hochfrequenten elektrischen Feld durch elektrische Polarisation

der Zelle im Rhythmus des Feldes (der sog. Maxwell-Wagner-Polarisation), wodurch eine konstante Kraft (Maxwellsche Spannung) entsteht, während elektrochemische Effekte unterdrückt werden (nach [7]).

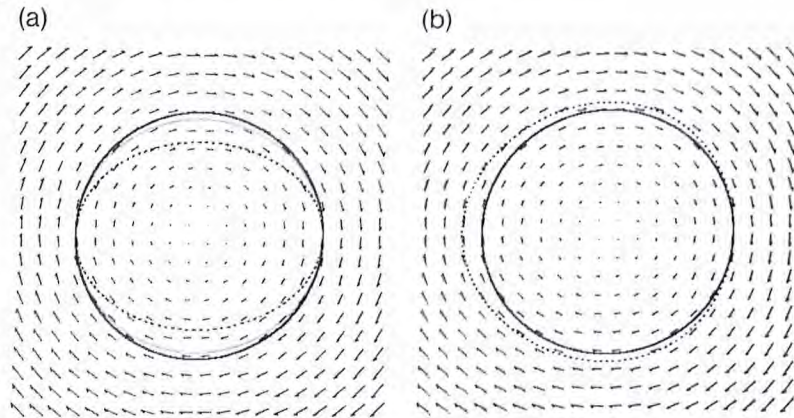


Abb. 7.24 Die verschiedenen Fehlerquellen bei der numerischen Integration der Newtonschen Bewegungsgleichungen am Beispiel eines harmonischen Oszillators. Die Differentialgleichung wurde mit dem Verlet-Algorithmus integriert. Gezeigt sind jeweils die Trajektorien $(x(t), v(t))$ sowie das Vektorfeld der Änderungen $(dx/dt, dv/dt)$. (a) Einfluss der Schrittweite. Schwarze, durchgezogene Linie, korrekte Lösung; graue Linie, Schrittweite 0,1 Perioden; schwarze Punkte, Schrittweite 0,2 Perioden. Da der Verlet-Algorithmus

Terme bis zur quadratischen Ordnung korrekt behandelt, liefern recht große Schrittweiten noch gute Ergebnisse. (b) Einfluss von Fehlern im Potenzial. Volle Trajektorie, korrekte Lösung, gepunktete Trajektorie, Lösung mit Nichtlinearität im Potenzial. Das schwarze Vektorfeld zeigt die korrekten Zeitableitungen, das dazu fast identische graue Vektorfeld beinhaltet die Nichtlinearität. Der geringe Unterschied zwischen den grauen und den schwarzen Pfeilen ist nur in den linken Eckbereichen der Abbildung erkennbar.

und Quanteneffekte keine Rolle spielen, gilt im dreidimensionalen Raum in guter Näherung:

$$\sum_{i=1}^N \frac{m_i}{2} v_i^2 = \frac{3}{2} N k_B T$$

wobei hier N die Gesamtzahl der Teilchen ist. m_i ist die Masse des i -ten Teilchens und v_i seine momentane Geschwindigkeit. Man berechnet nach einem Simulationsschritt aus den momentanen Geschwindigkeiten der Teilchen die momentane Temperatur des Systems, T_m . Danach multipliziert man alle Geschwindigkeiten mit $\sqrt{\frac{T_0}{T_m}}$. Dadurch hat das System die gewünschte Temperatur T_0 . Diese Methode wird zum Teil nur am Anfang einer Simulation zur Thermalisierung eingesetzt, oder aber fortlaufend während einer Simulation.

Insgesamt gibt es eine Vielzahl an Methoden zur Festlegung makroskopischer thermodynamischer Parameter wie Druck, Grenzflächenspannung oder Potenzial. Diese sollen hier aber nicht weiter besprochen werden.

Molekulardynamiksimulationen sind in der Zwischenzeit sehr verbreitet. Sie werden angewandt zur Simulation von Molekülfuktuationen, Änderungen der Molekülkonformationen während der Bildung von spezifischen Bindungen (s.

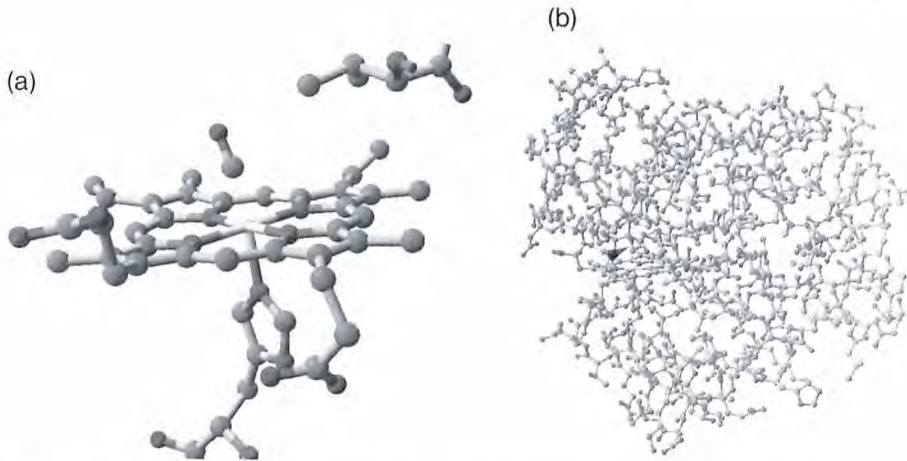


Abb. 7.25 Myoglobin mit gebundenem Kohlenmonoxid CO. (a) Die nähere Umgebung der Häm-Gruppe mit dem zentralen Eisen-Ion. Kohlenmonoxid ist oberhalb der Ebene des Häm-Rings gebunden. Das Eisen-Ion wird von vier Atomen im Häm-Ring, dem Histidin 93 sowie dem Kohlenmonoxid komplexiert. Durch einen starken Lichtblitz kann die

Bindung zwischen CO und Eisen gebrochen werden. Nachfolgend ist das CO-Molekül frei im Myoglobin-Molekül beweglich, bis es zurückbindet. (b) Das gesamte Myoglobin-Molekül. Die Pfeilspitze deutet auf das CO-Molekül. Die Bewegung des freien CO in dieser Struktur ist mit den Fluktuationen der Form gekoppelt. PDB-Datensatz 1A6G.

auch Kapitel 8), enzymatischen Prozessen und vielen anderen Prozessen in Biomolekülen, für die mikroskopische Details der Molekülstruktur wichtig sind. Eine wesentliche Lehre, die aus Molekulardynamik-Simulationen gezogen wurde, ist, dass es „die Konformation“ eines Proteins nicht gibt. Jedes Biomolekül ist dynamisch und fluktuiert stets um seine mittlere Ruhelage. Diese Fluktuationen sind wichtig für fast alle Prozesse, die in Biomakromolekülen ablaufen und an denen sie beteiligt sind.

Hier gehen wir nur auf zwei wichtige, in der Zwischenzeit schon klassische Beispiele ein. Das eine ist die Bewegung von Gasmolekülen in Myoglobin, das andere die enzymatische Reaktion von Alkoholdehydrogenase.

Myoglobin ist ein relativ kleines Protein, das hauptsächlich in Muskeln vorkommt und dort Sauerstoff speichert. Die Speicherung des Sauerstoff-Moleküls erfolgt durch eine so genannte koordinative Bindung des Moleküls an das zweifach geladene Eisen-Ion einer Häm-Gruppe innerhalb von Myoglobin. Das giftige Gas Kohlenmonoxid bindet mit noch höherer Affinität an die Häm-Gruppe (Abb. 7.25). Die Kinetik des Gasaustauschs zwischen Myoglobin und der Umgebung wurde experimentell sehr gut untersucht (s. auch Kapitel 7.3.2), zur Interpretation der Ergebnisse wurden auch Molekulardynamiksimulationen der Bewegung von CO durch die Proteinstruktur durchgeführt. Hierbei wurde gefunden, dass diese Bewegung im Wesentlichen aus „Hüpfprozessen“ zwischen verschiedenen Hohlräumen in der Proteinstruktur besteht. Durch die fortlaufenden Fluktuationen

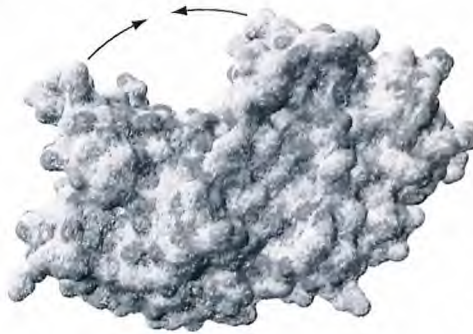


Abb. 7.26 Die Oberfläche der Alkoholdehydrogenase in der offenen Form, auch Apo-Enzym genannt. Die beiden Pfeile symbolisieren die Bewegung der beiden Untereinheiten gegeneinander. PDB-Datensatz 1YE3.

nen der Proteinstruktur fluktuieren auch die Höhen der energetischen Barrieren für den Übergang von einem Hohlraum in einen anderen. Daher sind diese „Hüpfprozesse“ mit der Dynamik des Proteins verknüpft. Insgesamt wird die Dynamik des Gasaustauschs durch die Dynamik des Proteins extrem stark beschleunigt.

Ein zweites Beispiel für die Anwendung der Molekulardynamik ist die Alkoholdehydrogenase. Dieses Enzym besteht aus zwei großen Untereinheiten. Das aktive Zentrum, d. h. die Stelle, an der das Alkoholmolekül gebunden und chemisch umgesetzt wird, befindet sich am Ende des Spaltes, der beide Untereinheiten trennt. Damit der Alkohol sowie der Kofaktor NADH binden können, muss der Spalt weit geöffnet sein. Nach erfolgter Bindung schließt sich der Spalt, so dass die Reaktion unter Wasserausschluss stattfinden kann (Abb. 7.26). Diese Scherenbewegung der beiden Untereinheiten gegeneinander ist also für die Funktion des Enzyms essenziell. Mithilfe von Molekulardynamik-Simulationen wurde berechnet, wie steif diese Struktur gegen die Bewegung der beiden Hälften gegeneinander ist. Das Ergebnis dieser Rechnung war eine Federkonstante von 0,2 N/m.

Interessanterweise zeigt Alkoholdehydrogenase auch eine Limitierung der klassischen Molekulardynamik-Simulationen auf: Bei der enzymatischen Reaktion wird ein Proton vom Alkohol auf den Kofaktor NADH übertragen. Damit wird eine Bindung gebrochen. Das Proton befindet sich also vor und nach der Reaktion in verschiedenen Potenzialen. Dies kann in klassischer Molekulardynamik nicht abgebildet werden. Falls solche Reaktionen simuliert werden sollen müssen so genannte *ab-initio*-Methoden verwendet werden. Hierbei wird für jede Konformation der Kerne die dazugehörige Wellenfunktion für den Grundzustand der Elektronen berechnet. Dies liefert die Energie dieses Mikrozustands. Es wird also kein vordefiniertes Potenzial benutzt, sondern für jede Geometrie die Energie aus quantenmechanischen Prinzipien berechnet. Daher kann hier sehr wohl eine chemische Reaktion simuliert werden. Ein weiterer Vorteil solcher Rechnungen ist, dass auch die Wellenfunktion der Protonen explizit berechnet werden kann. Somit kann auch das Tunneln des Protons als Mechanismus der chemischen Reaktion mitberücksichtigt werden. Das numerische Problem einer *ab initio*-Simulation ist wesentlich aufwendiger zu lösen als das der klassischen Mole-

$H = 1/R$ bestimmt. Nach dem Hookschen Gesetz ist die elastische Energie proportional zum Quadrat der Deformation. Die mit der Biegung verknüpfte elastische Energie pro Fläche, g_{ela} , ist daher $g_{\text{ela}} = 1/2 \kappa H^2$. Dabei ist κ der Biegemodul, der in Einheiten der Energie (z. B. $\kappa_B T$) gemessen wird. In der Vorlesung über Differenzialgeometrie lernen wir, dass die Topologie beliebig gekrümmter Flächen durch zwei Hauptkrümmungen R_1, R_2 bestimmt ist. Die Energiedichte ist daher proportional zum Quadrat der mittleren Krümmung $H = 1/2 [(R_1^{-1}) + (R_2^{-1})]$ [8, 9]. Die gesamte elastische Energie der Biegung erhält man durch Integration über die gesamte Fläche der Schale.

Bei der Biegung biologischer Membranen kommt noch etwas Neues ins Spiel. Da diese in der Regel asymmetrisch sind, besitzen sie eine eingeprägte Biegung (die sog. *spontane Krümmung*) C_0 , die in der Regel isotrop ist. Die gesamte elastische Energie der Biegung ist daher:

$$C_{\text{curv}}^{\text{lokal}} = \frac{1}{2} \kappa \iint dO \{ R_1^{-1} + R_2^{-1} - C_0 \}^2 \quad (11.3)$$

Dies ist die berühmte Helfrich-Gleichung der Biegeelastizität biologischer Membranen, die vielfach experimentell begründet wurde. Wir sehen schon hier, dass die spontane Krümmung C_0 die elastische Energie beliebig reduzieren kann, und wir werden mehrfach sehen, dass die Natur von dieser Möglichkeit der Kontrolle der Krümmung reichlich Gebrauch macht.

Die mathematisch geschulten Studenten werden sich erinnern, dass die Krümmung einer Kurve durch die zweite Ableitung der Auslenkung $u(x,y)$ der Platte aus der Ebene bestimmt ist und wir die mittlere Krümmung auch ersetzen können durch:

$$2H = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} = \Delta u(x,y) \quad (11.4)$$

wobei Δ der Laplace-Operator ist.

Es ist oft einfacher und nützlich, die spontane Krümmung mit dem in Abbildung 11.1b dargestellten Bild der Membranbiegung durch ein Spannungspaar π_o und π_u zu betrachten. Diese erzeugen ein Drehmoment $M = (\pi_o - \pi_u)d_m$. Nach dem Hookschen Gesetz erzeugt dies offenbar eine Krümmung

$$C_0 = \frac{M}{\kappa} = \frac{(\pi_o - \pi_u)d_m}{\kappa} \quad \text{oder} \quad C_0 = \frac{1}{\kappa} \int z \frac{d\pi}{dz} dz \quad (11.5)$$

Die rechte Seite stellt eine Verallgemeinerung des Gesetzes für Situationen dar, in denen ein Gradient der Spannung in Normalenrichtung erzeugt wird.

Ehe wir auf wichtige Anwendungen der Helfrich-Gleichung kommen, müssen wir ein paar Bemerkungen voranschicken.

1. *Die Gaußsche Krümmung.* Streng genommen trägt auch die Gaußsche Krümmung $G = 1/R_1 R_2$ zur Biegeelastizität von Schalen bei. Diese kann jedoch im Fall fluider Membranen häufig vernachlässigt werden, da das Integral über G

(und damit die Biegeenergie) nach dem Gauß-Bonnet-Theorem unabhängig von der Form ist. Auf Ausnahmen werden wir zurückkommen.

2. *Bezug zu elastischen Materialeigenschaften.* Um Materialien zu vergleichen ist es notwendig, die oben für zweidimensionale Körper definierten Module der Platten als Funktionen des Young-Moduls E auszudrücken, denn nur dieser ist eine von der Form der Körper unabhängige Materialkonstante (der Dimension J/m^3). Es bestehen folgende Beziehungen zwischen den in Gleichungen (11.1) und (11.2a) eingeführten zweidimensionalen Modulen und dem vertrauten Young-Modul E sowie dem Poisson-Verhältnis ν [1]:

$$K = \frac{Ed_m}{3(1-2\nu)} \quad \mu = \frac{Ed_m}{2(1+\nu)} \quad \kappa = \frac{Ed_m^3}{12(1-\nu^2)} \quad (11.6)$$

Diese Gleichungen sind hilfreich, wenn man die verschiedenen Module vergleichen oder bei Kenntnis des Kompressionsmoduls den Biegemodul abschätzen möchte. Allerdings muss dazu das Poisson-Verhältnis ν der Membranen bekannt sein. Man vermutet, dass es zwischen dem typischen Wert für Festkörper von $\nu \approx 1/3$ und dem Wert für Flüssigkeiten $\nu \approx 1/2$ liegt. Parallele Messungen der Module κ und K als Funktion der

Kettenlänge legen den Wert $\nu \approx 1/3$ nahe [10]. Um ν aus dem Verhältnis κ/K zu bestimmen, muss man bei der Anwendung der obigen Gleichung jedoch beachten, dass die Membran aus zwei parallel geschalteten Unterschalen besteht, die frei gegeneinander gleiten können. Dadurch wird das Verhältnis κ/K um den Faktor zwei erniedrigt (s. dazu [5]).

3. *Lokale und globale Krümmungselastizität.* Die obige Darstellung der Biegesteifigkeit eignet sich recht gut zur Beschreibung der lokalen elastischen Eigenschaften von Lipid-Doppelschichten. Im Fall verbundartig aufgebauter, geschlossener Schalen, wie den Hüllen der Erythrozyten, muss man noch einen Beitrag zur globalen Deformation berücksichtigen [5]. Betrachten wir dazu in einem Gedankenexperiment die Bildung einer bikonkaven Form des Erythrozyten aus einer sphärischen Schale (Abb. 11.3a), so muss die äußere Monoschicht der Plasmamembran in den konkaven Bereichen gestaucht und die innere gestreckt werden, während in den konvexen Bereichen das Umgekehrte gilt. Dabei wird angenommen, dass die Monofilme entlang der neutralen Fläche A_0 gegeneinander gleiten können. Die gesamte elastische Energie dieser globalen Deformation ist dann proportional zum Quadrat der Flächenänderung (ΔA) zwischen der inneren und der äußeren Monoschicht. Da der Ausgangszustand der Schale aber auch eine spontane Flächenänderung ΔA_0 annehmen kann, ist die globale Biegeenergie von der Form:

$$G_{\text{curv}}^{\text{global}} = 1/2\kappa' \frac{\pi}{4 A_0 d_m^2} (\Delta A - \Delta A_0)^2 \quad (11.7)$$

Dabei ist κ' der so genannte globale Biegemodul, der sich vom lokalen Modul κ etwas unterscheidet. Der gesamte Beitrag zur Biegeenergie ist somit:

$$G_{\text{curv}} = G_{\text{curv}}^{\text{local}} + G_{\text{curv}}^{\text{global}} \quad (11.8)$$

Man nennt den Beitrag $G_{\text{curv}}^{\text{global}}$ zur Biegeenergie oft Flächen-Differenz-Elastizität (engl. *area-difference elasticity*). Dieser Beitrag ist besonders wichtig, wenn wir das Verhalten frisch entstandener Vesikel in Zellen oder die Herstellung von Vesikeln aus ebenen Membranen studieren. Bei der Bildung einer geschlossenen Schale aus einer ebenen Membran muss offenbar die innere Monoschicht gestaucht und die äußere gestreckt werden. Dadurch besitzt die Schale nach dem Schließen eine spontane Flächendifferenz ΔA_0 . Dies kann zu unerwarteten und rätselhaften Formumwandlungen führen (s. Übungsaufgabe 11.3 und [11]).

4. *Deformation geschlossener Schalen.* Platten mit offenen, kräftefreien Rändern und geschlossene Schalen verhalten sich völlig verschieden. Bei schwacher Biegung der Platten ist die laterale Dehnung ein Effekt zweiter Ordnung. Er muss nur berücksichtigt werden, wenn die Auslenkung δu groß gegen die Dimension L der Platte ist (s. dazu [1]). In diesem Fall wird die Deformation durch ein berühmtes nichtlineares Gleichungssystem von Föppl und von Karman beschrieben, auf das wir bei der Diskussion der mechanischen Stabilität von Viren-Kapsiden in Kapitel 35 genauer eingehen.

Bei geschlossenen und sphärischen Kugelschalen ist die Situation völlig anders. Auch bei sehr kleinen lokalen Deformationen δu ist die elastische Energie durch die Dehnung bestimmt, während die Biegung ein Effekt zweiter Ordnung ist. Dies zeigt folgende einfache Überlegung: Dehnen wir den Radius der Kugelschale um ζ , so wird der Umfang $U + \Delta U = 2\pi(R + \zeta)$ und die relative Dehnung $\Delta U/U = \zeta/R$. Die Dehnungsenergie wird $G_{\text{dehn}} \sim E h(\zeta/R)^2$. Die mit einer kleinen Deformation ζ verbundene Biegeenergie ist dagegen nach wie vor von der Größenordnung $G_{\text{curv}} \sim E h^3 \zeta^2/R^4$ (da die zweite Ableitung $\partial^2 \zeta / \partial x^2 \sim \zeta/R^2$ ist, s. Übungsaufgabe 11.2). Das Verhältnis der beiden Energien ist daher von der Größenordnung $G_{\text{dehn}}/G_{\text{curv}} \sim (R/h)^2$ und ist für Membranen von der Größe 10^3 .

Viele biologische Schalen, vor allem Blutzellen, müssen leicht deformierbar sein. Sie schaffen daher Überschussfläche, indem das Volumen des Zytoplasmas über den osmotischen Druck so reguliert wird, dass es kleiner ist als das einer Kugel derselben Oberfläche. Rote Blutzellen bilden bikonkave Formen, d. h. die Schale besteht aus Bereichen positiver und negativer Krümmung. Geschlossenen Schalen mit Überschussfläche verhalten sich bei schwacher Biegung wieder ähnlich wie schwach gebogene Platten.

11.1.1

Methoden der Messung elastischer Konstanten

Da elastische Eigenschaften nicht nur die Mikrostruktur und die globale Form der Membranen bestimmen, sondern auch viele Funktionen der Zelle kontrollieren, sind genaue Messungen der Absolutwerte elastischer Module künstlicher und biologischer Membranen sehr wichtig. Dazu wurde eine Reihe von Metho-

den entwickelt. Für schersteife Zellen (wie Blutzellen) eignen sich besonders die Mikropipettentchnik (s. Molekulare Kraftmessung in Kapitel 8) und die Kraftmikroskopie mit AFM oder magnetischen Pinzetten (die wir in Kapitel 26 zeigen). Genaue Messungen der Biegemodule der Lipidschichten oder Erythrozyten liefert die Fourier-Spektroskopie der thermisch angeregten Biegefluktuationen, die wir am Ende des Kapitels behandeln werden.

Tabelle 11.1 zeigt eine Zusammenstellung typischer elastischer Module von Modellmembranen, aus denen einige wichtige Regeln über die elastischen Eigenschaften biologischer Membranen folgen.

1. Der Biegemodul und Kompressionsmodul sind für gleiche Membrandicken d_m zueinander proportional und es gilt die oben begründete Faustregel $\kappa/K \propto d_m^2$.
2. Die Biegesteifigkeit der Membranen nimmt mit der Kettenlänge zu und mit der Zahl der Doppelbindungen stark ab.
3. Die elastischen Module können durch Zugabe von Cholesterol drastisch erhöht werden. Wenige mol% kleiner amphiphiler Moleküle, wie Fettsäuren, dagegen können κ um einen Faktor 5 reduzieren [12].

Mittels Mikropipetten wurde auch die Zerreißfestigkeit σ_{\max} und die maximale Dehnung der Membranen bestimmt (Referenzen s. [12]). Wie für kondensierte Materie erwartet, beträgt die maximale relative Dehnung $\delta A/A_{\max}$ nur wenige

Tabelle 11.1 Auswahl elastischer Module von Lipidschichten (Werte aus [12]). Abkürzungen: DAPC, Diarachidyl-phosphatidylcholin; SOPC, Stearoyl-oleyl-phosphatidylcholin; SPHM, Sphingomyelin.

Lipid	T (°C)	κ (10^{-19} J)	K (mN/m)
DMPC (PC:C 14:0) (L_{α})	30	1,2	145
DMPC (PC:C 14:0) (L_{β})	8	12	855
SOPC (PC:C 18:0;C 18:1) (L_{α})	35	1,5	200
DAPC (PC:C 18:4) (L_{α})	20	0,5	60
DMPC/Cholesterol 3:2	20	4,0	685
SPHM/Cholesterol 1:1	15	---	1720
SOPC/Cholesterol 1:1	15	---	865

Tabelle 11.2 Vergleich der elastischen Module der Zellhülle der Erythrozyten mit einer Schale aus Polyethylen mit ca. 5 nm Dicke

Material	Scherung μ (mN/m)	Biegung κ (J)	Kompression (mN/m)
Polyethylen	300	$2 \cdot 10^{-17}$	$5 \cdot 10^3$
Erythrozyten	0,006	$0,5-5 \cdot 10^{-19}$	10^3

Prozent (z. B. $\sim 3\%$ für SOPC). Die Membranen sind also nahezu inkompressibel. Die Zerreißfestigkeit reiner Lipidschichten beträgt 2–5 mN/m. Sie wird durch Cholesterol wesentlich erhöht, z. B. von 2 mN/m für POPC auf 20 mN/m für eine 1:1 POPC-Cholesterol-Mischung, was die große Bedeutung dieses Moleküls für die mechanische Stabilisierung der Zellen demonstriert.

Tabelle 11.2 zeigt zum Vergleich die elastischen Konstanten der Erythrozyten, die außerdem den Werten gegenübergestellt werden, die eine Schale aus Polyethylen mit gleicher Dicke und Groe hätte. Die Daten der Tabelle 11.2 zeigen: Die Biege- und Schersteifigkeit der Erythrozyten sind einige hundert Mal kleiner als die Werte des technischen Materials. Sie sind jedoch bezüglich Dehnung ebenso inkompressibel wie Plastik. Die letztere Eigenschaft ist durch die 5 nm dicke Lipid-Protein-Schicht bestimmt, da sich das Zytoskelett wie eine Platte aus sehr weichem Gummi dehnen lässt. Diese Kombination der mechanischen Eigenschaften ist für die Funktion der Zellen extrem wichtig, wie wir weiter unten sehen werden.

11.2

Formenvielfalt biologischer Schalen als Minimalflächen der elastischen Energie

Ein besonders schönes Beispiel für die Bedeutung allgemeiner physikalischer Prinzipien in der Biologie ist die Kontrolle der Formen und Formbergnge der Zellen und intrazellulären Organellen durch Minimalisierung der *biegeelastischen Energie* und durch *induzierte Krümmungen*. Die Frage, wie die Vielfalt biologischer Formen entsteht, interessiert die Menschen seit Jahrhunderten, vor allem seit der Entdeckung der Mikrowelt durch das Mikroskop. Sie wurde auch durch ein um 1900 erschienenes und noch heute populäres Buch, *On Growth and Form* von D'Arcy Thompson [13], stimuliert.

Besonderes großes Interesse fand die Formenvielfalt der Erythrozyten, von der wir eine kleine Auswahl in Abbildung 11.3a zeigen. Mediziner können aus Abweichungen von der normalen bikonkaven Form Krankheiten oder Mutationen erkennen. Übergänge zwischen den Formen erfolgen wie Phasenumwandlungen spontan, wenn die natürliche Zusammensetzung der Plasmamembran und des Zytoskeletts oder die Kopplung zwischen den Unterschalen gestört wird, sei es durch Krankheit, genetische Defekte oder gezielte biochemische Störungen. Der Diskozyt→Stomatozyt-Übergang kann beispielsweise durch sukzessive Entfernung von Cholesterol oder Lipid erzwungen werden. Echinozyten entstehen durch ATP-Entzug oder Altern und Elliptozyten durch Entfernung des Aktin-Membran-Kopplers Bande IV.1 (s. Abb. 9.1).

Hinweise auf die Steuerung der Formumwandlungen der Zellen durch einen universellen physikalischen Mechanismus lieferte die erstaunliche Beobachtung, dass Riesenvesikel aus einer Lipidkomponente dieselben Formumwandlungen aufweisen können wie Erythrozyten oder intrazelluläre Organellen. Abbildung 11.3b zeigt als Beispiele den Diskozyt→Stomatozyt-Übergang durch Erhöhung der Temperatur um ca 1 °C. Abbildung 11.3d zeigt, dass Vesikel aus einem

24.7

Besonderheiten makromolekularer Lösungen und Anwendungen in Natur und Technik

24.7.1

Der osmotische Druck und der Dampfdruck

Lösungen von Makromolekülen verhalten sich schon bei sehr kleinen Konzentrationen nichtideal und Natur und Menschen machen von dieser Eigenschaft oft Gebrauch. Ein wichtiges Beispiel ist der osmotische Druck Π halbverdünnter Lösungen, der erstaunlicherweise oft durch den zweiten Virialkoeffizienten bestimmt ist. Man erhält Π in üblicher Weise aus der Freien Enthalpie der Mischung nach [9]:

$$\Pi = - \left(\frac{\partial G}{\partial V_1} \right)_{T, N_i} = - \frac{1}{v_1} \cdot \frac{\partial \Delta G_{\text{mix}}}{\partial N_1} = - \frac{\Delta \mu_1}{v_1} \quad (24.19)$$

wobei $v_1 = a^3$ das Volumen der Monomere ist. Es ist hilfreich, Π als Virialentwicklung darzustellen:

$$\Pi = \frac{k_B T}{v_1^3} \left\{ \frac{\varphi_m}{N} - \frac{1}{2} (1 - 2\chi) \varphi_m^2 \right\} \quad (24.20)$$

Bei sehr verdünnter Lösung ist

$$\varphi_m \approx N N_m / N_1 = a^3 c_p,$$

d. h. gleich der Konzentration der Polymere (s. Gl. 24.12). Nach dem Raoult'schen Gesetz verdünnter Lösungen (s. Kapitel 3) besagt dies, dass sich die Lösung wie eine Suspension harter Kugeln verhält. Das Gesetz wurde vielfach bewiesen, vor allem durch Messung der Gyrationradien mit Röntgen- und Neutronenbeugung. Durch Anwendung dieses Gesetzes hat man erstmals gezeigt, dass Makromoleküle tatsächlich quasisphärische Knäuel bilden und man benutzt es heute noch zur Messung der Molekulargewichte von Makromolekülen und Proteinen.

Bei halbverdünnten Lösungen ist der osmotische Druck erstaunlicherweise durch den zweiten Virialkoeffizienten bestimmt, da der erste Term der Entwicklung wegen des Faktors $1/N$ (d. h. der stark reduzierten Mischungsentropie) sehr klein ist [1]. Wie erwähnt, nutzt unser Körper diese Gesetzmäßigkeit zur Erzeugung eines sehr hohen osmotischen Drucks in der Gelenkflüssigkeit.

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

$$\ln \left\{ \frac{p_1^0}{p_1} \right\} = \frac{v_1 \Pi}{k_B T} = \frac{\varphi_m}{N} + \frac{1}{2} (1 - 2\chi) \varphi_m^2 \quad (24.21)$$

Auch der Dampfdruck wird durch Makromoleküle aufgrund des zweiten Virialkoeffizienten extrem stark reduziert. Der Unterschied zwischen Makromolekülen und kleinen Molekülen (für die das Raoult'sche Gesetz gilt) ist beeindruckend. Der relative Dampfdruck p_1/p_1^0 eines gelösten Polymers mit $\chi = 0$ und Polarisationsgrad $N = 1000$ wird bei einem Molenbruch der Monomere von $\chi_m = 0,02$ auf 30 % reduziert, während kleine Moleküle (mit $N = 1$) lediglich eine Reduktion um ca. 2 % schaffen (s. auch [9]). Der Effekt wird durch elektrische Ladungen noch wesentlich verstärkt, wie wir unten sehen werden.

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

Ein anderes faszinierendes Beispiel sind die Fangfäden der Spinnweben [11]. Sie bestehen, wie das gesamte Netz aus Seidenfäden. Die Fäden stellt die Spinne mit speziellen Drüsen her. Sie umgibt diese mit einer dünnen Schicht einer galertartigen Masse aus Polymeren (wahrscheinlich Glykoproteinen und Polysacchariden). Diese quellen durch Aufnahme einer großen Menge von Wasser, und zwar so stark, dass ein dünner Flüssigkeitsmantel entsteht. Dieser zerfällt in eine perlschnurartige Anordnung aus tropfenförmigen und zylinderförmigen Bereichen. Der Grund ist wahrscheinlich eine Rayleigh-Instabilität des dünnen Flüssigkeitsstrahls. Der Faden bildet in den verdickten Bereichen Knäuel, die wie eine Entropie-Feder wirken. Dadurch kann der Faden um das 300-fache gedehnt werden, wenn die Beute auftrifft.

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

24.8

Modifikation der Skalengesetze und Eigenschaften durch Aufladung der Makromoleküle: die Ladungskondensation

Viele intrazelluläre Makromoleküle sind stark negativ elektrisch geladen, was ihre hohe Löslichkeit und Quellfähigkeit garantiert. Die linearen Ladungsdichten λ (Elementarladung pro nm) liegen bei $\lambda \sim 6e \text{ nm}^{-1}$ für DNA und $\lambda \sim 2e \text{ nm}^{-1}$ bei Chondroitinsulfat, den Haaren der Proteoglykane. Es ist intuitiv klar, dass geladene Polymere gegenüber neutralen durch die elektrostatische Abstoßung gestreckt und damit (durch Zunahme der Persistenzlänge) steifer werden. Durch die Abstoßung zwischen den geladenen Monomeren werden die Ketten aufgebläht und der osmotische Druck nimmt zu.

Die Situation wäre aufgrund der großen Reichweite elektrostatischer Kräfte hoffnungslos kompliziert, wenn nicht mehrere Umstände zu Hilfe kämen. Praktisch alle biologischen Makromoleküle sind negativ geladen, während positive Moleküle wie Histone, Amine oder Ionen die lokale Wechselwirkung kontrollieren. Wie wir in Kapitel 37 sehen werden, sind hoch geladene Makromoleküle in Elektrolyten instabil, was zur Kondensation von Gegenionen auf der Oberfläche des Polymers führt (nach ihrem Entdecker auch Manning-Kondensation genannt [12]). Die Kondensation erfolgt schon bei extrem kleinen Salzkonzentrationen (in der Größenordnung von nM), und unter normalen physiologischen Salzkonzentrationen ($> 100 \text{ mM}$) ist die Bedingung der Ladungskondensation sicher erfüllt.

Im Folgenden werden wir die Effekte der Ladung auf die Persistenzlänge, den Flory-Radius und den osmotischen Druck diskutieren, wobei wir zwischen flexiblen und semiflexiblen Polymeren unterscheiden müssen. Für die flexiblen Ketten können wir bei der Berechnung des Einflusses der Ladungen auf den Flory-Parameter χ auf die Debye-Hückel-Theorie zurückgreifen, während wir für semiflexible Ketten die Theorie auf eindimensionale Objekte erweitern müssen. Deren

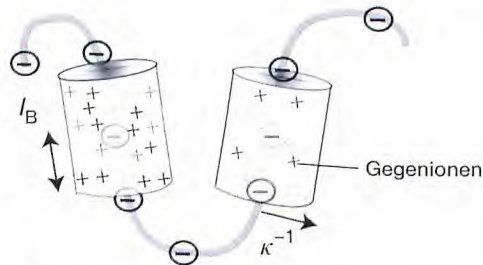


Abb. 24.5 Zur Charakterisierung geladener flexibler Makromoleküle. Die Zahl der Kuhn-Segmente pro Kette sei wieder N , die Konturlänge L_c . Die Ladung pro Segment sei e und die lineare Ladungsdichte ist $\lambda = N e/L_c$. Die Teilchendichte der Gegenionen der Sorte i ist n_i . Man beachte Folgendes: Erstens ist unter

physiologischen Bedingungen der Abstand der Ladungen aufgrund der Ladungskondensation gleich der Bjerrum-Länge l_B ($\approx 0,7 \text{ nm}$).

Zweitens werden nur die positiven Überschussladungen der Gegenionen-Wolke gezeigt, wobei κ^{-1} die Debye-Abschirmlänge ist.

Verhalten ist durch zwei Längen bestimmt: die uns vertraute Debye-Abschirmlänge κ^{-1} und die Bjerrum-Länge l_B , die wie folgt definiert sind (s. Abb. 24.5 und Kapitel 6.3):

$$\kappa = \sqrt{\sum_i \frac{z_i^2 e_0^2 n_{i,0}}{\epsilon \epsilon_0 k_B T}} \quad l_B = \frac{e^2}{4\pi \epsilon \epsilon_0 k_B T} \quad (24.22)$$

wobei n_i die Teilchendichte (Ionen/m³) ist. l_B hat eine anschauliche Bedeutung. Zwei Ladungen im Abstand l_B haben die Coulomb-Energie $k_B T$. Unter Standardbedingungen (25 °C und $\epsilon = 80$) wird $l_B = 0,78$ nm. Ist der Abstand zwischen den Ladungen kleiner (wie im Fall der DNA), so findet Ladungskondensation statt, bis die Ladungsdichte die Bedingung $\lambda^* = e_0/l_B$ erfüllt. Eine kurze Begründung für die Kondensation der Ladung bringen wir in Kapitel 36.

Wir betrachten nun zwei wichtige Sonderfälle:

1. Ist $\kappa^{-1} \gg L_c$, so wird die Kette durch elektrostatische Abstoßung zwischen den Monomeren gestreckt bis zum Grenzfall starrer Stäbe.
2. Falls $l_B \ll \kappa^{-1} \ll L_c$ ist, wird die Persistenzlänge L_p (oder Kuhn-Länge) um einen elektrostatischen Beitrag verlängert auf $L_p^* = L_p + L_{p,el}$.

Von Odijk wurde das Kuhn-Kratky-Porod-Modell erweitert und $L_{p,el}$ über die Debye-Hückel-Näherung berechnet [13]. Hier soll nur das Ergebnis (mit der Definition der Abb. 24.5) angegeben werden:

$$L_{p,el} = \frac{l_B}{4\kappa^2} \frac{1}{L_p^2} \quad (24.23)$$

Da $\kappa \propto \sqrt{n_i}$ ist, hängt $L_{p,el}$ linear von der Salzkonzentration n ab.

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

24.9

Der elektro-osmotische Zusatzdruck von geladenen Polymeren

Es ist intuitiv klar, dass die elektrostatische Abstoßung zwischen den Segmenten zu einer zusätzlichen Wasseraufnahme durch das Polymer führt. Die Ursache ist letztlich eine Folge der Bedingung der Elektroneutralität. Diese führt dazu, dass die Konzentration der frei beweglichen Gegenionen innerhalb der Polymer-Knäuel größer ist als außerhalb. Den osmotischen Zusatzdruck erhält man am einfachsten durch Berechnung des Beitrags der elektrostatischen Wechselwirkung zum zweiten Virialkoeffizienten, wobei für das Paarpotenzial benachbarter

geladener Segmente der Ausdruck der Debye-Hückel-Theorie eingesetzt wird. Dies ist für interessierte Leser ein lehrreiches Beispiel der Anwendung des Konzepts des van der Waals-Gases zur Beschreibung der Thermodynamik kolloidaler Lösungen.

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

$$B_{2,\text{el}} = \frac{z_m^2}{2 \sum_i n_i z_i^2} \quad (24.24)$$

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

$$\Pi_{\text{el}} = \frac{k_B T}{a^6} \frac{z_m^2}{2 \sum_i n_i z_i^2} \alpha^2 \varphi_m^2 \quad (24.25)$$

Ein analoger Ausdruck wurde von T. Hill in [9] abgeleitet. Wir haben den Virialkoeffizienten durch Berücksichtigung der elektrostatischen Abstoßung zwischen den Segmenten abgeleitet. Da wir dabei die Debye-Theorie benutzt haben, können wir den Zusatzdruck auch als Folge der Einstellung des Zustandes der Elektroneutralität interpretieren.

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

$$\chi_{\text{eff}} = \chi - \frac{\alpha^2 z_m^2}{2 \sum_i n_i z_i^2 a^3} \quad (24.26)$$

wobei n_i die Teilchendichte der Gegenionen ist.

Die Effekte können sehr groß sein, wie folgende Betrachtung zeigt. Nach Gleichung (24.18) wächst das Volumen eines Moleküls gemäss $(1 - 2\chi)^{3/5}$. Daher ändert sich das Volumen eines Makromoleküls bei der Aufladung relativ zum neutralen Zustand (V_0) um:

$$V_z = V_0 \left\{ \frac{1 - 2\chi_{\text{eff}}}{1 - 2\chi_0} \right\}^{3/5} \quad (24.27)$$

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

Anhang 24.A**Der elektrostatische Beitrag zum Virialkoeffizienten geladener Makromoleküle**

Wir betrachten die Monomere wieder als Kugeln mit dem Eigenvolumen a^3 . Das Wechselwirkungspotenzial zweier Monomere mit der Ladung $e z_m$ im Abstand $r > a$ ist dann durch das in Kapitel 6 abgeleitete Paarpotenzial

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

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

Der Beitrag der elektrostatischen Abstoßung zum Virialkoeffizienten ist dann bekanntlich durch das folgende Integral gegeben [5]:

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

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

$$B_{el} \approx \frac{e_0 z_m^2}{2 \sum n_i z_i^2} \quad (24.A.3)$$

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

Anhang 24.B**Häufig benutzte Bezeichnungen des Kapitels 24**

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

c_p	Teilchendichte der Polymere (Polymere/ m^3)
c_m	Teilchendichte der Segmente (Monomere/ m^3)
L_c	Konturlänge flexibler oder steifer Makromoleküle
L_p	Persistenzlänge
L	End-zu-End-Vektor des Polymers
M	Zahl der Polymere in einer Lösung
M_c	Zahl der Ketten zwischen den Netzpunkten
N	Monomere pro Kette (Polymerisationsgrad)
N_c	Zahl der Segmente zwischen zwei Knoten eines Netzwerks
N_m, N_l	Zahl der Monomere bzw. Lösungsmittel-Moleküle in einer Lösung
φ_m, φ_l	Volumenbrüche der Monomere, Lösungsmittelmoleküle

ρ_m	Massendichte der Polymere (Masse/m ³)
R_f	Flory-Radius

24.10

Literatur

- 1 Gennes, P.G.D. (1979) Scaling concepts in polymer physics. Cornell University Press, Cornell.
- 2 Doi, M., Edwards, S.F. (1988) The theory of polymer dynamics. Nachdruck. Oxford University Press, Oxford.
- 3 Rubinstein, M., Colby, R.H. (2003) Polymer physics. Oxford University Press, Oxford.
- 4 Kratky, O., Porod, G. (1949), „Röntgenuntersuchung gelöster Fadenmoleküle.“ *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.* **68**, 1106-1123.
- 5 Landau, L.D., Lifschitz, E.M. (1987) Statistische Physik, in Lehrbuch der theoretischen Physik, Bd. 5 Akademie-Verlag Berlin.
- 6 Wilhelm, J., Frey, E. (1996) Radial distribution function of semiflexible polymers. *Phys. Rev. Lett.*, **77**, 2581–2584.
- 7 Onsager, L. (1949) The effects of shape on the interaction of colloidal particles. *New York Academy Sciences Annals*, **51**, 627–659.
- 8 Borukhov, I., Bruinsma, R.F., Gelbart, W.M., Liu, A.J. (2001) Elastically driven linker aggregation between two semiflexible polyelectrolytes. *Phys. Rev. Lett.*, **86**, 2182–2185.
- 9 Hill, T.L. (1988) An introduction to statistical thermodynamics. Neue Ausgabe, Dover Publ. Inc. New York
- 10 Becker, R. (1961) Theorie der Wärme, Springer Verlag, Heidelberg
- 11 Vollrath, F. (1992) Spider, webs and silk. *Scientific American* **266**, 46-52
- 12 Manning, G.S. (1969) Limiting laws and counterion condensation in polyelectrolyte solutions I. colligative properties. *Journal of Chemical Physics*, **51**, 924–933.
- 13 Odijk, T., Houwaart, A.C. (1978) On the theory of the excluded-volume effect of a polyelectrolyte in a 1-1 electrolyte solution. *Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition*, **16**.

24.11

Weiterführende Literatur

- Ziman, J.M. (1979) Models of Disorder. Cambridge University Press.
 Eine sehr gut geschriebene Einführung in die Physik amorpher Materialien und komplexer Flüssigkeiten.