Contents

Auflistung der Lösungsvorschläge **1**

Lösungsvorschläge **7**

Aufgabe 1.1: 7
Aufgabe 1.2: 7
Aufgabe 2.1: 8
Aufgabe 3.1: 8
Aufgabe 3.2: 9
Aufgabe 3.3: 9
Aufgabe 3.4: 10
Aufgabe 3.5: 11
Aufgabe 3.6: 12
Aufgabe 3.7: 12
Aufgabe 3.8: 12
Aufgabe 4.1: 13
Aufgabe 5.1: 13
Aufgabe 5.2: 13
Aufgabe 6.1: 14
Aufgabe 6.2: 14
Aufgabe 6.3: 14
Aufgabe 6.4: 14

Aufgabe 7.1: 15
Aufgabe 7.2: 15
Aufgabe 7.3: 16
Aufgabe 7.4: 16
Aufgabe 7.5: 16
Aufgabe 7.6: 17
Aufgabe 7.7: 17
Aufgabe 8.1: 18
Aufgabe 8.2: 19
Aufgabe 8.3: 19
Aufgabe 8.4: 20
Aufgabe 8.5: 20
Aufgabe 8.6: 21
Aufgabe 8.7: 22
Aufgabe 8.8: 22
Aufgabe 9.1: 22
Aufgabe 9.2: 26
Aufgabe 9.3: 27
Aufgabe 9.4: 28
Aufgabe 9.5: 30
Aufgabe 9.6: 31
Aufgabe 9.7: 33
Aufgabe 10.1: 38
Aufgabe 10.2: 41
Aufgabe 10.3: 44
Aufgabe 10.4: 46
Aufgabe 10.5: 46
Aufgabe 10.6: 49
Aufgabe 10.7: 50

Aufgabe 10.8: 53
Aufgabe 10.9: 55
Aufgabe 10.10: 58
Aufgabe 11.1: 61
Aufgabe 11.2: 63
Aufgabe 11.3: 65
Aufgabe 11.4: 68
Aufgabe 11.5: 69
Aufgabe 11.6: 70
Aufgabe 12.1: 73
Aufgabe 12.2: 78
Aufgabe 12.3: 80
Aufgabe 12.4: 83
Aufgabe 12.5: 85
Aufgabe 13.1: 89
Aufgabe 13.2: 91
Aufgabe 13.3: 95
Aufgabe 14.1: 96
Aufgabe 14.2: 98
Aufgabe 14.3: 99
Aufgabe 14.4: 101
Aufgabe 14.5: 104
Aufgabe 15.1: 110
Aufgabe 15.2: 112
Aufgabe 15.3: 116
Aufgabe 16.1: 117
Aufgabe 16.2: 118
Aufgabe 16.3: 120
Aufgabe 16.4: 124

Aufgabe 17.1: 128
Aufgabe 18.1: 131
Aufgabe 18.2: 132
Aufgabe 19.1: 133
Aufgabe 19.2: 135
Aufgabe 19.3: 136
Aufgabe 19.4: 139
Aufgabe 19.5: 142
Aufgabe 20.1: 146
Aufgabe 20.2: 148
Aufgabe 21.1: 151
Aufgabe 21.2: 151
Aufgabe 21.3: 156
Aufgabe 21.4: 158
Aufgabe 24.1: 160
Aufgabe 24.2: 162
Aufgabe 24.3: 163
Aufgabe 24.4: 164
Aufgabe 24.5: 169
Aufgabe 24.6: 170
Aufgabe 25.1: 171
Aufgabe 25.2: 174
Aufgabe 25.3: 177
Aufgabe 26.1: 187
Aufgabe 26.2: 191
Aufgabe 26.3: 194
Aufgabe 27.1: 195
Aufgabe 30.1: 198
Aufgabe 30.2: 202

Aufgabe 30.3: 205
Aufgabe 30.4: 210
Aufgabe 31.1: 213
Aufgabe 31.2: 215
Aufgabe 31.3: 216
Aufgabe 31.4: 219
Aufgabe 31.5: 220
Aufgabe 31.6: 221
Aufgabe 31.7: 223
Aufgabe 31.8: 225
Aufgabe 31.9: 227
Aufgabe 31.10: 230
Aufgabe 32.1: 231
Aufgabe 32.2: 232
Aufgabe 32.3: 234
Aufgabe 32.4: 238
Aufgabe 32.5: 241
Aufgabe 34.1: 242
Aufgabe 34.2: 244
Aufgabe 35.1: 249
Aufgabe 35.2: 252
Aufgabe 35.3: 255
Aufgabe 35.4: 257
Aufgabe 36.1: 263
Aufgabe 36.2: 264
Aufgabe 36.3: 267
Aufgabe 36.4: 269
Aufgabe 36.5: 270
Aufgabe 36.6: 272

Aufgabe 36.7: 274
Aufgabe 37.1: 276
Aufgabe 37.2: 277
Aufgabe 37.3: 279
Aufgabe 37.4: 281
Aufgabe 37.5: 282
Aufgabe 37.6: 283
Aufgabe 37.7: 285
Aufgabe 37.8: 286
Aufgabe 37.9: 287
Aufgabe 37.10: 288
Aufgabe 37.11: 290
Aufgabe 37.12: 290

Lösungsvorschläge

Aufgabe 1.1:

Masse $\propto L^3$

Fläche $\propto L^2$

Wärmeerzeugung: $\alpha L^3 = aM$

Wärmeverlust: $\beta L^2 = bM^{\frac{2}{3}}$

$aM = bM^{\frac{2}{3}}$

$a = bM^{-\frac{1}{3}}$

Aufgabe 1.2:

Bindungsenergie H-Brücke: $4\frac{kJ}{Mol}$

Mit $N_A \approx 6.0 \cdot 10^{23}$ und $eV \approx 4.6 \cdot 10^{-19} J$

Bindungsenergie H-Brücke pro Molekül: 14 meV

Bindungsenergie Salze:

$q_1 = -en$; $q_2 = +en$; $a = 0.3nm$; $\epsilon_0 \approx 8.86 \cdot 10^{-12}$

Coloumb-Wechselwirkung: $E = \frac{q^2}{4\pi\epsilon_0 a} = 4.79eV$

Aufgabe 2.1:

Bakterien verdoppeln sich alle 30 Minuten (Sterberate vernachlässigbar):

Anzahl(nach t Minuten) = $2^{\frac{t}{30}}$

Anzahl nach einem Tag: N = $2^{48} = 2.81 \cdot 10^{14}$

Bei $r = 0.5\mu m$ und Länge $l = 2\mu m$:

Gesamtvolumen $V = N\pi R^2 l \approx 4.42\dot{1}0^{-4}m^3 = 442cm^3$

Voraussetzungen: Genug Nährstoffe, Platz, keine Feinde oder Gifte

Aufgabe 3.1:

(Siehe 1.1.) Die Körpermasse skaliert mit der Größe L zur dritten Potenz, die Oberfläche mit der zweiten Potenz. Daher gilt für die Wärmeerzeugung im Körper $\frac{\Delta Q_P}{\Delta t} = aL^3 = \alpha M$ und für den Wärmeverlust $\frac{\Delta Q_V}{\Delta t} = bL^2 = \beta M^{\frac{2}{3}}$. Im Gleichgewicht sind beide Größen gleich. Daher gilt $\beta M^{\frac{2}{3}} = \alpha M$. Der Wärmeverlust pro Fläche ist für alle Tierarten gleich, da sie ähnliche Körpertemperaturen haben. Deswegen können wir die gesuchte Abhängigkeit des spezifischen Grundumsatzes berechnen: $\alpha = \beta M^{-\frac{1}{3}}$; wir erwarten also für den gesamten Grundumsatz ein Skalengesetz $\frac{\Delta Q_P}{\Delta t} \propto M^{\frac{2}{3}}$.

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

Aufgabe 3.2:

$dU = \delta Q + \delta A = TdS + \delta A$

$dG = d(U - TS + pV) = TdS + \delta A - TdS - SdT + pdV - Vdp$

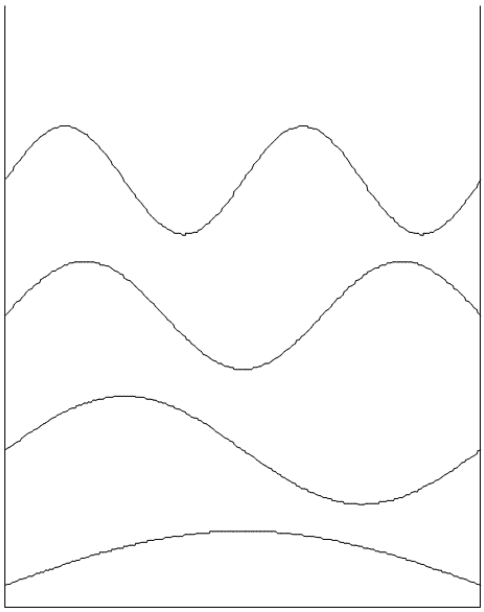
Die am System geleistete mechanische Arbeit wird aufgeteilt in die Volumenarbeit und in den Rest $\delta\omega^*$: $\delta A = -pdV + \delta\omega^*$
Somit ergibt sich:

$dG = \delta\omega^* - SdT - Vdp$

Isotherm und isobar gilt: $dG = \delta\omega^*$

Aufgabe 3.3:

Das Problem kann entlang jeder Raumrichtung als Teilchen in einem unendlich tiefen Potentialkasten beschrieben werden. Die Eigenzustände hierzu sind stehende Wellen mit Knoten an den Wänden.



Sei die Breite des Kastens a, so gilt $n\frac{\lambda}{2} = a$ wobei λ die Wellenlänge der stehenden Welle und n die Quantenzahl des Zustands ist. Dies führt zu den erlaubten Wellenvektoren der stehenden Welle von $k_n = \frac{\pi}{a}n$. Die dazugehörigen Energien sind gegeben durch $E_n = \frac{\hbar^2 k_n^2}{2m}$, wobei hier $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ mit dem Plankschen Wirkungsquantum h gilt und m die Masse eines Atoms symbolisiert. Aus der Forderung, dass die Energie des Quantenzustands der mittleren thermischen Energie entsprechen soll, ergibt sich folgende Gleichung $\frac{k_B T}{2} = \frac{h^2 n^2}{8ma^2}$. Diese kann trivial nach n aufgelöst werden. Einsetzen der Naturkonstanten sowie des Molekulargewichts von Argon ($39.95\frac{g}{Mol}$) liefert $n = 5 \cdot 10^8$.

Aufgabe 3.4:

Hier müssen wir vom dreidimensionalen Fall ausgehen, um die Zustandsdichte der Einatomzustände zu berechnen. Die Zustände mit Energie kleiner E_0 liegen im Impulsraum innerhalb einer Kugel mit Radius k_0.

$E_0 = \frac{\hbar^2 k_0^2}{2m} \rightarrow ||\vec{k_0}|| = \sqrt{\frac{2mE_0}{\hbar^2}}$

Wieder müssen die Eigenzustände ebene Wellen sein mit Knoten an der Wand des Kubus. Dies ergibt $\vec{k} = \frac{\pi}{a}\binom{l}{m}_n$ mit beliebigen ganzen Zahlen l, m und n. Keine der Zahlen darf 0 sein, aber dieser eine ausgeschlossene Zustand spielt hier keinerlei Rolle. Ein Volumen von $(\frac{\pi}{a})^3$ im Impulsraum enthält also genau einen erlaubten Zustand. Somit kann die Zahl N_0 der Zustände mit Energie kleiner E_0 angegeben werden zu:

$N_0 = \frac{4\pi}{3}k_0^3\frac{a^3}{\pi^3} = \frac{4\pi}{3}(2mE_0)^{\frac{3}{2}}(2\frac{a}{h})^3$

Die Dichte der Zustände bei E_0, g(E_0), ist gegeben durch $g(E_0) = \frac{\partial N_0}{\partial E_0}$. Am Ende ergibt sich $g(E_0) = 2\pi(2m)^{\frac{3}{2}}E_0^{\frac{1}{2}}(2\frac{a}{h})^3$

Einsetzen der Energie von $\frac{3}{2}k_B T$ (mittlere thermische Energie eines Atoms in drei Dimensionen) und der Molekularmasse von Argon ($39.95\frac{g}{Mol}$), sowie der notwendigen Naturkonstanten liefert eine Zustandsdichte von $6.6 \cdot 10^{47}\frac{1}{J}$.

Einem Temperaturintervall von $\Delta T = 1\mu K$ entspricht ein Energieintervall von k_B T. Die Zahl der Zustände ist einfach gegeben durch die Breite des Energieintervalls mal der Zustandsdichte. Einsetzen der entsprechenden Zahlen liefert $9.1 \cdot 10^{18}$ Zustände für ein einzelnes Argonatom in diesem sehr kleinen Temperaturintervall.

Der 1 cm^3 enthält bei Atmosphärendruck $2.7 \cdot 10^{19}$ Atome. Zur Berechnung der Zustandszahl des Gesamtsystems in diesem Temperaturintervall müssten wir die Zahl der Zustände des einzelnen Atoms mit der Zahl der Atome potenzieren. Da die Zahl der Zustände schon sehr viel größer ist als die Zahl der Atome, können wir Mehrfachzählungen vernachlässigen. Es ergibt sich für den dekadischen Logarithmus der Zahl der Zustände des Gesamtsystems $5 \cdot 10^{20}$. Die Anzahl der Zustände des Gesamtsystems ist also gegeben durch eine Zahl mit $5 \cdot 10^{20}$ Nullen.

Aufgabe 3.5:

Für diesen Beweis benutzen wir am Einfachsten die quasiklassische Näherung

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

Der Erwartungswert von ax_n^2 ergibt sich zu

$$\left\langle a{x_n}^2 \right\rangle = \frac{\int a{x_n}^2 \frac{\exp\left(-\frac{H(p,q)}{k_B T}\right)}{N! h^{3N}} d^{3N}p d^{3N}q}{\int \frac{\exp\left(-\frac{H(p,q)}{k_B T}\right)}{N! h^{3N}} d^{3N}p d^{3N}q}$$

wegen der Beziehung $H(x_1, x_2, ..., x_{n-1}, x_n) = H_1(x_1, x_2, ..., x_{n-1}) + a{x_n}^2$ zerfallen beide Integrale in Produkte aus jeweils einem Term der von x_n unabhängig ist und einem der nur von x_n abhängt. Die von x_n unabhängigen Faktoren in Zähler und Nenner sind identisch, sodass sich ergibt:

$$\left\langle a{x_n}^2 \right\rangle = \frac{\int a{x_n}^2 \exp\left(-\frac{a{x_n}^2}{k_B T}\right) dx_n}{\int \exp\left(-\frac{a{x_n}^2}{k_B T}\right) dx_n}$$

Dies sind einfache Gaussche Integrale, aus denen sich sofort das Ergebnis $\left\langle a{x_n}^2 \right\rangle = \frac{k_B T}{2}$ ergibt.

Aufgabe 3.6:

Thermische Wellenlängen von $N_2(m_{N_2} = 28u), O_2(m_{O_2} = 32u), Ar(m_{Ar} = 40u)$ bei T=273 K

$\lambda_t h = \frac{h}{\sqrt{2\pi m k_B T}}$

$\longrightarrow \mu_{chem} = k_B T \cdot ln(\frac{N}{V}\lambda_t h^3)$

$F = -k_b T ln(Z) = -k_B T \cdot ln(\frac{1}{Nh^{3N}}[(2\pi m k_B T)^{\frac{3}{2}}(V - Nb')e^{\frac{Na'}{Vk_B T}}]^N)$

Isothermen (bei $T = const, V_0 > V_1, N = const$)

Aufgabe 3.7:

Ausgehend von dem VdW Gesetz:

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

Werte:

Argon: a'=1.36 $\frac{atml^2}{mol^2}$, b'=0.0322 $\frac{l}{mol}$

Wasser: a'=5.54 $\frac{atml^2}{mol^2}$, b'=0.0305 $\frac{l}{mol}$

Isothermen bei hohen T und kleinen n ähnlich dem idealen Gas.

Aufgabe 3.8:

Einsetzen der Werte in Gleichung (3.43) liefert den gesuchten Druckunterschied von 415 kPa. Dies entspricht ungefähr dem vierfachen Atmosphärendruck! Gleichung (3.17) für den Laplacedruck liefert die gesuchte mechanische Oberflächenspannung von 0.62 $\frac{N}{m}$. Größere mechanische Oberflächenspannungen führen zu sofortigem Zerplatzen der Membran.

Aufgabe 4.1:

Kugelvolumen= $\frac{4}{3}\pi r^3$

Bei 200nm/500nm Durchmesser $\longrightarrow V = 419nm^3/1047nm^3$

$pH = 5 = -log(\frac{[H]}{mol}) \longrightarrow [H] = 10^{-5}\frac{mol}{l}$

$N = V * [OH]$ = Unter 1?

Aufgabe 5.1:

Siehe: http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/d16/16j.htm

Aufgabe 5.2:

153/154 Aminosäuren (davon etwa 75 % in helikaler Struktur). In der Mitte schützt der hydrophobe Kern (Val,Leu,Met,Phe) die Häm Gruppe vor Wasser.

Sequenz: GLSDGEWQLVLNVWGKVEADIPGHGQEVLIRLFKGHPETLEKFDKFKHL
KSEDEMKASEDLKKHGATVLTALGGILKKKGHHEAEIKPLAQSHATKHK
IPVKYLEFISECIIQVLQSKHPGDFGADAQGAMNKALELFRKDMASNYK
ELGFQG

Anzahl negativ geladener AS (ASP+GLU): 22

Anzahl positiv geladener AS (ARG+LYS): 22

$\longrightarrow$ neutral

Aufgabe 6.1:

Mit Programm 'herumspielen'.

Aufgabe 6.2:

$R_i(Na) = 102pm$, $R_i(K) = 138pm$, $R_i(Cl) = 181pm$ (Tab 6.4) $\epsilon_r(Wasser) = 80$

NaCl Lösung:

Bornsche Selbstenergie:

W (Na)=$1.42 * 10^{-20} J \approx 0.38kT$

W (K)=$1.05 * 10^{-20} J \approx 0.28kT$

W (Cl)=$0.90 * 10^{-20} J \approx 0.24kT$

Abschirmlängen: $\kappa(1mM) = 926.52nm$, $\kappa(10mM) = 292.99nm$, $\kappa(100mM) = 92.65nm$

Aktivitätskoeffizient: $\gamma_i(1mM) =$, $\gamma_i(10mM) =$, $\gamma_i(100mM) =$

Aufgabe 6.3:

Chemisches Potential (Freie Enthalpie pro Teilchen) Unterschied von etwa $\Delta\mu \approx 2.8\frac{kcal}{mol}$ (Abstand zwischen vollen Punkten)

Bindungslänge zwischen zwei C Atomen: $\approx 150pm$

Aufgabe 6.4:

Aktivitätskoeffizient:

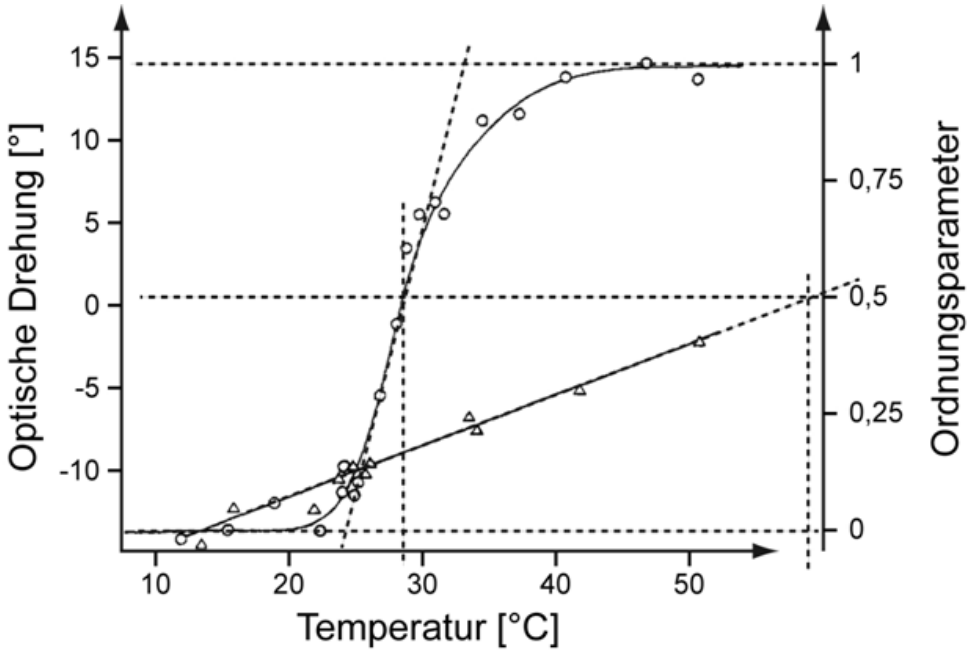
$\gamma_i = exp(-\frac{z_i^2 e^2 \kappa}{8\pi\epsilon_0\epsilon_r(1+\kappa R_i)k_B T})$

Noch zu machen.

Aufgabe 7.1:

(Programmieren)

Aufgabe 7.2:



Aus dieser Grafik können wir für das geringe Molekulargewicht ablesen TU=59°C und $\frac{d\Theta}{dT}\Big|_{T=T_U} = 0.011\frac{1}{K}$, sowie für das hohe Molekulargewicht TU=28.7^{o}C und $\frac{d\Theta}{dT}\Big|_{T=T_U} = 0.11\frac{1}{K}$. Daraus ergeben sich durch Einsetzen in Glg. 7.18 die Größen der kooperativen Einheit 83 (hohes Molekulargewicht) und 9.8 (niedriges Molekulargewicht). Für unendlich lange Ketten sollte die kooperative Einheit 100 betragen. Das hohe Molekulargewicht liefert im Rahmen der Mess-

fehler diesen Wert, beim niedrigen Molekulargewicht ist die Kooperativität durch die endliche Länge der Kette limitiert.

Aufgabe 7.3:

(Programmieren)

Aufgabe 7.4:

Ausgehend von Gleichung 7.22: $\Theta\left(p_{ox}\right) = \frac{p_{ox}}{p_{1/2}+p_{ox}}$ erhalten wir:

$$\Delta\Theta = \Theta\left(p_1 = 100\text{Torr}\right) - \Theta\left(p_1 = 20\text{Torr}\right) = \frac{p_{1/2}\cdot 80\text{Torr}}{\left(p_{1/2}+100\text{Torr}\right)\left(p_{1/2}+20\text{Torr}\right)}$$

Ableitung von $\Delta\Theta$ nach $p_{\frac{1}{2}}$ und suchen der Nullstelle liefert als effizienteste Affinität des Proteins $p_{max} \approx 44.7$ Torr. Bei dieser Affinitätskonstante beträgt $\Delta\Theta$ rund 38.2 %.

Aufgabe 7.5:

$r(t+\delta t) = r(t) + v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2$ ist bereits die zeitliche Taylorreihe der Ortskoordinate bis einschließlich quadratischer Terme. In $v(t+\delta t) = v(t) + \frac{1}{2}\delta t\left(a(t) + a(t+\delta t)\right)$ kann der Term $(a(t) + a(t+\delta t))$ folgendermaßen umgeformt werden:

$$\begin{aligned}
&(a(t) + a(t+\delta t)) = a\left(t + \tfrac{\delta t}{2} - \tfrac{\delta t}{2}\right) + a\left(t + \tfrac{\delta t}{2} + \tfrac{\delta t}{2}\right) \\
&\approx a\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) - \tfrac{\delta t}{2}\dot{a}\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \tfrac{1}{2}\left(\tfrac{\delta t}{2}\right)^2\ddot{a}\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \ldots + a\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \tfrac{\delta t}{2}\dot{a}\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \tfrac{1}{2}\left(\tfrac{\delta t}{2}\right)^2\ddot{a}\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \ldots \\
&= 2a\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right) + \left(\tfrac{\delta t}{2}\right)^2\ddot{a}\left(t + \tfrac{\delta t}{2}\right)
\end{aligned}$$

Ein Punkt über einem Symbol bedeutet einfach Zeitableitung, zwei Punkte doppelte Zeitableitung. Da diese Nomenklatur auf Newton zurückgeht, ist sie hier angebracht. Da der

Beschleunigungsterm bereits mit δt multipliziert wurde ist insgesamt der erste vernachlässigte Term von der Größenordnung δt^3.

Aufgabe 7.6:

Die Schrittweite geht hier sehr empfindlich ein. Bei zu großer Schrittweite wird die Lösung insgesamt instabil. Je größer die Anfangsamplitude ist, desto mehr spielt die Nichtlinearität eine Rolle. Daher werden hier deutlich kleinere Schrittweiten nötig.

Aufgabe 7.7:

Populationsinhomogenität: Wir müssen hier zwei völlig getrennte kinetische Prozesse betrachten. Es ergibt sich im i-ten Puls folgende Kinetik:

$N(t) = N_{0,i} e^{-k_a t}$

Es seien N_0 Moleküle in der Probe und so viele werden auch im ersten Blitz angeregt, zum Zeitpunkt des nächsten Blitzes sind noch

$N(t) = N_0 e^{-k_a w}$

nicht relaxiert und $N_0 - N_0 e^{-k_a w}$ Moleküle, d.h. ein Bruchteil von $1 - e^{-k_a w}$, können angeregt werden. Die Relaxation nach dem i-ten Puls beträgt also

$N(t) = N_0 \left[1 - e^{-k_a w}\right]^i e^{-k_a t}$

Die Population mit einer Rate, die wesentlich kleiner ist als die Wiederholungsrate der Blitze wird also mit jedem Puls deutlich schwächer, während eine Population mit einer Rate wesentlich größer als die Wiederholungsrate im Wesentlichen immer gleich beiträgt.

Falls jedes Molekül entweder mit Rate k1 oder k2 reagieren kann müssen wir noch eine

Wahrscheinlichkeit p annehmen, mit der das Molekül mit der Rate k1 reagiert. Nach dem ersten Puls reagiert das System gemäß

$N(t) = N_0 p e^{-k_1 t} + N_0 (1-p) e^{-k_2 t}$

Wir nehmen der Einfachheit halber an, dass $k_1 t$ sehr viel größer als 1 sei, daher stehen beim nächsten Puls

$N_0 - N_0 (1-p) e^{-k_2 w}$

Moleküle zur Absorption zur Verfügung. Bei jedem Blitz steht der gleiche Bruchteil an Molekülen vom vorherigen Blitz für die Relaxation zur Verfügung. Es ergibt sich also nach dem i-ten Blitz eine Relaxationskurve von $N(t) = N_0 q^i \left[p e^{-k_1 t} + (1-p) e^{-k_2 t} \right]$ mit $q = 1 - (1-p) e^{-k_a w}$

Da der Faktor q deutlich kleiner als eins ist, wird die Relaxation von Blitz zu Blitz schwächer. Es werden mehr und mehr Moleküle in den langlebigen Zerfallskanal getrieben.

Aufgabe 8.1:

1 Zacke $\rightarrow$ 3 Möglichkeiten

2 Zacken $\rightarrow$ 3^2 Möglichkeiten

...

m Zacken $\rightarrow$ 3^m Möglichkeiten

$3^m \geq 10^9$

$m \cdot log(3) = 9 \cdot log(10)$

$m \geq 9 \frac{log(10)}{log(3)} \approx 18.86$

Bei 5 Höhen:

$m \geq 9 \frac{log(10)}{log(5)} \approx 12.88$

Aufgabe 8.2:

8.4? $-\frac{dp}{dF} = \frac{k_F}{\dot{f}p(F)}$?

Aufgabe 8.3:

Der Ort des Massenpunkts sei x. Dann gilt

$G(x, x_0) = \frac{k}{2}(x - x_0)^2 - f_1 x$

Die nicht-normierte Wahrscheinlichkeitsdichte $w(x, x_0)$ ist dann gegeben durch

$w(x, x_0) = \exp\left(-\frac{G(x,x_0)}{k_B T}\right)$

die normierte Wahrscheinlichkeitsdichte w_n lautete dann

$w_n(x, x_0) = \sqrt{\frac{k}{2\pi k_B T}} \exp\left(-\frac{(kx - kx_0 - f_1)^2}{2kk_B T}\right)$

Mit dieser Wahrscheinlichkeitsdichte ergeben sich die folgenden Mittelwerte:

$\langle x \rangle = \int\limits_{-\infty}^{\infty} x w_n(x, x_0) dx = x_0 + \frac{f_1}{k}$

$\left\langle x^2 \right\rangle = \int\limits_{-\infty}^{\infty} x^2 w_n(x, x_0) dx = \left(x_0 + \frac{f_1}{k}\right)^2 + \frac{k_B T}{k}$

und daraus die Varianz:

$\left\langle x^2 \right\rangle - \langle x \rangle^2 = \frac{k_B T}{k}$

Für k=1.7 $\frac{\mu N}{m}$ ergibt sich als Wurzel aus der mittleren quadratischen Verschiebung 48 nm, das System mittelt also wirklich über viele Basenpaare. Alternativ zu der Herleitung über die Wahrscheinlichkeitsdichte, die auf ein komplizierteres Potential als eine schräge Rampe ausgedehnt werden kann, kann man das Endergebnis auch direkt aus dem Gleichverteilungssatz der Thermodynamik ablesen: Auch eine durch eine Kraft ausgelenkte Feder ist ein harmonischer Freiheitsgrad, der im Mittel mit einer Energie von $\frac{k_B T}{2}$ angeregt ist.

Aufgabe 8.4:

Die Reibungskraft beträgt nach der Stokesschen Formel

$F = -6\pi\eta R v$

, daraus ergibt sich die Bewegungsgleichung

$m\frac{dv}{dt} + 6\pi\eta R v = 0$

mit der Lösung

$v(t) = v_0 \exp\left(-\frac{6\pi\eta R}{m} t\right)$

Die Abklingrate beträgt also

$k_R = \frac{6\pi\eta R}{m} = \frac{9\eta}{2\rho R^2}$

Der Vorfaktor $\frac{9\eta}{2\rho}$ beträgt für Wasser ungefähr $4.5 \cdot 10^{-6} \frac{m^2}{sec}$. Daraus ergeben sich folgende Abklingzeiten:

R	0.1m	0.5 μm	3 nm	0.15 nm
k_R^{-1}	2200 s	55 ns	2 ps	5 fs

Die mittlere Bewegung von Proteinen und kleinen Molekülen ist also in guter Näherung überdämpft.

Aufgabe 8.5:

Völlig analoge Rechnung zu der im Text. Die Stärke der fluktuierenden Kraft ist unverändert.

Aufgabe 8.6:

a) **Notwendige zeitliche Auflösung:** Messung einer Größe mit der zeitlichen Auflösung Δt anstelle des Funktionswerts bei t das Integral der Funktion von t bis Δt gemessen wird. Daraus leitet sich auf zweierlei Wegen die Frequenzauflösung der gemessenen Funktion her. Nach dem Nyquist-Theorem enthält eine Funktion, die mit Zeitauflösung Δt gemessen wird nur Frequenzanteile bis zur Kreisfrequenz $\frac{\pi}{\Delta t}$. Die gemittelte quadratische Verschiebung des harmonischen Oszillators ergibt sich aus dem Integral über das Leistungsspektrum der Verschiebungen, d.h. $\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{1}{T_D} \int\limits_{-\infty}^{\infty} |\tilde{x}(\omega)|^2 d\omega$. Damit die gemessene Verschiebungen auch den gesamten spektralen Anteil abdecken, muss $\frac{\pi}{\Delta t}$ sehr viel größer sein, als die Kreisfrequenz $\omega_1 = \sqrt{\left|\omega_0{}^2 - \Gamma^2\right|}$ des Brownschen Oszillators.

Anstelle der Verwendung des Nyquist-Theorems kann man sich auch die endliche zeitliche Auflösung der Messung durch Faltung des Signals mit einer Filterfunktion fi(t) entstanden denken. Für diese Filterfunktion gilt $fi(t) = \frac{1}{\Delta t}$ falls $|t| < \Delta t/2$ und $fi(t) = 0$ sonst. Die Fouriertransformierte der gemessenen Funktion ist dann das Produkt der Fouriertransformierten des 'echten' Signals und derjenigen der Filterfunktion. Die Fouriertransformierte der Filterfunktion ist gegeben durch $(\omega) = \sqrt{2/\pi}\frac{\sin(\omega\Delta t/2)}{\omega\Delta t}$ Multiplikation mit diesem Spektrum verfälscht das Spektrum des Brownschen Oszillators nur dann nicht, falls $\Delta t << 1/\omega_1$.

b) **Notwendige Mittelungsdauer:** Eine Messung über die Zeitdauer t_D kann nur als periodisch fortgesetztes Signal fouriertransformiert werden. Anstelle des Fourierintegrals wird also eine Fourierreihe bestimmt, d.h. das Spektrum ist nur bei diskreten Frequenzen bestimmbar. Diese Frequenzen sind die Vielfachen von $\frac{2\pi}{t_D}$. Damit das Spektrum richtig wiedergegeben wird, d.h. also auch sein Integral korrekt bestimmt werden kann, muss dieses Frequenzintervall viel kleiner sein, als alle charakteristischen Frequenzen im Spektrum des Brownschen Oszillators. Für nicht-überdämpfte Brownsche Oszillatoren ist die Breite der Resonanz die schmalste Struktur im Leistungsspektrum. Die Breite dieser Resonanz ist Γ, d.h. hier muss $t_D >> \Gamma^{-1}$ sein. Beim überdämpften Brownschen Oszillator gibt es nur eine charakteristische Frequenz, diese ist gegeben durch $\frac{k}{\lambda}$. Hier muss das Auflösungsintervall Δt viel kleiner sein, als $\frac{\lambda}{k}$ und die Messdauer

t_D viel größer.

Aufgabe 8.7:

Siehe 2) falls die Messung der Fluktuationen zu langsam ist, wird die Auslenkung unterschätzt (Fluktuationen werden wegintegriert), die Steifheit also überschätzt. Falls die Messdauer zu kurz ist, werden die Fluktuationen ebenfalls unterschätzt, da der Mittelwert der gemessenen Positionen des Oszillators nicht der Ruhelage des Oszillators entspricht und ein Teil der Fluktuationen somit entfernt wird. Die Steifheit wird hier also auch überschätzt. Falls die Messtechnik schnell genug und die Messdauer lang genug ist, wird die Steifheit normalerweise unterschätzt, da sämtliche Unsicherheiten der Messung das Rauschen des Signals vergrößern.

Aufgabe 8.8:

a) bei N_{ij} AS:

$\Delta L = |(N * 0.365nm) - \sum_{ij} \vec{r_{ij}}|$?

b) [Dietz]

c) [3]

d) [4]

Aufgabe 9.1:

a) **Bildung von Kohlensäure:** Der durch das Blut transportierte Sauerstoff wird im Muskel durch Austausch zwischen Blutkapillaren und Muskelzellen abgegeben. Er dient dort zur ATP-Erzeugung durch den aeoroben Metabolismus in den Mitochondrien.

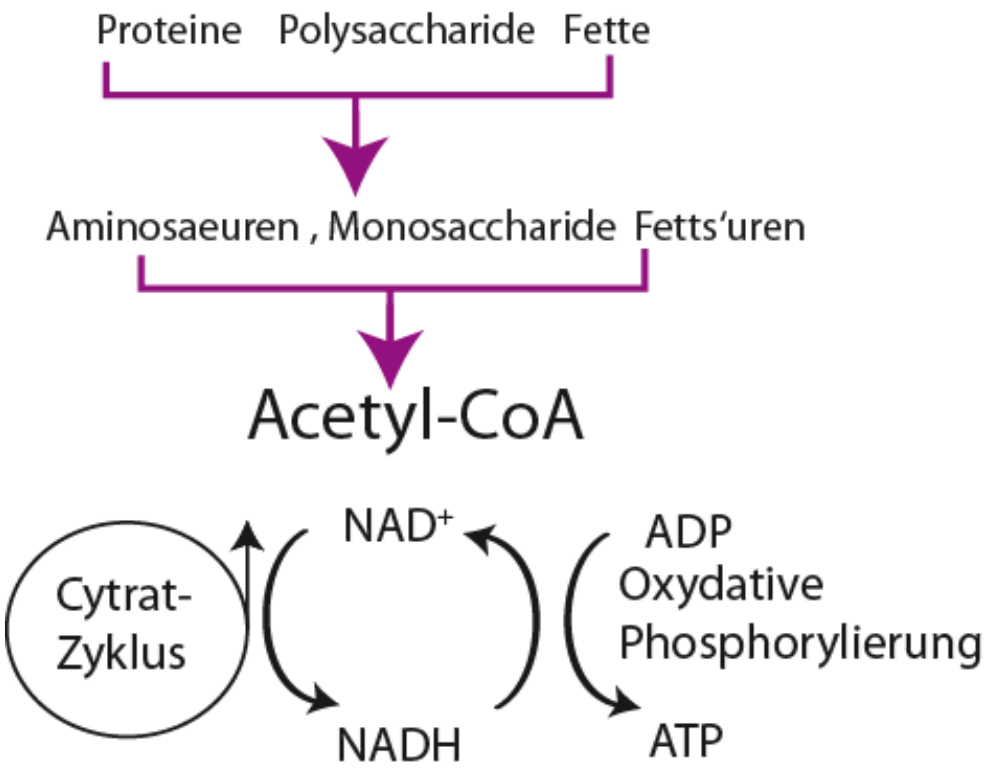
Dort laufen zwei Prozesse ab: Der Zitratsäure-Zyklus (auch Krebszyklus genannt) und die oxidative Phosphorylierung in der Elektronen-Transferkette (= Atmungskette).

Zellen produzieren CO_2 im Krebszyklus der zu dem Ausgangsprodukt der Elektronen-Transfer-Kette Pyruvat führt, und zwar nach der folgenden pauschalen Reaktion:

$$Pyruvat + CoA + NAD^+ \longrightarrow AcCoA + CO_2 + NAD + H^+$$

Zur Erinnerung: Im oxidativen Metabolismus wird ATP durch 'kalte Verbrennung' der Nahrungsmittel erzeugt. Diese werden zuerst in kleinere Moleküle abgebaut, ein Katabolismus genannter Prozess. Dabei entsteht das Co-Enzym Acetyl (CoA). Dieses wird im Citratzyklus weiterverarbeitet, der wie die oxidative Phosphorylierung (Atmungskette) in den Mitochondrien stattfindet. Das wichtigste Endprodukt des Citratzyklus ist das NADH, welches als protonenreiches Ausgangsprodukt der oxydativen Phosphorylierung dient.

Man kann den Prozess durch das folgende Schema charakterisieren.



Der Zitratzyklus kann als der dritte von vier Schritten im Kohlenhydrat-Katabolismus betrachtet werden. Er findet nach der Glykolyse und der oxidativen Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA, jedoch vor der Endoxidation in der Atmungskette, statt.

Weitere Information:

In den Erythrozyten wird CO_2 zu Kohlensäure hydratisiert.

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$$

Diese dissoziiert in H^+ und HCO_3^-, das Bikarbonat (oder oft Hydrogen-Bicarbonat) genannt wird. Letztere wirkt als Base. Das Kohlensäure-Bicarbonat-Paar spielt eine wichtige Rolle

zur Pufferung des Blutes. Wenn dieses nicht sauer genug ist, dissoziiert Kohlensäure und setzt Protonen frei.

Unter normalen Bedingungen binden die Protonen an Hämoglobin, während das Bicarbonat im Austausch gegen Chlorionen in das Blut-Plasma geht.

b) **Giftigkeit von CO:** Wir betrachten die chemischen Gleichgewichte

$CO + Hb \longrightarrow COH$ und $O_2 + Hb \longrightarrow OH$

Dabei sind [CO] und [O_2] die Konzentrationen der Gase im Blut. Die Aufnahme eines Gases aus Luft durch Zellen oder Hämoglobin im Blut hängt vom Löslichkeitskoeffizient ab. Es gilt das Henry-Dalton Gesetz. Nach diesem ist die Konzentration des Gases in der Lösung proportional zum Partialdruck (siehe Schmitt et al. Physiologie des Menschen, Kapitel 27.2):

$[Gas] = \frac{\alpha}{760} p_{Gas}$ (1)

wobei [Gas] die Konzentration des Gases in der Lösung und p_X der Partialdruck des Gases X ist. α ist der Löslichkeitskoeffizient der Gase. Die Zahl 760 steht im Nenner, weil p in Atmosphären angegeben wird. α hat die Dimension $[\alpha]= \frac{\text{ml Gas}}{(\text{ml Lösungsmittel})_{atm}}$. Dabei wird der Druck gemessen in mm Hg:

Erinnerung: 1 mm Hg = 133.3 Pa. 1atm ≈ 10.1 Pa

Für die Abschätzung benutzen wir die bekannten Werte der Löslichkeiten in Wasser:

Die gesetzlich festgelegte Konzentration des CO in der Luft am Arbeitsplatz ist 0.003 Volumprozent. Bei 0.1 Volumprozent CO in Luft sind 50 % des Hämoglobins mit CO besetzt.

Stoff	Temperatur	Löslichkeit in Blut	Löslichkeit in Wasser
O_2	37° C	α=0.028	α= 0.02
CO_2	37° C	α=0.49	α= 0.57
N_2	37° C	α=0.012	α= 0.012
CO	37° C		$\alpha \approx 0.03$

Aus der Bindungskurve des O_2 folgt, dass 50% des Hb bei einem Partialdruck von $p_{O_2} \approx 23$ mm Hg besetzt sind. Daher ist das Verhältnis der Partialdrücke $\frac{p(O_2)}{p(CO)} \approx 230$.

Man muss nun noch Folgendes berücksichtigen: Die Löslichkeiten der Gase in Wasser (oder Blut) verhalten sich nach obiger Tabelle wie $\frac{[O_2]}{[CO]} = \frac{2}{3}$, d.h. O_2 ist schlechter löslich. Wir müssen daher den Partialdruck des Sauerstoffes um den Faktor $\frac{3}{2}$ erhöhen, um die Gleichgewichte in Lösung zu vergleichen. Daher müssen sich die Konzentrationen in Wasser (oder im Blut) wie $\frac{[O_2]}{[CO]} = 230 \cdot \frac{2}{3}$ verhalten, um 50% des Hämoglobins zu besetzen. Aus diesem Grund ist das Verhältnis der Bindungskonstanten wie $\frac{K(CO)}{K(O_2)} = 360$.

Aufgabe 9.2:

Die Gaschromatographie ist (wie die Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie) eine Methode der Verteilungschromatographie. Sie erfordert die zerstörungsfreie Verdampfung der Substanzen, die durch einen Gasstrom (des Trägergases wie Helium) aufgenommen werden. Dieser wird durch ein bis zu 200 m langes mäanderförmig gebogenes Rohr (Innendurchmesser 0.1 bis 0.5 mm) geleitet. Dieses besteht aus Metall oder Quarzglas, welches sich in einem Thermostaten befindet. Die Trennung der Moleküle beruht auf der unterschiedlichen Adsorption der Moleküle auf Festkörperoberflächen, die vom Dampfdruck, von der Polarität oder der elektrischen Ladung der Moleküle abhängt. Treibt man ein Gemisch von Molekülen durch das Rohr, so

kommen diese zu verschiedenen Zeiten am Ende wieder heraus. Man kann die Moleküle durch Gasdetektoren in zeitlicher Folge beobachten.

Um die Art der Moleküle zu unterscheiden, geht man in der Regel empirisch vor. Jede Molekülsorte benötigt eine feste Zeit (die Retentionszeit), um das Trennrohr zu durchlaufen. Man eicht also die Säulen mit verschiedenen Substanzen, unter denen möglichst auch diejenige ist, die man nachweisen möchte. Häufig kennt man diese, wie z.B. beim Nachweis von Rauschgiften.

Man kann auch bekannte Regeln ausnutzen, wie das Raoultsche Gesetz. Dieses besagt: Je höher der Partialdampfdruck einer Substanz, umso länger hält sich die diese in der Gasphase auf, d. h. umso kürzer wird die Retentionszeit.

Aufgabe 9.3:

Glykoproteine entstehen durch Ankopplung von Zuckermolekülen an Seitengruppen von Aminosäuren und Glykosilierung erfolgt gewöhnlich post-translational. Zuckermoleküle (wie einzelne Zuckermoleküle, Di-Saccharide und Oligosaccharide) werden bevorzugt an Asparagin-, Serin-, Threonin- oder Hydroxylysin-Reste der Aminossäuren gebunden.

O-Glykosilierung:

Kopplung der Zuckerreste an Hydroxylgruppen von Serin, oder Threonin. Diese Kopplung erfolgt im Golgi-Apparat in einem mehrstufigen Prozess, wobei spezifische Enzyme die Glykosyl-Transferasen beteiligt sind. In jedem der Fraktionen findet ein anderer Prozess statt. Von Proteinen, die in Membranen eingebaut oder exportiert werden sollen, werden im cis-Golgi zwei Mannosereste entfernt. Die Glykoproteine, die für Lysosomen bestimmt sind, werden weiter modifiziert, indem im mittleren Golgi zwei weitere Mannosereste entfernt werden, und

N-Acetylglucosamin und Fucosereste angedockt werden. Schließlich können im trans-Golgi weiter N-Acetylglucosamin-Reste angefügt werden. Die Modifikation im Golgi konditioniert also die Glycoproteine für ihre spezifischen Aufgaben.

In diesem Zusammenhang sollte der interessierte Leser im Kapitel 9 die Rolle des Zuckerrests Mannose 6-Phosphat als Marker zum Transport der nur in sauerem Medium aktiven Enzyme in die Lysosomen betrachten.

N-Glykosilierung: N-glykosidische Bindung
Hier erfolgt die Bindung des Zuckers an den Stickstoff der freien Säureamid-Gruppe von Asparagin. Die N-Glykosylierung erfolgt im endoplasmatischen Retikulum (ER). Normalerweie wird der Zucker separat synthetisiert und über das lipidartige Molekül Dolichol an die, in das Lumen des ER zeigende, Peptidsequenz angedockt. Der Prozess ist in Abb. 9.9 dargestellt. Details findet man in der Monographie Berg et al. Biochemie 5. Auflage Ch 11.32. Die Proteine werden dann im Golgi-Apparat weiter modifiziert.

Aufgabe 9.4:

Vorbemerkung: Die Konzentrationen der Hormone im Körper sind sehr verschieden. Besonders niedrig sind die Werte für Insulin ($1.4 \cdot 10^{-10} M$) und Hämatopoetin (10^{-10} M), das Hormon, das die Produktion von Erythrozyten steuern. Wesentlich höher sind die Konzentrationen der Epinephrine (wie Adrenalin), die bei 10^{-7}M liegen.

Aus dem Verlauf der Bindungskurven der Hormone an Rezeptoren folgt: Um maximale Empfindlichkeit eines Hormons möglichst hoch einzustellen, muss die Konzentration der Hormone wesentlich kleiner sein als K_d, damit man im steil ansteigenden Bereich der Bindungskurven ist. Bei [I] $\approx$ 1,4 10^{-10} M sind 50 % der Rezeptoren besetzt. Bei einer

Erhöhung von [I] um einen Faktor 5 würde der Besetzungsgrad α nur auf 66 % steigen. Da die Empfindlichkeit der Hormonwirkung umso größer ist, je stärker die Änderung des Besetzungsgrades mit der Hormonkonzentration ist, nimmt diese mit dem Besetzungsgrad α ab. Eine genauere Betrachtung der Optimierung der Empfindlichkeit durch Anpssung der Rezeptordichte auf den Zellen findet man im Kapitel 9.10. des Buches.

Zur Lösung der Aufgabe betrachtet man das Bindungs-Gleichgewicht zwischen Rezeptor (R) und Ligand (I oder A). Die Dissoziationskonstante sei K_d und der Bruchteil gebundener Liganden α.

$R + L \longrightarrow C$
$K_d = \frac{[R][L]}{[C]}$
$\alpha_\xi = \frac{[C_\xi]}{[C_\xi]+[R]}$

Bei gleicher Besetzung von Rezeptor und Agonist gilt $\alpha_I = \alpha_A$. Daraus folgt:

$\frac{A}{I} = \frac{K_{dI}}{K_{dA}} = 150$

Daraus folgt, dass die Konzentration des Agonisten sehr viel höher sein muss, als die des Hormons um Nebenwirkungen zu zeigen.

Nebenwirkungen können aber auch hohe Konzentrationen natürliche Antagonisten des Insulinrezeptors bewirken. Beispiele sind Wachstumsfaktoren (z.B. IGF-1) Diese haben aber auch sehr viele größere Bindungskonstanten ($K_d \approx 10^{-7} M$).

Weitere Information findet man im Kapitel 9.10 und im Ch. 15 der Monographie von Lodish et al. Molecular Cell Biology.

Aufgabe 9.5:

Zusammenstellung der Ionenkonzentrationen:

Erythrozyten:

Außenraum: [K] = 20mM [Na] = 440mM

Zytoplasma: [K] = 150mM [Na] = 14 mM

Nervenzellen:

Außenraum [K] = 20mM [Na] = 440mM

Zytoplasma [K] = 400mM [Na] = 50mM

Für den Fall der Erythrozyten gilt:

$\Delta\mu_{Na} = k_B T ln \frac{[Na^+]_i}{[Na^+]_a} \approx 6 \frac{kJ}{mol}$

$\Delta\mu_K = k_B T ln(20) \approx 7.1 \frac{kJ}{mol}$

Da pro Elementarakt 3 Na^+ und 2 K^+-Ionen transportiert werden, wären etwa 36 $\frac{kJ}{Mol}$ zur Aufrechterhaltung des obigen stationären Gleichgewichtes notwendig. Die pro ATP frei werdende freie Energie ΔG liegt unter den üblichen physiologischen Bedingungen der Zelle bei -50 $\frac{kJ}{Mol}$ [Berg et al Biochemie].

Da nur eine Überschussladung (das dritte Na-Ion) entgegen dem elektrischen Feld verschoben werden muss, sind zusätzlich -6 meV notwendig, um gegen das elektrische Potential Arbeit zu leisten. Dies sind 0.6 $\frac{kJ}{Mol}$.

Für den Fall der Nerven:

Insgesamt sind für die Arbeit gegen den Konzentrationsgradienten 32 $\frac{kJ}{Mol}$ notwendig. Da 50 kJ verfügbar sind, würde die ATP Spaltung ausreichen, um gegen eine Spannung von 190 mV (entsprechend $18\frac{kJ}{Mol}$) zu arbeiten.

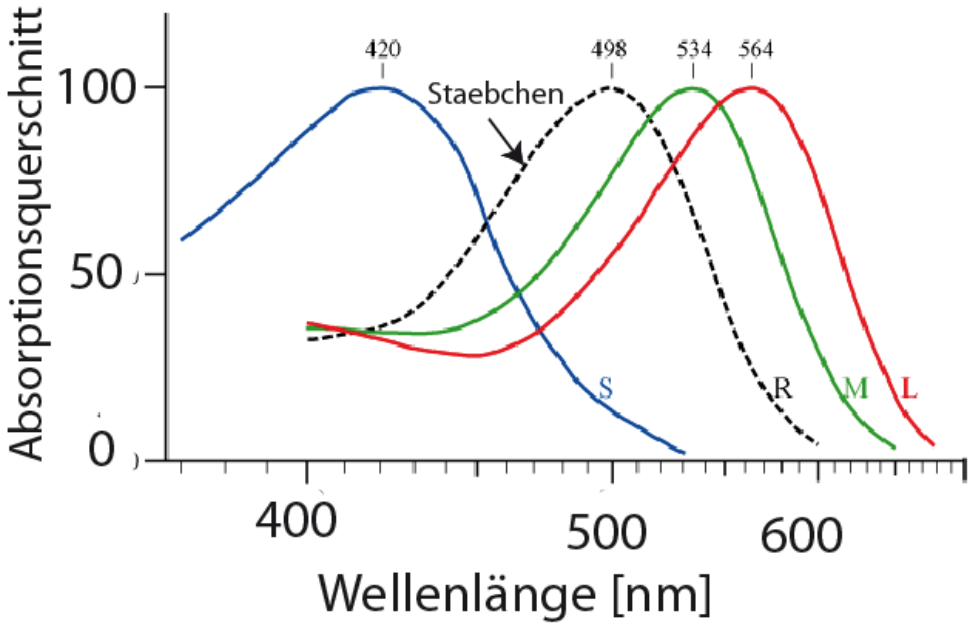
Merke: Bei der Abschätzung ist die Faustformel hilfreich, dass $k_BT \approx 25meV$ oder 2.4 $\frac{kJ}{Mol}$ ist.

Aufgabe 9.6:

Man betrachte dazu auch Abb. 9.15. Zum Problem der Farbwahrnehmung siehe auch: Schmidt. Physiologie des Menschen. Kapitel 16. [2] Nicholls et al 'From Neuron to Brain' Kapitel 19.

Frage 1:

Young und Helmholtz postulierten (lange vor der Entdeckung der Zellen) in ihrer Dreifarben-Theorie als erste, dass das Farbsehen auf der Überlagerung der Signale aus drei Arten von Rezeptoren besteht. Erst viel später (1964) entdeckte G. Wald, dass es sich bei den Rezeptoren um Zapfenzellen (Zapfen) und Stäbchenzellen (Stäbchen) handelt. Das menschliche Auge enthält drei Arten von Zapfen, die bei 420, 534 und 564 nm maximal absorbieren. Wie im Kapitel 9 gezeigt wurde, liegt das Maximum der Absorption des Rhodopsins der Stabzellen bei 498 nm (s. Abb. A.9.1).



Das menschliche Auge besitzt etwa 120 Millionen Stäbchen und 6 Millionen Zapfen. Die beiden Zellarten sind in der Netzhaut unterschiedlich verteilt. Die Zapfendichte ist besonders hoch (etwa 2000 000 $/mm^2$) in der sogenannten Fovea, einem Bereich der Netzhaut, in dem das Licht nicht durch die Bündel von Nervenleitern abgeschwächt wird. Die Stabzellen sind dagegen aus diesem Bereich ausgeschlossen. Da die Rezeptoren der Zapfen sehr viel weniger empfindlich sind, als die der Stäbchen, kann man Farben nur im Tageslicht sehen. Die Zapfen besitzen auch nicht die enorme Fähigkeit zur Dunkeladaption, wie die Stäbchen.

Frage 2:

Die relative Zahl der Zelltypen bestimmt auch, ob Tiere tag- oder nachtblind sind. Katzen besitzen sehr wenige Zapfen (etwa 1.6 % der Sehzellen) während beim Menschen der Prozentsatz bei 20 % liegt. Das Farbsehen der Katzen ist also stark eingechränkt. Sie sind aber nicht farbenblind (wie 0.01 % der Menschen). Andere Tiere wiederum übertreffen den Menschen beim Farbsehen. So haben viele Vögel noch Zapfen, deren Absorptionsmaximum im UV liegt (ca. 420 nm). Sie können daher mehrere blaue Farben unterscheiden, wo wir nur einen Farbton wahrnehmen.

Wer sich für die Verarbeitung der Farbinformation im Gehirn interessiert, sollte sich in dem Buch von Nicholls et al. beginnen.

Aufgabe 9.7:

Ca- Freisetzung, Ca-Wellen und Ca-Verteilung in Zellen.

a) **Bildung des Botenmoleküls IP3**

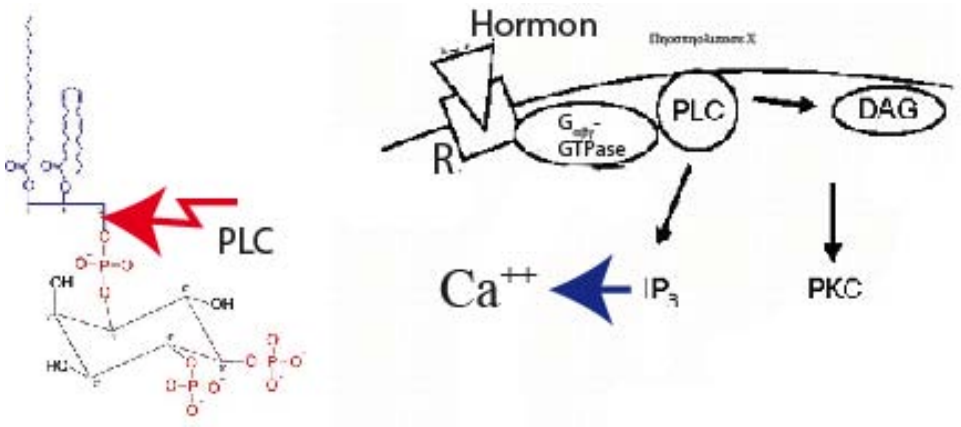
Vorbemerkung: IP3 ist ein Botenmolekül mit verschiedenen Aufgaben. Die wichtigste ist die Öffnung der Ca-Speichervesikel (das ER und Sarkoplasmatisches Retikulum) durch Bindung an spezifische Ca- Kanäle, die dadurch geöffnet werden. Freigesetztes Ca bindet seinerseits an den Rezeptor und induziert dessen Öffnung. Durch diese positive Rückkopplung wird der Ca-Ausfluss lawinenartig verstärkt. Zur Rückstellung des Ca- Spiegels auf den ursprünglichen Wert ($10^{-7}M$), wird IP3 durch Phosphatasen abgebaut und Ca wird aus der Zelle gepumpt.

Die positive Rückkopplung des Ca auf die Kanäle kann zur Ausbildung von zeitlichen Folgen aus impulsartigen Ca-Wellen führen, die sich über das Zytoplasma ausbreiten. Solche Wellen werden durch Hormone ausgelöst und der zeitliche Abstand der Ca-Impulse nimmt mit der Hormonkonzentration ab. Die Perioden sind von der Größenordnung 3^{-1} Minute (s. Alberts et al Ch 15). Die Impulsfolge wird während der ganzen Zeit der Bindung der Hormone an die Zelle aufrechterhalten. Die Funktion der Ca-Wellen ist unklar. Möglicherweise dienen sie dazu, Hormonsignale zu verstärken, ohne dass der Ca-Spiegel ständig über dem Ruhewert liegen muss.

IP3-Erzeugung: IP3 wird durch Abspaltung der Kopfgruppen von Inositioldiphosphaten (z.B.

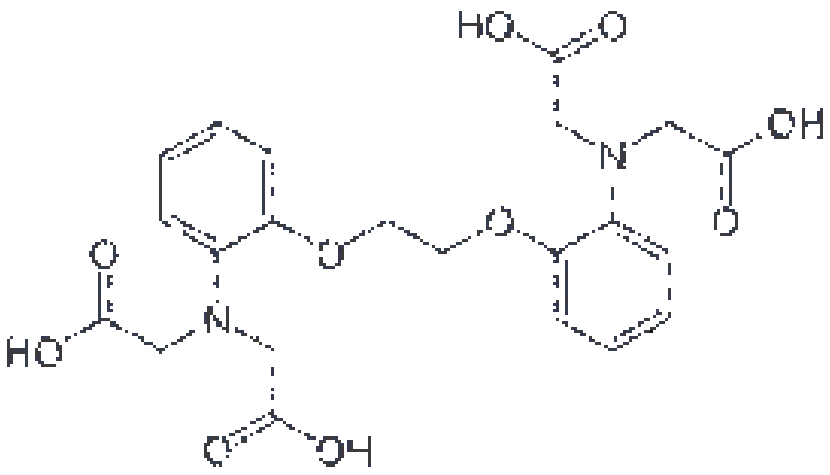
PI-4,5-P2) durch Phospholipase C erzeugt, nach dem im folgenden Bild (rechts) gezeigten Schema. Dabei entsteht gleichzeitig ein zweites Botenmolekül Diacylglycerol (DAG). Dieses aktiviert die Proteinkinase C (wobei C anzeigt, dass die Kinase nur in Anwesenheit von Ca arbeitet).

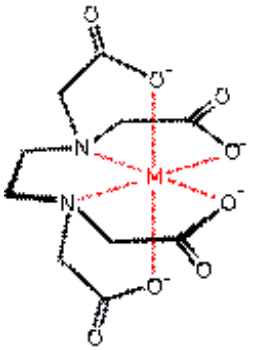
Aktivierung der Phospholipase C: Hier sind es zwei Wege. Der häufigste ist die Aktivierung der heterogenen GTPase $G_{\alpha\beta\gamma}$, (die wir bei der Besprechung der Hormonverstärker diskutierten) und der im rechten Bild unten gezeigt wird. Der zweite Weg erfolgt über die Klasse der Rezeptor-Tyrosin-Kinasen, (siehe Kapitel 9 Anhang):



b) **Intrazelluläre Lokalisierung des Ca**

Die derzeit wichtigsten Methoden basieren auf der Verwendung von Farbstoffsonden, die mit Ca- Ionen Komplexe (Chelate genannt) bilden. Ein besonders starker Komplexbildner ist BAPTA. Durch chemische Modifikation werden fluoreszierende Chromophore gebildet (wie Fura-2), deren Fluoreszenzquantenausbeute von der Ca-Bindung abhängt. Das folgende Bild zeigt die Bildung der Chelate durch Ausbildung von Koordinationsbindungen zwischen O^- und N-Gruppen.





Aequorin ist ein anderer wichtiger Ca-Indikator, da er in Gegenwart von Ca selbst leuchtend ist. Aequorin ist ein Protein aus Leuchtquallen. Im Protein ist ein Luziferin-Molekül eingelagert, das nach Zugabe von Lichtquanten von λ_{max} = 470 nm emittiert. Es heißt auch 'blau-fluoreszierende Protein'.

Das Experimente von Llinas an immunologischen Synapsen:

Ein schönes und wichtiges Beispiel ist die Beobachtung der spontanen Erhöhung der lokalen Ca- Konzentration im Zytoplasma der neuronalen Synapsen. Wie wir im Kapitel 14 sahen, wird die Erregung der postsynaptischen Membran durch Ausschüttung von Transmittern (wie Acetylcholin) in den synaptischen Spalt vermittelt; Und zwar durch Fusion der synaptischen Vesikel mit der präsynaptischen Membran, Die Fusion wird durch Einstrom von Ca-Ionen über die durch einen Spannungsimpuls geöffneten Ca -Kanäle getriggert (siehe dazu auch Aufgabe 14.5).

Ein schönes Experiment zum Beweis diese Hypothese stammt von Llinas et al (Science 256: p 677 (1992)). Dieses wurde an der Synapse des Riesenaxons des Tintenfisches durchgeführt, die größte bekannte neuronale Verbindung (s. Abb 9.7b). Sie dient zur Erregung der Muskeln,

welche den Wasserstrahl erzeugt, dessen Rückstoß die Tiere vorantreibt (s. Wikipedia Squid Giant Synapse). Es sind dieselben Axone, an denen Huxley und Hodgkin ihre bahnbrechenden Experimente durchführten.

Die aktiven Verbindung zwischen den Axonen wird durch Synapsen vermittelt, deren Struktur nicht sehr genau bekannt ist. Möglicherweise handelt es sich um krallenartige Verzweigungen, wie im Fall der Synapsen an der Muskelendplatte.

Abb. 9.7c zeigt die Verteilung der spontanen Fluoreszenz des Chromophoren. Jeder Leuchtfleck entspricht einer Synapse. Abb 9.7d zeigt die Ca-Verteilung bei hoher Auflösung, und zwar vor und nach Erregung der präsynaptischen Membran mit elektrischen Impulsfolgen. Man erkennt deutlich ringförmige Anhäufungen des Ions.

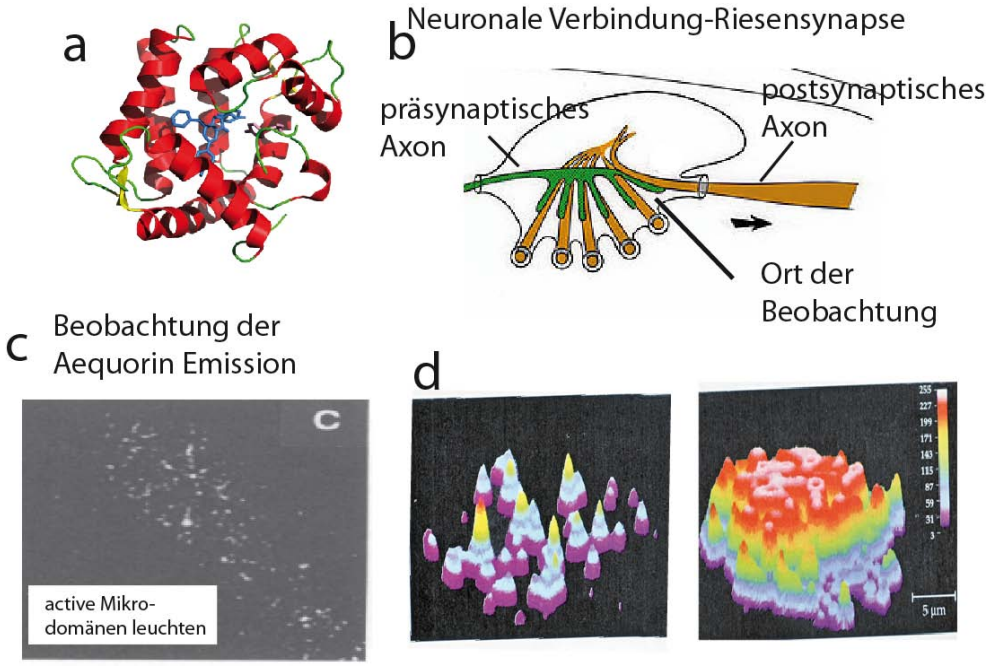


Figure 1: Abbildung 9.7: a) Struktur des Leuchtproteins Aequorin. b) Schema der Anordnung der Axone im Tintenfisch, die zur Erregung des Muskels dienen, mit denen die Tiere die der Fortbewegung dienenden Wasserstrahlen erzeugen. Beobachtet wird der Bereich der Verbindung der Axone (neuronal junction). c) Fluoreszenzbild der Verbindung. Die Leuchtpunkte zeigen die aktiven Verbindungen zwischen den Axonen an. d) Verteilung der Fluoreszenzintensität Links : Vor der Erregung. Rechts nach der Erregung des postsynaptischen Axons durch elektrische Impulsfolgen von 10 Hz.

Die Experimente liefern wichtige Informationen. Die mittleren Durchmesser der Domänen sind etwa 0.5 μm. Die Dichte der Domänen ist etwa $2\mu m^{-1}$ und etwa 10 % der Kontaktfläche zwischen der post-und der prä-synaptischen Membran ist mit Mikrodomänen besetzt. Diese sind stationär durch wiederholte Erregung festgestellt wurde. Die Ca- Konzentration wird während der Erregung auf 250 μM angehoben.

Ein interessanter Punkt ist die lange Lebensdauer der Ca-reichen Mikrodomänen von rund 200 msec. Sie bestimmen die Refraktärzeit, die durch Entfernung des fusionierten Vesikels

notwendig ist (s.Ch 11 in Nicholls 'From Neuron to Brain'). In Aufgabe 10.2 wird gezeigt, dass die lange Lebensdauer durch die Hysterese ladungsinduzierter Konformationsumwandlungen der Membranen bestimmt ist.

Eine wichtige Bemerkung: Im Kapitel 14 haben wir gelernt, dass an den Synapsen des Muskels viele mit Transmitter gefüllte Vesikel beteiligt sind. Dies liegt daran, dass die Acetylcholin-Rezeptor-Domänen der postsynaptischen Membran räumlich sehr ausgedehnt sind und die Dichte der Rezeptoren relativ klein ist (10 000 μm^{-2}). Im Falle der sehr kleinen Synapsen im Zentralnervensystem sind die rezeptorreichen Domänen der postsynaptischen Membran sehr klein (0.5μm) und die Dichte der Rezeptoren in viel größer (70 000 pro μm^2). Daher ist in der Regel nur ein Vesikel an der Signalübertragung beteiligt.

Aufgabe 10.1:

Lipid Monofilme:

(i) *Messung des Drucks mittels Wilhelmy Filmwaage:*
Diese besteht in der Regel aus einem Platinplättchen, das in den Trog eintaucht. Es wird durch Kapillarkraft aus dem Wasser gezogen. Die auf das Plättchen wirkende Kraft ergibt sich aus der Balance zwischen Gravitation und Kapillarkraft (Oberflächenspannung):

$$F = mg + 2\sigma(a + b)cos(\alpha) - \rho ghab$$

Dabei sind a: Dicke; b: Breite (a « b); h die in die Subphase eingetauchte Länge des Plättchens, g die Gravitationskonstante und ρ die Dichte der Flüssigkeit. In der Regel kann man durch Wahl der Plättchen vollständige Benetzung erreichen (α= 0°). Durch Wahl sehr dünner Plättchen (a « b) wird a ≈ 0 und man kann auch den Auftrieb vernachlässigen. Daher folgt:

$F = mg + 2\sigma bcos(\alpha)$

Dadurch erhält man durch Messung der Kraft direkt die Oberflächenspannung σ. F wird durch eine Federwaage bestimmt. Der laterale Druck p (in $\frac{mN}{m}$ gemessen) ist durch die Differenz zwischen der Oberflächenspannung des Wassers (σ_0) und der mit der Lipidschicht bedeckten Oberfläche (s) bestimmt: $\pi = \sigma_0 - \sigma$.

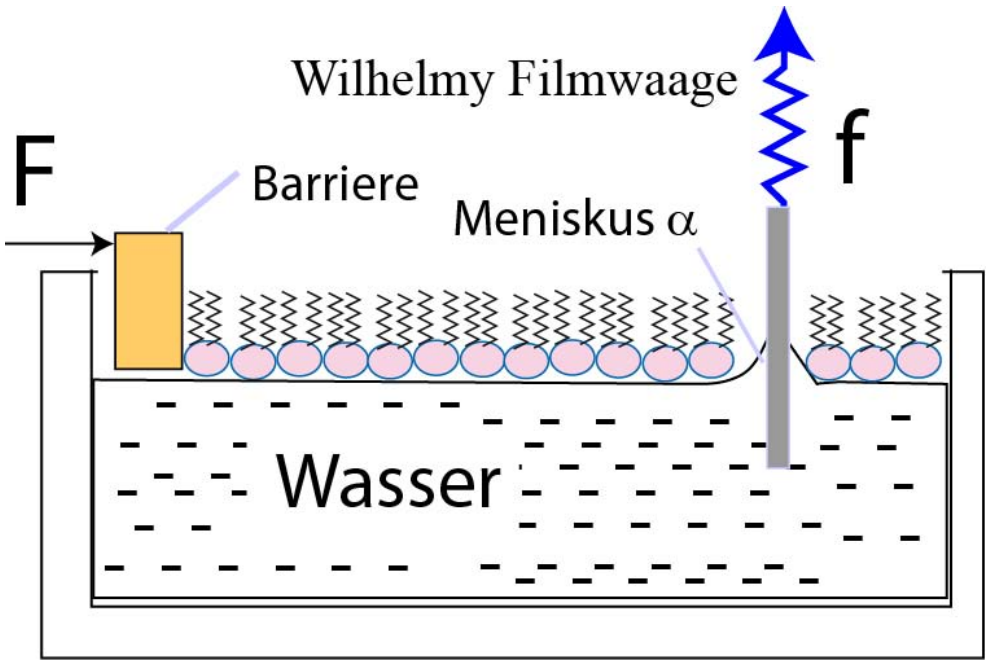


Figure 2: Schematische Darstellung der Filmwaage mit Wilhelmi Filmwaage.

Der Polymorphismus monomolekularer Lipidfilme:

Lipidmonofilme sind 2D flüssigkristalline Zustände und werden durch zwei Ordnungsparametern bestimmt: Die in Orientierung der Ketten (die in Kapitel 10.3 definiert wurde) und die laterale Packung der Lipide $\rho(\vec{r})$. Aus dieser Betrachtung der Ordnungsparameter erwartet man die in der unten wiedergegebenen Abbildung 13 der Arbeit von Albrecht et al (1978) dargestellten Phasenzustände. Man beachte, dass auch die Kopfgruppen geneigt sein können, so dass auch für diese ein Orientierungs-Ordungsgrad eingeführt werden kann.

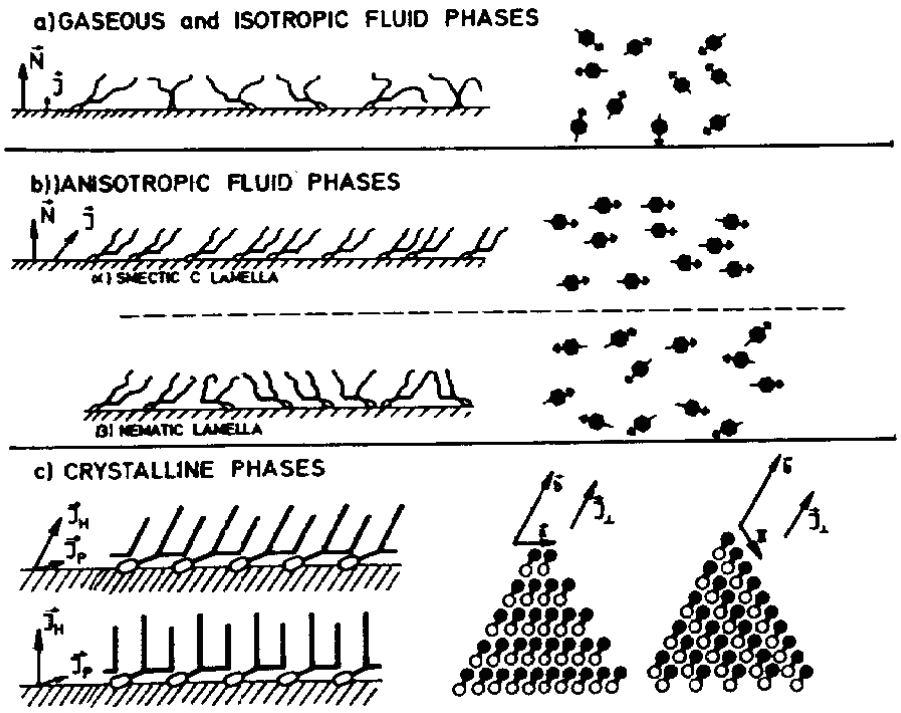


FIG. 13. — Schematic representation of possible phases of phospholipid monolayers : Left side : View of monolayers parallel to water surface. Right side : Bird's eye view of monolayer. In *a*) and *b*) the hexagons give the centres of mass of the whole lipid molecules. The arrows indicate the direction of the molecular stretching vector projected onto the water surface. In *c*) the empty and filled circles indicate the centres of mass of the hydrocarbon chains. The bars between these circles represent the glycerol backbone. The polar head group of one molecule is hidden below the chain of the adjacent molecule (cf. left side). This is indicated by the filled circle. The vectors **a** and **b** are the primitive translation vectors of the two-dimensional lattice. $\mathbf{J}_\perp$ is the projection of the stretching vector of the whole molecule onto the water surface. $\mathbf{J}_h$ stretching vector of hydrophobic part and $\mathbf{J}_p$ stretching vector of hydrophilic part of the monolayer.

Ein Beispiel, an dem man den thermotropen Polymorphismus der Monofilme gut studieren kann, sind die einkettigen Fettsäuren. Abbildung unten zeigt das Beispiel der Palmitinsäure. Eine Besonderheit ist die Umwandlung zwischen dem festen Zustand mit geneigten Ketten (man nennt ihn auch smektisch BC) in den mit normal zur Oberfläche stehen Ketten. Man sieht,

die Umwandlung ist im Falle der Fettsäuren von erster Ordnung. Im Gegensatz zu den Phospholipiden, bei denen dieser Übergang von zweiter Ordnung ist, wie der Einsatz b im linken Bild der Abb. 2 zeigt, der nur einen Knick bei der Umwandlungs-Temperatur T_k zeigt.

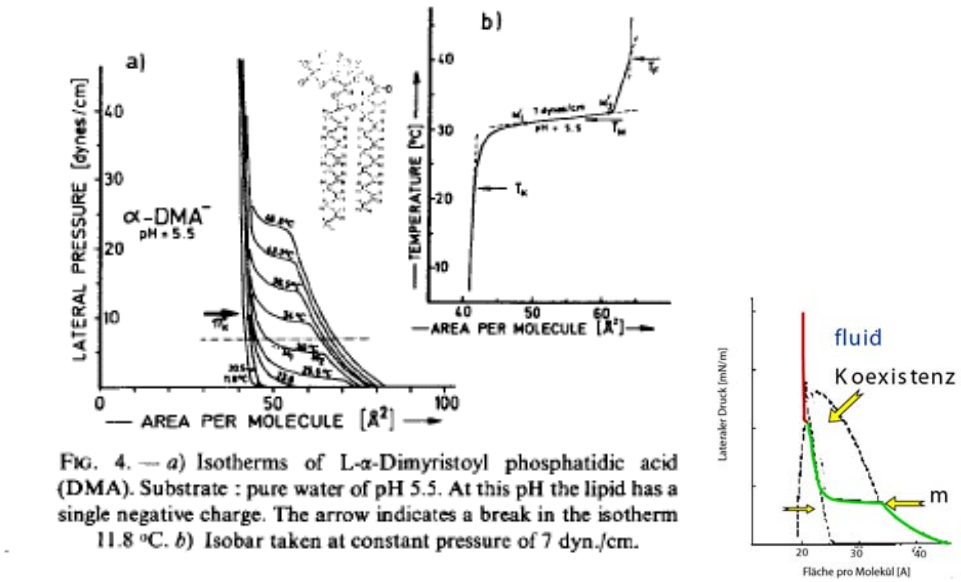


Figure 3: Abb. 2 Links: a) Druck-Flächen-Diagram von Dimyristoylphsphatidylcholine. b) Isobare, bei konstantem Druck von $7\frac{mN}{m}$ aufgenommen. Sie dient der Prüfung, ob die Umwandlung erster oder zweiter Ordnung ist. Rechts: Druck-Flächen-Phasendiagramm von Palmitinsäure mit zwei kristallinen Zuständen I und II mit geneigten bzw. senkrecht zu Oberfläche orientierten Ketten. Die Neigung der Ketten kann mittels Elektronenbeugung der Monoschichten beobachtet werden. Beim Übergang von I nach II geht das hexagonale Beugungsmuster in ein trigonales über.

Aufgabe 10.2:

Elektrisch induzierte Phasenumwandlungen

Vorbemerkung: Durch pH-Änderungen und Ionen induzierte Konformations- und

Phasenumwandlugen von Membranen sind aus folgenden Gründen besonders interessant:

(i) Sie können isotherm ablaufen und ermöglichen lokale Konformationsumwandlungen, z.B. durch Adsorption geladener Proteine wie Annexine (s. Abb 9.4a und 9.b).
(ii) Die Umwandlungen besitzen eine ausgeprägte Hysteresis und können möglicherweise als Kurzzeitgedächtnis fungieren (s. dazu Ergänzung am Ende)

Freie Enthalpie: G(T,p,N)=U(V,S,N) +pV -TS $\Delta G = -S\,dT + V dp[+\mu dn]$;

$A = \frac{\partial G}{\partial \pi}$, $S = \frac{\partial G}{\partial T}$

$\frac{d(G_1 - G_2)}{dT} = (\frac{\partial}{\partial T}(G_1 - G_2) + \frac{\partial \pi}{\partial T}\frac{\partial}{\partial \pi})(G_1 - G_2)$

$0 = -\Delta S - \Delta A \frac{\partial \pi}{\partial T}\frac{\partial}{\partial T} = -\frac{\Delta A}{\Delta S}\Delta T = -\frac{\Delta A \Delta \pi}{\Delta S}$

Ergänzung zur Aufgabe 10.2.:

Hystersis-Effekte: Hystereseeffekte ladungsinduzierter Konformationsumwandlungen - Domänenbildung.

Hystereseeffekte sind ein allgemeines Phänomen bei ladungsinduzierten Umwandlungen von Membranen Proteinen oder Polyelektrolyten. Hysteresiseffekte in Polyelektrolyten wurden von A. Katchalsky untersucht, der zeigte, dass man damit isotherm arbeitende künstliche Muskeln herstellen kann (s. dazu T. Hill Statistical Thermodynamics Ch.21.4).

Hysteresiseffekte sind jedoch auch von außerordentlichem Interesse als mögliche biologische Schalter oder Kurzzeitspeicher. Ein biologisch interessantes Beispiel ist die Hysterese der pH- oder Ca-induzierten Phasenseparation in Membranen. Ein Beispiel eines in vitro Modells zeigt folgende Abbildung. In diesem Experiment wurde die Temperatur so eingestellt, dass man sich bei pH = 7 mitten in der Lα-Lβ-Umwandlung befindet. Der Bruchteil der Lipide in der festen

Phase ist als Funktion des pH wiedergegeben und zwar bei steigendem und fallendem pH. Man beobachtet eine ausgeprägte Hysteresis der Umwandlung, die sich über rund 1.5 pH-Einheiten erstreckt.

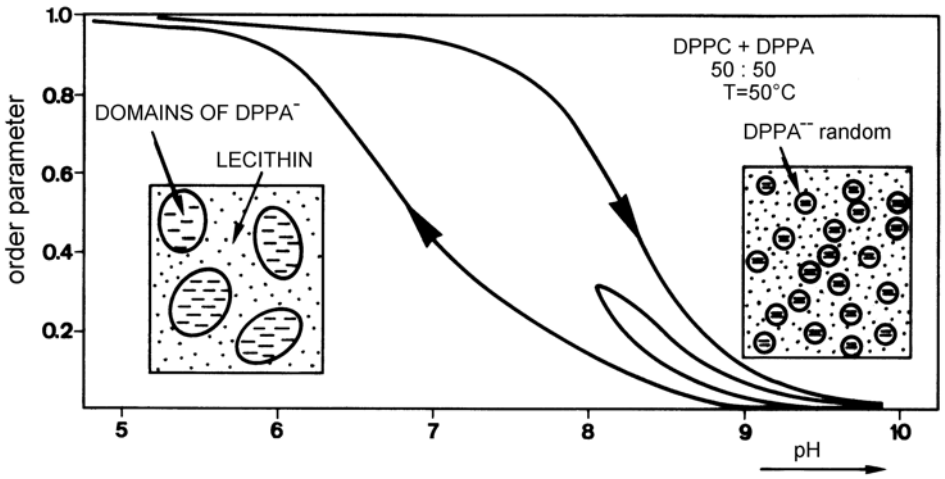


Figure 4: Abbildung 9. Hysteresis der ladungsinduzierten Phasenumwandlung in Membranen aus Dipalmitoylphosphatidsäure (DPPA). Bei pH = 8.5 ist das Lipid zweifach negativ geladen und bei der eingestellten Temperatur (bei 20° C) fluide, während es bei pH = 6 einfach geladen und im Gelzustand (Lβ') ist. Ursache der Hysteresis ist die Bildung von Domänen in Kombination mit dem Unterschied im Oberflächenpotential (und damit des pH) zwischen fluider und fester Phase.

Ursache der Hysteresis ist die in Kapitel 10.23 beschriebene Änderung des pH an der Oberfläche geladener Membranen. Das negative Oberflächenpotential in der fluiden Phase (zweifach negativ) ist höher als in der kristallinen Phase, in der die Lipide nur einfach geladen sind. Bei zunehmendem pH muss man also zu höheren Werten des pH im Volumen gehen, um das Lipid zu dissoziieren und damit die membran zu schmelzen. Umgekehrt muss man bei pH-Abnahme zu niedrigeren Werten des pH gehen, um die Protonen zu binden, da das negative Potential ja geringer wird.

Die durch Ca-Ionen vermittelte Hysteresis könnte bei der Fusion synaptischer Vesikel mit der

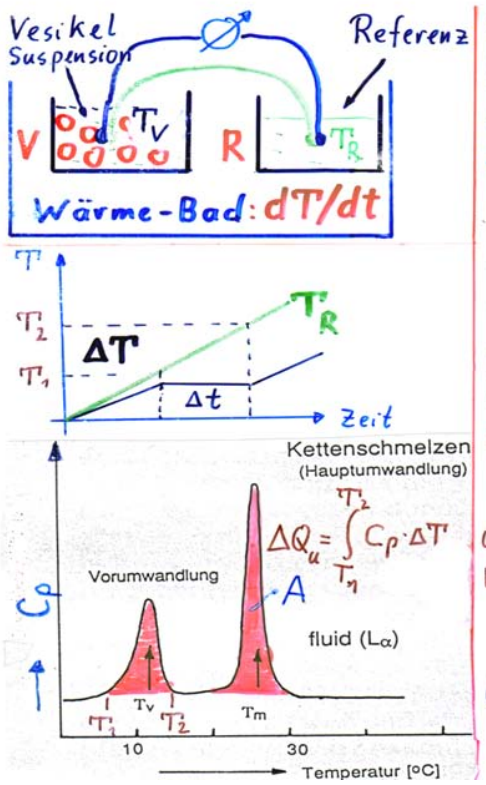
präsynaptischen Membran eine wichtige Rolle spielen, die durch Ca-Einstrom getriggert werden (s. Aufgabe 9.7). Wie in Aufgabe 9.A1 gezeigt wird, bleiben die lokale Anhäufungen von der Ionen auch bestehen, wenn die Kalziumkonzentration nach der anfänglichen Erhöhung wieder auf den für Zellen im Ruhezustand typischen Wert von 10^{-7} M abfällt. Aus heutiger Sicht wird die Fusion der Vesikel mit der präsynaptischen Membran mit großer Wahrscheinlichkeit durch die Proteine SNAP und SNARE und nicht durch Ca^{2+} vermittelt (s. Kapitel 12). Ca spielt möglicherweise eine Rolle für das Verschließen der Ca-Kanäle bei hohen Ionenkonzentrationen. Die Ca-vermittelte Hysteresis könnte beispielsweise dafür sorgen, dass die Ca- Kanäle geschlossen bleiben, wenn der mittlere Ca-Spiegel nach der elektrischen Erregung wieder auf 10^{-7} M abfällt. Wegen der Hysteresis der Entbindung bleiben die Ca-Ionen auch danach noch an der an der Membran lokalisiert, bis die fusionierten Vesikel wieder von der präsynaptischen Membran abgespalten werden.

Aufgabe 10.3:

Differential-Kalorimetrie

Die Messungen thermodynamischer Eigenschaften biologischer Materialien wurden durch die Entwicklung hoch sensitiver Differentialkalorimeter revolutioniert. Die Methode ist prinzipiell extrem einfach, die technische Realisierung dagegen extrem schwierig, da die Methode der Messung des Gewichts einer Fliege auf einem Schiff durch Messung des Gewichts ohne und mit Fliege entspricht. Man kann auch direkt die Wärmezufuhr messen, die notwendig ist, um die Temperatur der beiden Gefäße konstant zu halten.

Beobachtung und Analyse der Phasenumwandlungen durch Differential-Mikrokalorimetrie



Gleichmäßige Wärmezufuhr, $\Delta Q/dt$, in V und R
Messung von T in V und R

Bei Phasenumwandlung (exothermer) bleibt Temperatur in Vesikel-Suspension konstant

Aus T-Erhöhung der Referenzprobe (R) folgt zugeführte Wärme

$$\Delta Q = C_p(\text{Referenz}) \cdot \Delta T$$

und damit Umwandlungswärme

$$\Delta Q_u = \int_{T_1}^{T_2} C_p(V)\, dT$$

Umwandlungsentropie

$$\Delta S_u = \frac{\Delta Q_u}{T_u}$$

Das Bild zeigt links oben das Prinzip der Methode. Darunter ist der Temperaturverlauf der Messzellen als Funktion der Zeit dargestellt, wenn man die Temperatur des Wasserbades zeitlich erhöht. Im Fall des Schmelzens der Membran bleibt die Temperatur in der linken Kammer konstant, da dem Gefäß Schmelzwärme entzogen wird. Man kann die Umwandlungswärme direkt messen, wenn man die Wärmekapazität der Messzelle kennt, wie der Text auf der rechten Seite zeigt.

Aufgabe 10.4:

Ein unkonventioneller Ausgangspunkt zur Beantwortung der Frage ist van't Hoff-Gleichung der kooperativen Umwandlung. In diesem Bild des Schmelzvorgangs ist die Schärfe der Phasenumwandlung durch die Zahl N der an der Umwandlung beteiligten Moleküle bestimmt. In diesem Fall bestimmt man den Ordnungsgrad des Materials, der als Bruchteil der umgewandelten Moleküle θ definiert ist. Nach Gleichung 7.18 ist an der Umwandlungs-Temperatur:

$\frac{d\theta}{dT} = \frac{1}{4} N \frac{\Delta H}{k_B T}$

wobei ΔH die Umwandlungswärme ist. Daraus folgt, dass die Steilheit der Umwandlung für N $\longrightarrow \infty$ unendlich scharf ist. Wie im Kapitel 7.2.3 gezeigt wurde, kann man die van't Hoff-Gleichung benutzen, um die Zahl der spontan umwandelnden Moleküle zu bestimmen.

In der klassischen Thermodynamik geht man von der Gleichung für die spezifische Wärme $C_p = \frac{d\Delta H}{dT}$ aus, d.h. die spezifische Wärme ist eine δ-Funktion. Die Umwandlungskurven realer Materialien (wie Kristalle) besitzen stets eine endliche Breite; nicht nur wegen der endlichen Größe, sondern wegen der stets vorhandenen Kristalldefekte wie Versetzungen.

Aufgabe 10.5:

Ordnung der Phasenumwandlung und was wir daraus lernen können

Bei Phasenumwandlungen erster Ordnung sind die ersten Ableitungen der Freien Energie (F) und freien Enthalpie (G) nach einer thermodynamischen Variablen (T oder p) diskontinuierlich (s. Abb. 9.A). Zwei Beispiel sind:

$S = -[\frac{\partial G}{\partial T}]_p$

$V = -[\frac{\partial G}{\partial p}]_T$

Die S-T- und V-p-Kurven machen bei der Phasenumwandlung einen Sprung (s. Abb. 9.A).

Umwandlungen zweiter Ordnung sind dadurch charakterisiert, dass die ersten Ableitungen stetig sind. Die S-T-Kurven sind s-förmig und haben an der Umwandlung einen Wendepunkt. Daher zeigen die zweiten Ableitungen (z.B. von G) im Bereich der Umwandlung eine scharfe Bande. Dies hat oft die Form eines λ und man nennt die Umwandlung daher oft λ-Punkt.

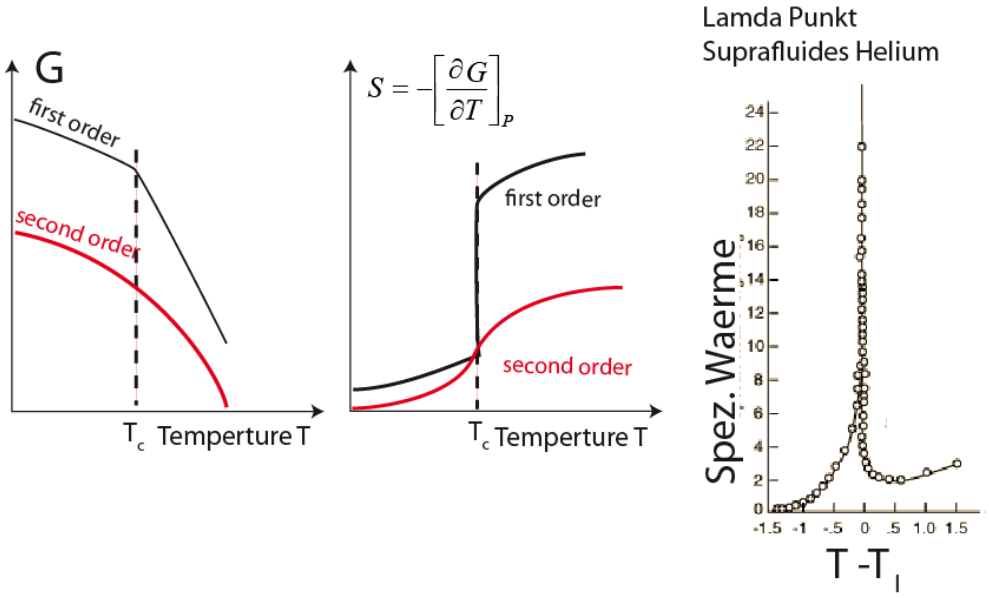
Praktisch wichtige Beispiele der zweiten Ableitungen sind:

Die thermische Ausdehnung $\alpha = \frac{1}{V}[\frac{\partial V}{\partial T}]_p$

Die Kompressibilität $\kappa = -\frac{1}{V}[\frac{\partial V}{\partial p}]_S = -\frac{1}{\rho}[\frac{\partial \rho}{\partial p}]_S$

Die Spezifische Wärme $C_p = T[\frac{\partial S}{\partial T}]_p = -[\frac{\partial^2 G}{\partial T^2}]_p$

Wird Helium auf 2.17° K abgekühlt, zeigt die Wärmekapazität eine bemerkenswerte Diskontinuität. Die Dichte der Flüssigkeit nimmt ab und ein Teil des Heliums wird suprafluid, d.h. die Viskosität wird null. Ursache ist die Bose-Kondensation des suprafluiden Teils des Heliums. Der Übergang ist der Prototyp einer Phasenumwandlung zweiter Ordnung.



Eine fundamentale Theorie zur Beschreibung von Phasenumwandlungen zweiter Ordnung ist die Landau-Theorie (siehe Webseite). Diese stellt einen Bezug zwischen der rein thermodynamischen Definition der Ordnung einer Umwandlung und den Materialeigenschaften (vor allem der Struktur) her. Zur Charakterisierung des Zustandes führt man den Ordnungsgrad ein. Beispiele sind die Dichte, oder die Orientierung der Moleküle in einer Membran oder Lipid-Monoschicht (s. Aufgabe 9.1).

Es gilt folgende Faustregel: Findet bei der Umwandlung nur eine Änderung der Orientierung der Moleküle statt, so ist diese von zweiter Ordnung. Falls die Umwandlung aber gleichzeitig mit einer Dichteänderung einher, ist sie von erster Ordnung.

Weshalb ist die Frage nach der Umwandlung interessant? Die Landau-Theorie ist sehr hilfreich, um etwas über die strukturelle Änderungen von Materialien bei Phasenumwandlungen von Lipid-Monoschichten oder Membranen zu lernen. Insbesondere liefert die Theorie Messvorschriften zur Messung der Wärmekapazität oder der Thermischen Ausdehnungskoeffizienten. Besonders wichtig ist die Landau-Theorie zur Untersuchung thermischer Fluktuatio-

nen. Sie ist auch hilfreich, um etwas über Lipid-Protein-Wechselwirkungen zu lernen.

Aufgabe 10.6:

Modifikation des pH an der Oberfläche geladener Membranen

Die Abweichung der Verteilung der Protonen an der Oberfläche von der in der Lösung ist durch die Boltzmann-Verteilung bestimmt:

$\frac{[H^+]_m}{[H^+]_o} = e^{-\frac{e\Phi}{kT}}$

wobei $[H]_{m,o}$ die Konzentrationen an der Oberfläche (m) und in der Lösung (o) sind. Nun gilt folgender Zusammenhang zwischen der Protonenkonzentration und dem pH. $pH = -log(a)$ oder $pH \approx -log([H])$. a ist die Aktivität der Wasserstoffionen, die aber in guter Näherung gleich deren Konzentration ist. Es gilt also:

$pH_m - pH_0 = \frac{e\Phi}{kT} \approx \frac{100}{25}$

Man beachte noch: $k_BT(300K) \approx 25$ meV. Daher wird die Änderung des pH:

$\Delta pH = 4$

Vergleich mit der Realität: Das Oberflächenpotential lässt sich mit der Gleichung Gl 10.6 berechnen:

$\Phi_0 = \frac{2k_BT}{e} arcsinh(\frac{0.135\alpha}{A\sqrt{c}})$

Dabei wird die Fläche pro Lipid in Angström und die Konzentration in $\frac{M}{l}$ eingegeben. Für 300° K ist der Vorfaktor $\frac{2k_BT}{e} \approx 51.4mV$.

Sind alle Lipide einfach geladen (α=1) so wird für c$\approx$ $10^{-2}M$; c$\approx$ $10^{-3}M$; c $\approx$ $10^{-4}M$: $\Phi_0 \approx$ 1mV; $\Phi_0 \approx$ 3,5 mV; $\Phi_0 \approx$ 10 mV. Wir sehen: Die Änderungen des pH sind unter physiologischen

Bedingungen nicht sehr groß.

Aufgabe 10.7:

Bruchteil der gauche-Konformationen. Kinken als treibende Kraft der H_2O-Permeation von Membranen

Vorbemerkung:
Die dynamischen Prozesse der Membranen ist durch die Kinetik der Bildung von gauche-Konformationen und gtg-Kinken bestimmt. Man nennt diese thermisch angeregten Konformationen und deren Kombinationen auch Kettendefekte. Die Beweglichkeiten der Kettendefekte bestimmt die dynamischen Eigenschaften der Biomembranen, wie die rotatorische und translatorische Diffusion der Lipide. Sie sorgen aber auch für die Bildung freien Volumens und darüber für die Aufnahme kleiner Moleküle (wie Wasser) und deren Transport in der Membran. Die Untersuchung der Kettendynamik ist daher eine wichtige Aufgabe. Neben spektroskopischen Methoden wie der NMR-und Ramanspektroskopie ist vor allem die Quasielastische Neutronenbeugung (QENS) ein wichtige Methode (s. Aufgabe 10.8).

Berechnung des Bruchteils ϕ_g an gauche-Konformationen (s. Kapitel 10.3.1):

$\phi_g = \frac{n_g}{n_g+n_t}$

, wobei n_g und n_t die Zahl der CH_2-Gruppen in der gauch- und trans-Konfiguration sind. ϕ_g wird durch die Boltzmann-Verteilung bestimmt, unter Berücksichtigung der Anregungsenergie des trans $\longrightarrow$ gauche Übergangs : $\Delta E \approx 4\frac{kJ}{M}$. Für 37° C (410° K $\approx 5.65\frac{kJ}{M}$, da $k_B = 1.3810^{-23}$ J) wird:

$\phi_G \approx \frac{n_G}{n_g+n_t} \approx \frac{1}{1+e^{\frac{\Delta\Phi}{k_B T}}} \approx 0.27$

Messungen mittels Raman-Spektroskopie liefern eine Erhöhung von $\phi_g \approx 0.07$ auf $\phi_g \approx 0.4$.

b) Kinetik der trans-gauch Übergänge: Die Übergangsraten der trans $\longrightarrow$ gauche Übergänge erhält man aus der Arrhenius-Gleichung:

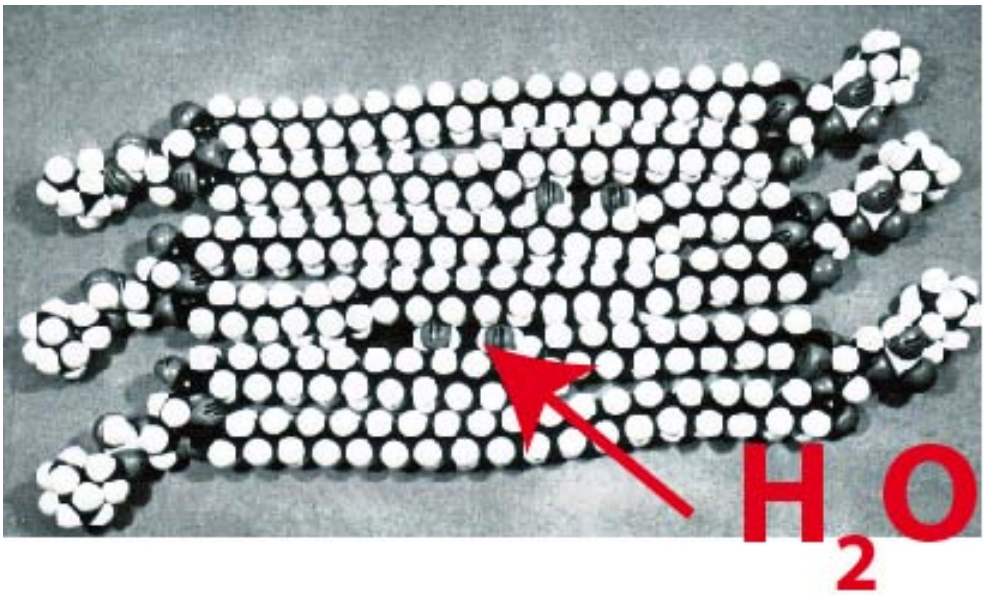
$k_{t\longrightarrow g} = \nu_T e^{\frac{-E*}{RT}} \approx 0.015 \cdot 10^{13} \approx 1.5 \cdot 10^{11} \frac{1}{s}$

Nach Abb. 10.7 ist die Aktivierungsenergie E* $\approx 10\frac{kJ}{M}$. Bei 37° C ist RT $\approx 2.4\frac{kJ}{M}$. Die Frequenz der Torsionsschwingungen ist $\mu_T \approx 10^{13}$ Hz.

c) Der Diffusionskoeffizient der Bewegung der Kinken durch die Membran folgt aus der Einstein-Beziehung; $D = k_{kink}\frac{\lambda^2}{2}$, wobei λ die Sprungweite der Kinken ist. Nach Abb 10.7c ist diese $\lambda \approx 0.13$ nm (1.3 A). Nun muss man jedoch noch beachten, dass die Sprungrate nicht $k_{t\longrightarrow g}$ ist. Da man bei jedem Sprung zwei trans-gauche Übergänge anregen muss, ist E* doppelt so groß. Es wird daher:

$k_{kink} \approx n_t e^{-8.33} \approx 10^{13} \cdot 0.00024 \approx 2.4 \cdot 10^9 \frac{1}{s}$

Man erhält dann für den Diffusionskoeffizienten der Kinken. $D \approx 2.4 \cdot 10^9 \cdot 0.07 \cdot 10^{-18} \approx 0.15 \cdot 10^{-9} \frac{m^2}{s}$.



Zusatzfrage: Der Diffusionskoeffizient kann mittels QENS bestimmt werden, wie in Aufgabe 10.8 gezeigt wird.

Die Diffusion der gtg-Kinken entlang der Ketten spielt eine wichtige Rolle als treibende Kraft der Permeation keiner Moleküle (wie Wassermoleküle, Lokalanästhetika) durch die Membran. Die Permabilität des Wassers kann direkt mit der Diffusion der Kinken durch die Membran korreliert werden, wie von Hermann Träuble gezeigt wurde (s. Träuble 1971).

Zur *Referenzen:*

Eine sehr gut verständliche Darstellung der durch Kinken angetriebenen Wasser-Permeation: H. Träuble, The movement of Molecules across Lipid-Membranes: A molecular Theory (J Membrane Biol.4, 193-208 1971)

Aufgabe 10.8:

Messung der Diffusion mittels Quasielastischer Neutronenbeugung (QENS).

Wie in Kapitel 10.7 beschrieben wurde, hat die QENS-Technik den Vorteil, dass man sowohl interne Bewegungen einzelner Moleküle (oder Gruppen von Molekülen) als auch kollektive Bewegungsprozesse quantitativ untersuchen kann. Anstatt des aus der quasielastischen Lichtstreuung bekannten dynamischen Strukturfaktor $S(\vec{q}, \omega)$ bestimmt man im Experiment meist die sogenannte intermediäre Streufunktion: $S(\vec{q}, t) = \int_{-\infty}^{\infty} d\omega S(\vec{q}, \omega)$ und aus dieser den Strukturfaktor durch inverse Fouriertransformation. Die theoretischen Grundlagen wurden in Kapitel 10.7 beschrieben. Die intermediäre Streufunktion und der dynamische Strukturfaktor haben die Form:

$I_{inc}(\vec{q}, t) = C \cdot e^{-\vec{q}^2 Dt}$ oder $S_{inc}(\vec{q}, \omega) = \frac{2C}{\pi} \frac{D\vec{q}^2}{\omega^2 + (D\vec{q}^2)^2}$

Der Streuvektor $\vec{q}$ bestimmt die Richtung des Impulsübertrages. Durch Verwendung orientierter Membranen (Lipid-Mutischichten) kann man die Richtung der Impulsübertragung und der Molekülbewegung festlegen. Um die Diffusion in der Ebene der Membran zu messen, muss $\vec{q}$ parallel zur Membranebene orientiert sein (s. Abb 9.8a).

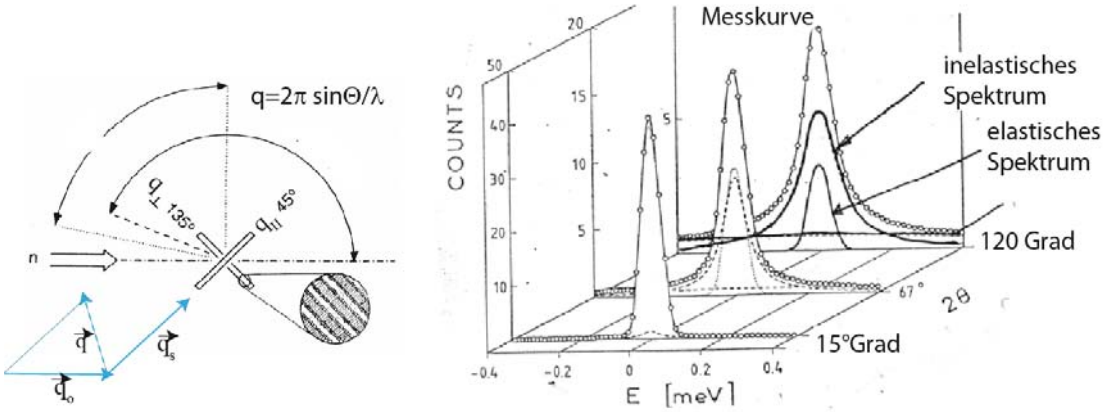


Figure 5: Abb 9.8A. Links: Orientierung der Lipid-Multischichten zur Messung der Impulsübertragung parallel ($\vec{q}_{\parallel}$) und senkrecht ($\vec{q}_{\perp}$) zur Membrannormalen $\vec{n}$. Rechts: Drei gemessene Strukturfaktoren. Man beachte die Verbreiterung der Linie beim Übergang von $\theta = 15$ °bis $\theta = 120$ °. Die Abszisse wird üblicherweise in meV angegeben, wobei 1meV $\approx 0.24 \cdot 10^{12}$ Hz.

Zusatzfrage: Protonen haben den Kernspin I=$\frac{1}{2}$ und Deuteronen I=1. Während der (Fermi Kontakt-) Wechselwirkung der Neutronen mit dem Spin $\frac{1}{2}$ kann ein zufälliger Spinaustausch stattfinden. Durch diesen verliert das Neutron sein Phasengedächtnis und kann nicht mehr mit dem Primärstrahl interferieren. Die Phasenbeziehung der von benachbarten Positionen des Materials ausgehenden Elementarwellen (d.h. deren Kohärenz) geht verloren. Die Situation ist ganz ähnlich wie bei der Spin-Spin-Relaxation der NMR-Spektroskopie. Der in Resonanz beobachtete Kernspin kann mit Kernen der Umgebung den Spin austauschen und trägt daher nicht mehr zum beobachteten Spektrum bei. Dessen Amplitude fällt exponentiell mit der Zeit ab. Die Relaxationszeit heißt Spin-Spin- oder T_2-Relaxationszeit.

Ergänzung: Das rechte Bild der Abb. 9.8a zeigt, dass der QENS-Strukturfaktor (oder die intermediäre Streufunktion) einem elastischen und einem inelastischen Anteil bestehen.

$$S(\vec{q}, \omega) = S_{ela}(\vec{q})\delta(\omega) + S_{inel}(\vec{q}, t)$$

Der elastische Anteil $S_{ela}(\vec{q}, \omega)$ liefert Information über die statische Struktur des Materials. Misst man diesen als Funktion von q so kann man herausfinden, ob ein Molekül frei beweglich ist ($S_{ela}(\vec{q}) \longrightarrow 0$, für $q \longrightarrow \infty$) oder nur lokale Zitterbewegungen ausführen kann. Im letzteren Fall erhält man aus dem asymptotischen Wert von $S_{ela}(\vec{q})$ die Amplituden der Auslenkungen. Auf diese Weise kann man die lokale Diffusion der Lipide und die weitreichende Brown'sche Bewegung separat messen.

Ein weiterer Vorteil: Da die Deuteronen bevorzugt kohärent und die Protonen inkohärent streuen, kann man sogar die Bewegung einzelner Molekülgruppen in einem Molekül durch Messung der inkohärenten Streuung bestimmen, indem man den Rest des Moleküls der Protonen durch Deuteronen ersetzt. Der gravierende Nachteil der Neutronenbeugung ist die kleine Empfindlichkeit, weshalb sie vor nur auf Lipid-Multischichten anwendbar ist.

Referenzen: (siehe Liste in Kapitel 12).

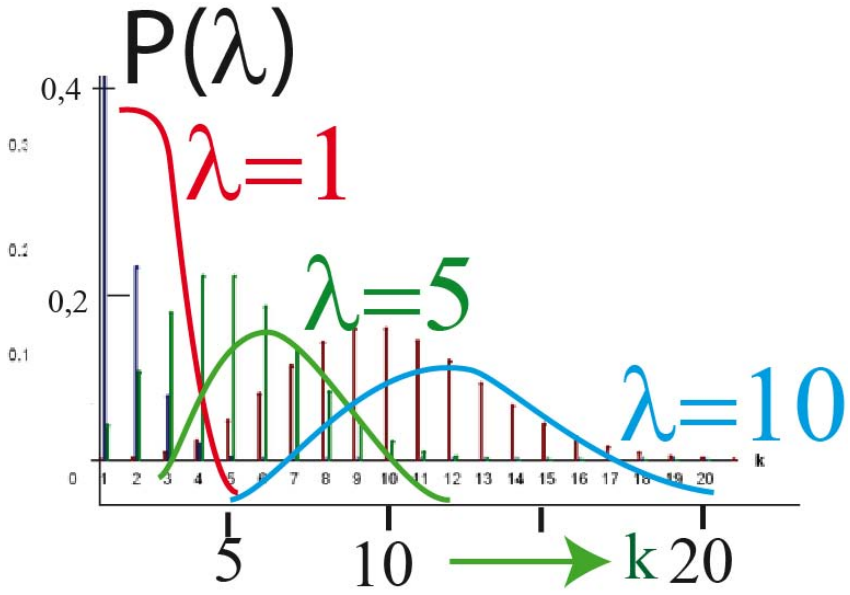
Aufgabe 10.9:

Zur Poisson-Statistik der Teilchenfluktuation

Vorbemerkung Vergleich Gauss- und Poisson-Verteilung:
Die Poisson-Verteilung ist wie die Binominalverteilung eine diskrete Wahrscheinlichkeitsverteilung. Sie gibt an, wie oft Ereignisse beim Durchführen eines Zufallexperiments (wie das Werfen einer Münze) auftreten. Die Poissonverteilung ist eine gute Näherung, wenn die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses sehr klein ist. Ein Beispiel ist die spontane Öffnung eines Ionenkanals in Nervenmembranen (s. Kapitel 15.7). Ist die Wahrscheinlichkeit eines Ereignisses etwa $\frac{1}{2}$, so muss man mit der Bernouilli-Verteilung arbeiten. Die Poissonverteilung wird durch den Parameter λ bestimmt, der gleich dem Mittelwert der Verteilung ist.

$P(x = k) = \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda}$ (10. 9.1)

Drei Beispiele:



Die Poisson-Verteilung liefert also Voraussagen über die Anzahl (k) des Eintretens seltener, statistischer Ereignisse innerhalb eines bestimmten Intervalls, wenn man den Mittelwert kennt, was oft durch Messung möglich ist (s. Aufgabe Katz-Experiment).

Betrachten wir ein Beispiel:

Besonders einfach sind der Erwartungswert und die Varianz der Ereignisse (s. Wikipedia Stichwort Poissonverteilung):

$E(x) = \sum_0^\infty k \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda k} = \lambda$

und

$Var(x) = \sum_0^\infty (k-\lambda)^2 \frac{\lambda^k}{k!} e^{-\lambda} \approx \lambda$

Eine Ableitung der Poissonverteilung aus der Binominalverteilung findet man in Wikipedia Stichwort 'Poissonverteilung'.

Beziehung zur Normalverteilung:

Für große λ kann die Poisson-Verteilung durch die Gaußsche Verteilung ersetzt werden:

$P(k) \approx \frac{1}{\sqrt{2\pi\lambda}} e^{-\frac{(k-\lambda)^2}{2\lambda}}$ (10.9.3)

Man beachte: Die Poissonverteilung kann durch eine glockenförmige Kurve ersetzt werden, falls $\lambda \geq 30$. Der Erwartungswert wird wie erwartet E(x)=λ und die Varianz Var(x) = λ.

Die Schwankung der Teilchenzahl: Zur Berechnung der relativen Schwankung der Teilchenzahl $\frac{\delta N}{N}$ in einem Volumen mit N Molekülen gehen wir von der Näherung für große N aus. Anwendung von Gl 10.2.3 liefert:

$Var(n) =< (n-N)^2 >= \frac{1}{\sqrt{2\pi N}} \int_{-\infty}^{\infty} dn (n-N)^2 e^{-\frac{(k-N)^2}{2N}} = N$

Die relative Schwankung ist $\frac{\sqrt{n-N}}{N} = \frac{1}{\sqrt{N}}$ Die Teilchenzahl schwankt um einen Faktor 2 falls N=4 ist.

Nachtrag: Eine klassisches Beispiel einer Poissonverteilung trat bei der preußischen Kavallerie auf; Mit der Frage wie oft ein Offizier durch den Tritt eines Pferdes getötet wird. Das sind seltene Ereignisse, da in manchen Jahren kein und in anderen 3 oder gar 5 Offiziere getötet

wurden, d.h. die Wahrscheinlichkeit ist p«1. Da die Zahl N der Offiziere groß war, handelt sich um ein gutes Beispiel der Anwendung einer Poissonverteilung, da man nur den über Jahre bestimmten Erwartungswert λ messen musste. In diesem Fall ist die statistische Variable k. Die Wahrscheinlichkeit, dass drei Offiziere getötet werden ist also: $\frac{\lambda^3}{3!}e^{-\lambda}$.

Aufgabe 10.10:

Fluoreszenz-Korrelationsspektroskopie, Effekt chemischer Reaktionen

Skizierung Ableitung der Fluoreszenz-Korrelationsfunktion für reine Diffusion.

Die Fluktuation des Signals im Detektor ist nach der Gl 10.28:

$I(t) = \iiint d^3rF(r)\sum_i a_i\delta(\vec{r}-\vec{R}_i)_R$ (9A1)

Dabei ist F(r) eine Filterfunktion, die angibt, welcher Bruchteil des gesamten emittierten Lichts am Detektor ankommt und registriert wird. Sie ist durch mehrere Faktoren bestimmt und wird in der Regel empirisch bestimmt. a_i ist die Amplitude der emittierten Elementarwellen. Wir berücksichtigen im Folgenden nur die optische Transferfunktion des Objektives. Die Korrelationsfunktion der Fluktuation der Fluoreszenzintensität ist die Funktion i(r,t) = I(r,t)-<I(t)>. Man sollte auch daran denken, dass die Fouriertransformierte der Konvolution zweier Funktion (F(r) und F(r')) das Produkt der Transformationen der Einzelfunktionen sind.

Die Korrelationsfunktion der Intensität hat dann die Form:

$K(\tau) = \frac{\rho}{(2\pi)^6}\iiint dV \iiint dV' F(r)F'(r)\sum_i a_i\delta(\vec{r}-\vec{R}_i)\sum_j a_j\delta(\vec{r}-\vec{R}_j)$

ρ ist die mittlerer Teilchen-Dichte. Mit der Definition der δ-Funktion

$\delta(\vec{r} - \vec{R_i}) = \int_{-\infty}^{\infty} e^{iq(\vec{r}-\vec{R_i})}$

folgt schließlich (siehe auch Ableitung des Abbe-Theorems in Kapitel 37):

$K_F(\tau) = \frac{\rho}{(2\pi)^6} \iiint d^2\vec{q}F(\vec{q})F'(-\vec{q}) \sum_i \sum_j a_i a_j e^{-i\vec{q}(\vec{R_i}(t)-\vec{R_j}(0))} \propto \int d\vec{q}F(\vec{q})F(-\vec{q})I_{inc}(\vec{q},\tau)$ (9A.2)

Diese Gleichung folgt aus 10.19b, wenn wir noch die Amplituden a_i der Elementarwellen einführen.

Wir nehmen nun als einfachsten Fall an, dass die Verteilung der in den Detektor emittierten Lichts durch die Apertur des Mikroskopobjektivs bestimmt ist und dass dies eine Gaußfunktion ist:

$F(r) = F_0 e^{-\frac{2r^2}{w^2}}$ (9.A3)

, wobei w der Durchmesser der Objektiv-Apertur ist. Als weitere Vereinfachung nehmen wir an, dass das Volumen aus dem Licht als eine Scheibe registriert wird, d.h. wir vernachlässigen zunächst die zylinderförmige Struktur.

Zur Berechnung der Korrelationsfunktion $K_F(t)$ für reine Diffusion: In Kapitel 10 haben wir die intermediäre Streufunktion ($I_{inc}(q,t)$) und den dynamischen Strukturfaktor abgeleitet (Gl 10.27) und gezeigt, dass für die freie Diffusion folgt:

$I_{inc}(\vec{q},t) = Ce^{-\vec{q}^2 Dt}$

Die Berechnung des Produkts der F(q)F(-q) erfolgt über das Konvolutionstheorem. Sie ist einfach, erfordert aber einen gewissen Rechenaufwand. Man beachte dabei, dass die Fourier-Transformierte einer Gaussfunktion wieder eine solche ist, dass die Varianz im Zähler erscheint und dass die Normierung verloren geht.

$$\int_{-\infty}^{\infty} a e^{\frac{(x-b)^2}{2\sigma^2}} dx = a\sqrt{2\pi}\sigma$$

In unserem Fall ist $\frac{1}{2\sigma^2} = -\frac{w^2}{4} + D\tau$

Daher wird für ein eindimensionale Integration:

$$\int_{-\infty}^{\infty} e^{q^2 - \frac{w^2}{4} + D\tau} = \sqrt{2\pi}\sqrt{-\frac{w^2}{4} + D\tau}$$

Da wir in unserem Fall der zweidimensionalen Scheibe berücksichtigen müssen, dass $\vec{q} = (q_x, q_y)$ ist, folgt:

$$K_F(\tau) = const\frac{1}{1+\frac{4D\tau}{w^2}} \quad (9.A4)$$

Wir betrachten nun den Fall, dass die molekularen Sonden gleichzeitig an einer chemischen Reaktion teilnehmen können, bei der die Fluoreszenz verloren geht oder das Molekül mit einer anderen Farbe leuchtet. Wir betrachten die Reaktion M + A $\longrightarrow$ M* . Die Bindungskonstante sei K und die Raten der Hin- und Rückreaktion seien k_1 und k_2, mit $K = \frac{k_1}{k_2} = \frac{am}{m^*}$, wobei kleine Buchstaben für die Konzentrationen stehen. Der Bruchteil der Moleküle im Zustand M* wird: $m^* = \frac{1}{1+K'}$. Wir müssen nun das zeitliche Verhalten des Zustandes M betrachten. Die Ratengleichung lautet:

$\frac{dM*}{dt} = k_1 ma - k_2 m^*$

Die Lösung der Gleichung hat die Form $M^* = M(0)e^{\frac{t}{t_g}}$. Es folgt schließlich:

$K_F(\tau) \propto \frac{1-m^*}{N}(1 + \frac{1}{1-m^*}e^{\frac{\tau}{t_R}}(\frac{1}{1+\frac{4D\tau}{w^2}})$ (9.8.5)

Wir haben bei der Ableitung die zylindrische Form des Beobachtungsvolumen vernachlässigt und ein 2D- Volumen angenommen. Durch die zylindrische Form wird noch ein Korrekturfaktor der Form $\frac{1}{1+\frac{\tau}{S^2 D}}$ eingeführt (siehe: Rusu et al Biophys. J. 87 1044-1053 (2004)). Dabei ist S das Verhältnis des Durchmessers zur Länge des zylinderförmigen Fokus.

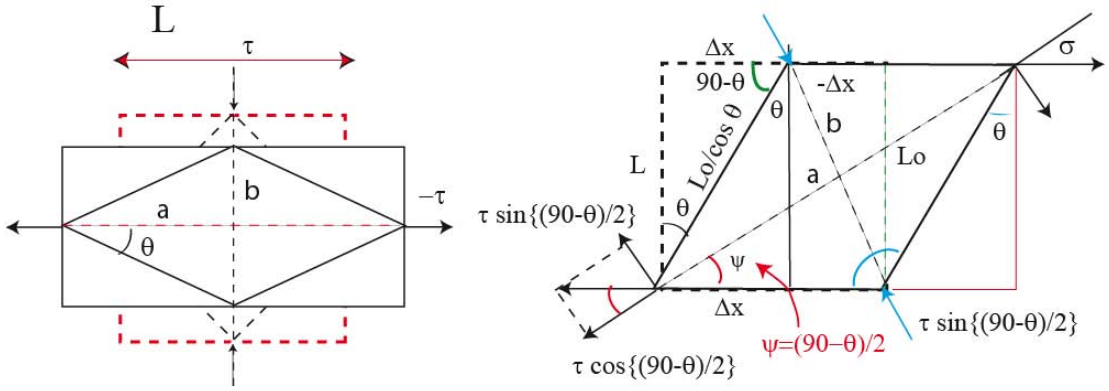
Referenzen: Wir haben bei der Ableitung der Korrelationsfunktion der Intensitätsfluktuation die Methode von J. Rica und T. Binkert (Phys. Rev.A 39, 2646 (1989)) benutzt, da sie von der fundamentalen Idee ausgeht, die Dichteverteilung der Sonden oder Moleküle zur Untersuchung der Struktur und Dynamik der Materie auszunutzen. Dadurch wird die lehrreiche Analogie zwischen der inkohärenten Neutronenbeugung und der FCS klar. Eine andere, mehr konventionelle Ableitung findet man in Hess et al. Biochemistry. 41:697 - 705.(2002).

Aufgabe 11.1:

Wie bei der Behandlung der Erythrozytenformen erwähnt, ist zur Beschreibung der Deformation weicher Materialien häufig vorteilhaft, die vereinfachte Version der Elastizitätstheorie von Moony und Rively zu verwenden. Diese wurde zur Beschreibung von sehr stark dehnbaren weichen Materialien entwickelt. Die konventionelle lineare Theorie gilt für sehr kleine Deformationen der Festkörper, deren Elastizitätsgrenze (yield strain) bei Deformationen von 0.2% liegt. Weiche Materialien lassen sich oft um 50% dehnen und die lineare Theorie der Elastizität gilt nicht mehr. Eine umfassende Darstellung findet man in Wikipedia; Stichwort

'Mooney-Rivlin solid'.

Zur Diskussion betrachten wir ein Quadrat der Seitenlänge L, das von zwei Paaren von Normalspannungen τ_1 und τ_2 zu einem Rechteck deformiert wird- (s. Abb. 10A.1) Wie in Kapitel 11 beschrieben, definieren wir als Dehnung (strain) die normierte Verlängerung $\lambda_i = \frac{L_i}{L}$ in der Richtung i (s. Abb 10.A1):



Wir betrachten hier nur reine Scherungen. Wie im Kapitel 11 gezeigt, wurde gilt für diesen Fall:

$\lambda_\chi = \frac{L_\chi}{L}$ und $\lambda_2 = \lambda^{-1}$

Wie außerdem in Wikipedia gezeigt wird, ist das elastische Gleichgewicht durch folgende Gleichung bestimmt:

$\sigma_{\chi\chi} - \sigma_{zz} = 2\tau = \mu(\lambda^2 - \lambda^{-2}) = \mu(a^2 - b^2)$

wobei a und b der lange und kurze Durchmesser der Raute sind.
Wir können die Streckung $a^2 - b^2$ auch für die konventionelle Definition der Scherung berechen; Aus dem rechten Bild erhalten wir mit $tan(\theta) = \frac{\sigma}{\mu}$:

$a^2 = L^2[1 + (1 + \frac{\Delta x}{L})] = L^2[1 + (1 + tan(\theta))^2]$

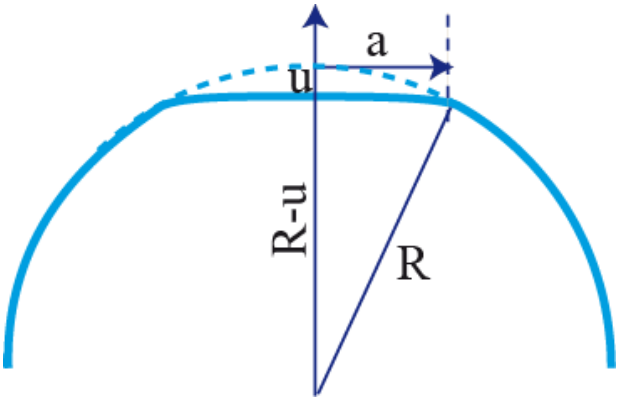
und

$a^2 - b^2 = 4tan(\theta) = 4\frac{\sigma}{\mu}$

Aufgabe 11.2:

Da nur wenige Probleme der Elastizitätstheorie analytisch lösbar sind (die meisten findet man in Landau und Lifshitz Vol VII 'Elastizitätstheorie') ist es sehr wichtig zur Abschätzung von Effekten Näherungen der Deformationen zu benutzen. Da elastische Deformationen meist klein sind, liefert das Verfahren schon gute Ergebnisse.

Für den betrachteten Fall der Kugelkappe findet man die die Zusammenhänge zwischen der Deformation u (Kappendicke), dem Radius R der Kugel und dem Radius a der Basis der Kugelkappe in der Formelsammlung von Bronstein und Semendiajew.



a)

a: Kappenradius

R: Radius

u: Kappentiefe

$a^2 + (R - u)^2 = R^2$
$a^2 = 2Ru - u^2$
$a = \sqrt{2Ru - u^2}$

a) Die erste Ableitung ist $\frac{du}{dx} \approx \frac{u}{R}$. Die dadurch induzierte Spannung in der Kappe: $\sigma = Eh\frac{u}{R}$, wobei Eh der zweidimensionale E-Modul der Schale der Dicke d ist. Die Dehnungsenergie (pro Fläche) wird dann $E_{Dehnung} \approx Eh\frac{u}{R}$.

Die zweite Ableitung ist von der Größenordnung: $\frac{d^2u}{dx^2} = \frac{d}{dx}\frac{du}{dx} \approx \frac{u}{R^2}$

Die Biegeenergie der Deformation ist Biegemodul [κ mal $(\frac{d^2u}{dx^2})^2$)]:$E_{Biegung} \approx Eh^3(\frac{u}{R^2})$

Man beachte den wichtigen Unterschied zwischen schwach gebogenen Platten und kleinen Deformationen der Kugelschale. Das Verhältnis Dehnungsenergie zu Biegeenergie ist im Fall der Kugelschale von der Größenordnung $(\frac{R}{u})^2$, während die Dehnung im Fall der Platten vernachlässigbar ist, falls u«h. Die Situation ändert sich, falls die Kugel Überschussfläche hat oder ein Loch, da dann die Dehnung wieder ein Effekt zweiter Ordnung ist.

b) Der Unterschied zwischen Platte und Schale wird besonders beim Lösen der zweiten Aufgabe einsichtig:

$R \rightarrow R + \zeta$
$U = 2\pi(R + \zeta) \rightarrow \Delta U = 2\pi\zeta$

Die relative Dehnung ist: $\frac{u}{R}$. Für $R \to \infty$, d.h. für eine Platte geht die relative Dehnung gegen null. Eine alte Scherzfrage lautet: Um die Erde zu stabilisieren, schmiedet Atlas einen Ring um den Äquator. Er macht ihn aber einen Meter zu lang. Wie weit steht der Ring von der Oberfläche ab?

Die Änderung des Umfangs ist $\Delta U = 2\pi\zeta$. Daher wird $\zeta = \Delta U/2\pi = \frac{1m}{2\pi} \approx 16$ cm, was auf den ersten Blick überraschend ist. Die relative Dehnung ist aber wieder sehr gering:

$\frac{\Delta U}{U} = \frac{\zeta}{R} \approx 2.35 \cdot 10^{-8}$

Aufgabe 11.3:

In Kapitel II haben wir gesehen, dass die Formenvielfalt der Riesenvesikel aus einer Lipidkomponenten schon sehr reich ist und durch drei Parameter bestimmt wird: Das Flächen-zu-Volumen Verhältnis und die spontane Krümmung C_0. Bei nur einer Komponenten sind die Doppelschichten symmetrisch und im thermodynamischen Gleichgewicht ist $C_0 = 0$. Bei der spontanen Bildung der Vesikel aus Multischichten (durch Quellen in Wasser) haben die beiden Monoschichten zunächst dieselbe Fläche A_0, so dass nach der Bildung der Vesikel der innere Monofilm lateral etwas komprimiert und der äußere expandiert werden muß. Der Radius des Vesikels sei R und die Fläche der 'neutralen Fläche' (die im Fall symmetrischer Membranen zwischen den Monoschichten liegt) ist $A_0 = 4\pi R_0^2$. Die Flächen der äußeren (A_a) und inneren Monoschicht (A_a) sind dann (s. Abb.9.A1):

$A_a = 4\pi(R_0 + \frac{d_m}{2})^2$
und
$4\pi(R_0 - \frac{d_m}{2})^2$

Die relative Flächendifferenz im Vesikel ist daher $\Delta A = (A_a - A_i)^2 \approx 8\pi R_0^2 \frac{d_m}{R_0} = 2A_0 \frac{d_m}{R_0}$

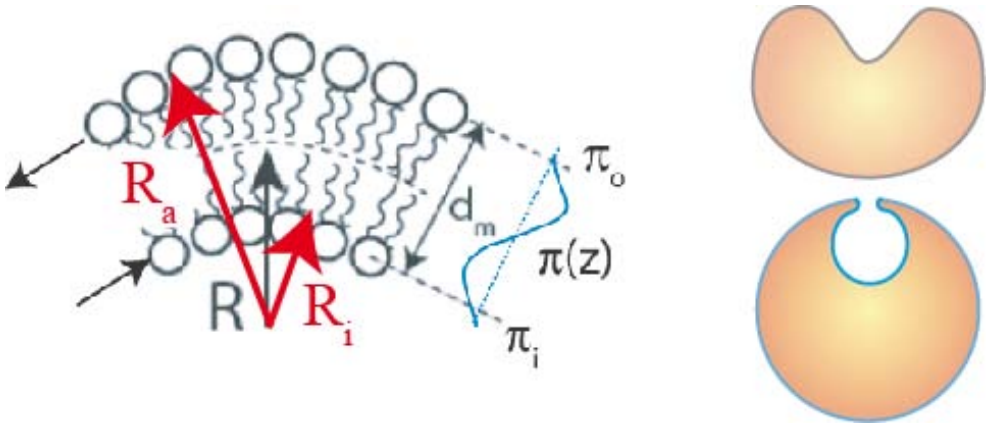


Figure 6: Abb. : Zwei Formen von Vesikeln minimaler elastischer Energie, die aus einer Platte aus einer Doppelschicht mit gleichen Monofilmflächen entstehen können

Nach Gl. 11.37 ist die Biegeenergie, die zur Bildung der geschlossenen Schale aus der flachen Scheibe notwendig ist:

$G_{curv}^{global} = \frac{1}{2}\kappa' \frac{\pi}{Ad_m^2}(\Delta A - \Delta A_0)^2$ (11. 7)

da $\Delta A_0 = 0$ ist. Diese Energiekosten werden durch Bildung von Stomatozyten-Formen oder nach innen zeigende Knospen reduziert. Da der Ausgangszustand nicht bekannt ist, kann man die entstehende Form nicht vorhersagen.

b) Die Vesikel können durch Transfer von Lipiden von der inneren zur äußeren Monoschicht (oft Lipid-flip-flop genannt) in quasisphärische Vesikel übergehen. Dieser Übergang kann in reinen Lipidmembranen sehr langsam (d.h. mit Halbwertszeiten von ~10h) erfolgen.

Zusatzinformation zur Beobachtung der Kinetik des Lipid-flip-flops.

Eine elegante Methode zur Messung der Kinetik des flip-flops ist die Differential-Kalorimetrie (T. Bayerl et al. Biochemistry 27, 6078 (1988))

Man kann den Transfer zwischen Vesikeln aus verschiedenen Lipiden wie DMPC und DPPC bestimmen, oder aus gleichen Lipiden wie DMPC. Dazu verwendet man Lipide mit deuterierten Ketten, wie DMPC-d54.

Die folgende Abbildung zeigt ein experimentelles Ergebnis für DMPC und DMPC-d54 Vesikel. Die detaillierte Analyse der Kinetik des Transfers wird in [Bayerl et al] beschrieben. Dort wir auch gezeigt, wie man zwischen dem Austausch der Lipide zwischen den Vesikeln und dem flip-flop zwischen den Monoschichten unterscheiden kann.

Die Halbwertszeit des flip-flops (ff) hängt vom Phasenzustand der Lipide und vor allem von der Kettenlänge ab. Die Halbwertszeit für DMPC bei 35 °C ($T > T_m$) ist 5h und für DPPC bei 35 °C (d.h. $T < T_m$) 46 h.

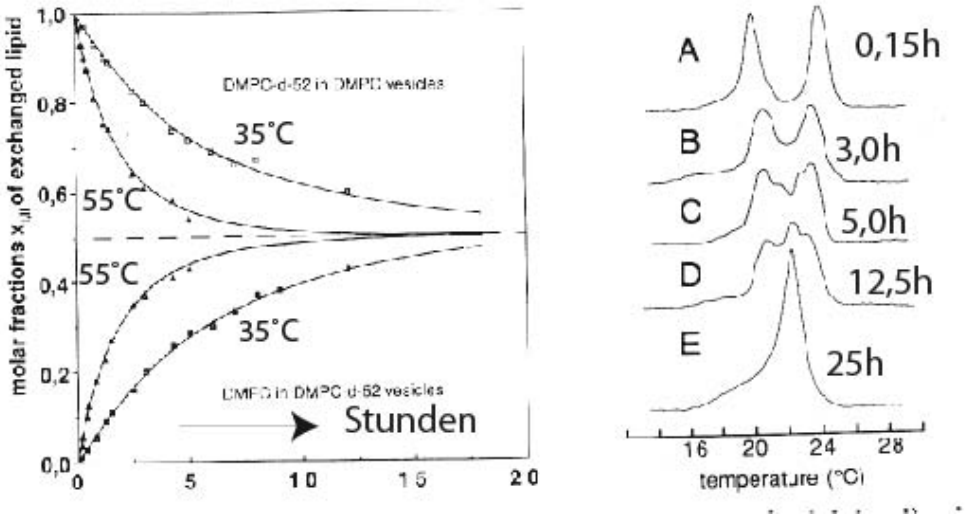


Figure 7: Rechts: Thermogramme einer Suspension aus Vesikeln aus DMPC und DMPC-d54 die zu den angegebenen Zeiten nach der Herstellung beobachtet wurden. Man erkennt, daß die beiden Banden langsam verschmelzen: Nach 24 Stunden sind die Lipide vollständig ausgetauscht. Links: Die aus der Analyse der Thermogramme bestimmten Kinetiken des Austausches. Unten Beobachtung des Übxergangs von DMPC zu DMPC d54. Oben: Kinetik des umgekehrten Transfers.

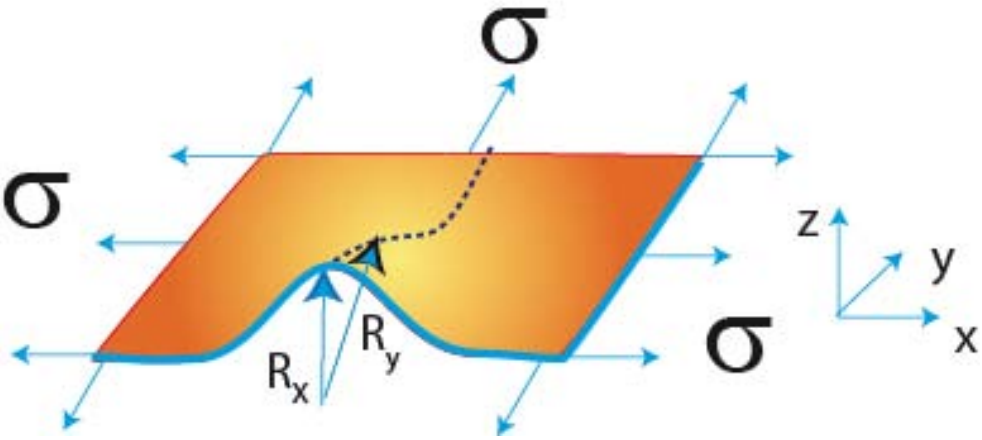
Aufgabe 11.4:

Ausgangspunkt ist der Zusammenhang zwischen dem Young-Modul E, der Schalendicke h und der (in der Regel unbekannten) Poissonzahl ν (s. Gleichung 11.6a):

$\kappa = \frac{Ed_m^3}{12(1-\nu^2)} = \frac{1}{9}Ed_m^3$ für $\nu = \frac{1}{2}$.

Mit $E = 10^{12}Pa$ wird $d_m = \sqrt[3]{\frac{9\kappa}{E_{Gold}}} \approx 2.5A$.

Aufgabe 11.5:



Bei Vernachlässigung von Randeffekten wird für Ausbeulungen, die bezüglich der z-Achse rotationssymmetrisch sind ($R_x = R_y$) der Zusatzdruck:

$p = \frac{2\sigma}{R}$

Man beachte, dass in fluiden Membranen die laterale Spannung stets isotrop ist und die Ausbeulungen rotationssymmetrisch sind. Membranen, die durch Vernetzung der Komponenten Schersteifigkeit besitzen, können anisotrope Ausbeulungen besitzen, die durch zwei Krümmungsradien R_x und R_y bestimmt sind. In diesem Fall lautet die Laplace-Gleichung:

$p = \sigma(\frac{1}{R_x} + \frac{1}{R_y})$

Zusatzfrage: Für R_x 100 nm und $\sigma = 10^{-1}\frac{N}{m}$ wird $p \approx 2 \cdot 10^3 \frac{N}{m^2}$.
Man beachte: Der Wert von $\sigma = 10^{-4}\frac{N}{m}$ entspricht etwa 10 % der Zerreißspannung von DMPC Membranen (die für DMPC 2 $\frac{mN}{m}$ ist).

Aufgabe 11.6:

a) *Das Lernziel dieser Aufgabe ist die Kenntnisse der Fourierzerlegung aufzufrischen.*

Man betrachtet eine ebene Membran der Dimension L · L. Die Biegeenergie ist:

$G_{ela} = \frac{1}{2} \int \int dO[\kappa(\Delta u(x,y))^2 + \sigma(\nabla u(x,y))^2]$ (11.6,1)

Es ist zu beweisen:

$G_{ela} = \frac{L^2}{2}[\sum_{q_{min}}^{q_{max}} u_q^2[\kappa q^4 + \sigma q^2]]$

Dabei ist $q_{min} = \frac{\pi}{h}$ und $q_{min} = \frac{\pi}{L}$, wobei h die Membrandicke ist.

Allgemeine 2D Fourierzerlegung:

$u(x,y) = \frac{1}{(2\pi)^2} \sum_{-\frac{\pi}{L}}^{\frac{\pi}{L}} \sum_{-\frac{\pi}{L}}^{\frac{\pi}{L}} (u(q_x, q_y) e^{-2\pi i(q_x x + q_y y)})$
$G_{ela}^{Biegung} = \frac{1}{2} \frac{1}{(2\pi)^2} \int \int dxdy \sum_{-\frac{\pi}{L}}^{\frac{\pi}{L}} \kappa((4\pi)^2 u(q_x, q_y)^4 (q_x^2 + q_y^2)^2)$

Wir betrachten nur den ersten Teil des Energiefunktionals (d .h. die Biegeenergie). Da die Beträge der Exponentialfunktionen eingehen, können wir für quadratische Membranplatten (wegen $q_x = q_y = q$) schreiben:

$G_{ela}^{Biegung} = \frac{\kappa}{2} \sum_{-\frac{\pi}{L}}^{\frac{\pi}{L}} q^2 u^2$

Auf dieselbe kann man den Beitrag der Spannung berechnen und die Gleichung beweisen.

b) Der Übergang vom dem durch die Biegeenergie dominierten zu dem spannungsdominierten Verhalten erfolgt bei:

$q = \sqrt{\frac{\sigma}{\kappa}}$

Die Länge $\lambda_c = \pi\frac{\kappa}{\lambda}$ heißt Kapillarlänge, deren Bedeutung bei der Adhäsion der Vesikel ausführlich diskutiert wird.

Zusatzfrage zu Eigenfunktionen der geschlossenen Vesikel:

Die Behandlung ist sehr viel komplizierter, da man sphärisch harmonische Funktionen als Eigenfunktionen der thermischen Anregung der Vesikel einsetzen muss. Eine ausführliche Berechnung findet man in Schneider et al: J Physique 45 1457 (1984).

Die Anwendung zur Messung der Biegesteifigkeiten der Vesikel durch Fourieranalyse der Vesikel wird ausführlich beschrieben in: Engelhardt et al., J Physique Letters 46 L395-L400, (1985). Dort wird auch gezeigt, dass man die Fourieramplituden allein durch Fourieranalyse der Kontur der Vesikel bestimmen kann.

Eine Beschreibung der Analyse der Eigenschwingungen (Modenanlyse) quasisphärischer Vesikel mit Exzessfläche aus der oben angegebenen Arbeit von Häckl et al J de Physique.

3. Theoretical Background of the Method

3.1. In General. — The vesicle is considered as a quasi-spherical shell with fixed volume V and area A. The area A exhibits an excess with respect to a spherical shell of the same volume which allows to define an equivalent radius according to

$$V = \frac{4\pi}{3} R_0^3, \quad A = R_0^2(4\pi + \Delta) \tag{2}$$

where Δ is the dimensionless excess area. The thermal excitations may then be described in terms of the normalised spherical harmonic expansion ($Y_{lm}(\vartheta, \varphi)$) of the surface according to [11, 12]

$$r(\vartheta, \varphi, t) = R_0 \left(1 + \sum_{l,m}^{\infty} a_{lm}(t) Y_{lm}(\vartheta, \varphi) \right) \tag{3}$$

where ϑ and φ are the polar and azimutal angles. For a general shape the elastic energy associated with the bending excitations will be different in either the (i) spontaneous curvature model [12], (ii) the bilayer coupling model [13] or (iii) the area-difference-elasticity model, which is a combination of both models [14]. For a quasi-spherical shape, the dimensionless mean square amplitudes of the spherical harmonic modes are independent of the model [15] and given by

$$\langle |a_{lm}|^2 \rangle = \frac{k_b T}{k_c (l+2)(l-1)[l(l+1) + \sigma(\Delta)]} \tag{4}$$

where $\sigma(\Delta)$ is an effective tension. The next step is to express the mean square amplitudes $\langle |v_q|^2 \rangle$ of the two-dimensional contour as a functional of the mean square amplitude of the spherical harmonics $\langle |a_{lm}|^2 \rangle$. If the contour is Fourier transformed according to

$$v(\varphi, t) = R_0 \cdot \sum_{q=0}^{q_{max}} v_q(t) \exp\{+iq\varphi\} \tag{5}$$

where φ is the longitudinal angle, the mean square amplitudes in the equatorial plane $\langle |v_q|^2 \rangle$ may be expressed as [16–18]

$$\langle |v_q|^2 \rangle = \sum_{l=q}^{l_{max}} \langle |a_{lq}|^2 \rangle (\cos \pi/2) \cdot N_{l,q} \tag{6}$$

where $P_{l,q}(\cos(\pi/2))$ are the values of the associated Legendre polynomials in the equatorial plane. The factor $N_{l,q}$ is given by $N_{l,q} \equiv \frac{2l+1}{4\pi} \cdot \frac{(l-q)!}{(l+q)!}$. The key point is that the summation starts at $l = q$ and the sum is thus a function of the (dimensionless) wave number of the contour. This approach may be applied if

(i) the vesicle is quasi spherical so that the image plane goes through its centre and if;

(ii) the time over which the fluctuations are observed is much longer than either the recurrence or the relaxation times of the excitation, which may require half a minute observation time for larger vesicles.

The bending stiffness k_c is then given by

$$k_c = \frac{k_b T}{\langle |v_q|^2 \rangle} \cdot S(q) \tag{7}$$

with

$$S(q) = \sum_{l=q}^{l_{max}} \frac{N_{l,q} \cdot [P_{lq}(\cos \pi/2)]^2}{(l-1)(l+2)[l(l+1) + \sigma(\Delta)]}. \tag{8}$$

The sum on the right side of this equation is rapidly converging with l_{max} for moderate values of $\sigma(\Delta)$.

So far, fluctuation spectra of quasi-spherical vesicles have been analysed by using σ as a fitparameter [10,17–19]. This tension, however, is determined by the constraint of fixed area of the vesicle in terms of the excess area parameter Δ alone by the implicit equation

$$\sum_{l \geq 2}^{l_{max}} \frac{2l+1}{l^2 + l + \sigma(\Delta)} = \frac{2\Delta k_c}{k_b T} \tag{9}$$

where l_{max} is the cut-off quantum number characterizing the bending mode of the shortest possible wavelength. It is of the order of the bilayer thickness and therefore

$$l_{max} \propto \frac{2\pi R}{d_m} \approx 10^4. \tag{10}$$

Since in equations (4) and (9) neither the spontaneous curvature nor the area-difference elasticity show up, analysis of the quasi-spherical flickering will neither depend on or even reveal any information about these quantities.

Aufgabe 12.1:

Man kann die Aufgabe graphisch lösen (wie in Abb. 12A), indem man die Kurven der freien Energie der binären Mischungen in der festen (ΔG^β) und fluiden Phase (ΔG^α) für verschiedene Temperaturen berechnet und als Funktion des Molenbruchs einer Komponente (meist $x_B \equiv 1 - x$) aufträgt. Wir beschreiben beide Wege.

	DMPC	DPPC
Umwandlungstemperaturen T_m:	$T_m = 296\,°\mathrm{K}$	$T_m = 313\,°\mathrm{K}$
Umwandlungswärmen ΔH_m:	$\Delta H_m = 25\frac{kJ}{M}$	$\Delta H_m = 38\frac{kJ}{M}$
Umwandlungsentropien ΔS_m:	$\Delta S_m = 84\frac{J}{MK}$	$\Delta S_m = 120\frac{J}{MK}$

Erinnerung an Definitionen und Daten für DMPC und DPPC: Partielle molare Größen (engl. partial molar quantities) sind die Ableitungen der exzessiven thermodynamischen Größen (Thermodynamische Potentiale, Druck, Volumen Entropie) nach der Molzahl n_i. Insbesondere ist das chemische Potential $\mu_i = \frac{\partial G}{\partial n_i}|_{p,n_i}$. Umwandlungswärme ($\Delta H_m$, engl. standard enthalpy of fusion) und thermische Energie, die aufgewendet werden muss, um ein Mol der Lipide zu schmelzen.

$$\Delta S_m = \frac{\Delta H_m}{T_m}$$

Ausgangspunkt für die graphische und analytische Bestimmung der Phasendiagramme ist die gesamte Änderung der freien Energie:

$$\Delta G = x_A \Delta G_A^0 + (1 - x_A)\Delta G_B^0 + \Delta G_m \quad (12.11)$$

Dabei ist $\Delta G_A^0 = -(G_A^\beta - G_A^\alpha)$ der Unterschied der freien Energie der Komponente A zwischen der festen und in der fluiden Phase. Analog gilt für die Komponente B: $\Delta G_B^0 = -(G_B^\beta - G_B^\alpha)$. Die Wahl der Vorzeichen ist (wie in Abb. 12A) dadurch bestimmt, dass wir als Standardzustand die Mischung aus den fluiden Phase der Komponenten A und B nehmen und uns zwischen den Schmelztemperaturen der beiden Komponenten befinden. Wir betrachten der Einfachheit halber auch nur den Fall idealer Mischungen, für die der Beitrag der Mischungsentropie folgende einfache Form hat:

$G_{m,i} = RT x_i ln x_i + (1 - x_i) ln(1 - x_i)$ (12.1.2)

Weg 1. Graphische Lösung: Bei der Auftragung der freien Energie muss man noch Folgendes beachten. Erstens: Der Unterschied der Schnittpunkte der Parabel mit der Ordinate bei $x_A = 0$ bzw. $x_A = 1$ gegeben ist durch $\Delta G_A^0 = -(G_A^\beta - G_A^\alpha)$ bzw. $\Delta G_B^0 = -(G_B^\beta - G_B^\alpha)$. Zweitens: Die in Abb. 12.1.1 wiedergegebenen Parabeln verschieben sich bei Annäherung an die Umwandlungstemperatur mit zunehmender Temperatur nach oben.

In der linken Abbildung sind die Parabeln der freien Energien für eine Situation eingezeichnet, in der die Mischung in eine A-reiche fluide L_β -Phase und eine B-reiche L_β -Phase zerfällt. Man befindet sich oberhalb der Umwandlung der Komponente A. Rechts von der Zusammensetzung a ist man im fluiden, links von b in der festen Phase und dazwischen findet der Zerfall in die beiden Phasen statt. Im mittleren Bild wurde die Temperatur erhöht. Dabei wandert vor allem das Minimum der Parabel der fluiden Mischung (L_α) nach rechts. Im rechten Bild werden drei Situationen gezeigt, in denen man sich (von oben nach unten) weit oberhalb der Liquiduslinie, an der Temperatur der derselben und weit unterhalb der Soliduslinie befindet.

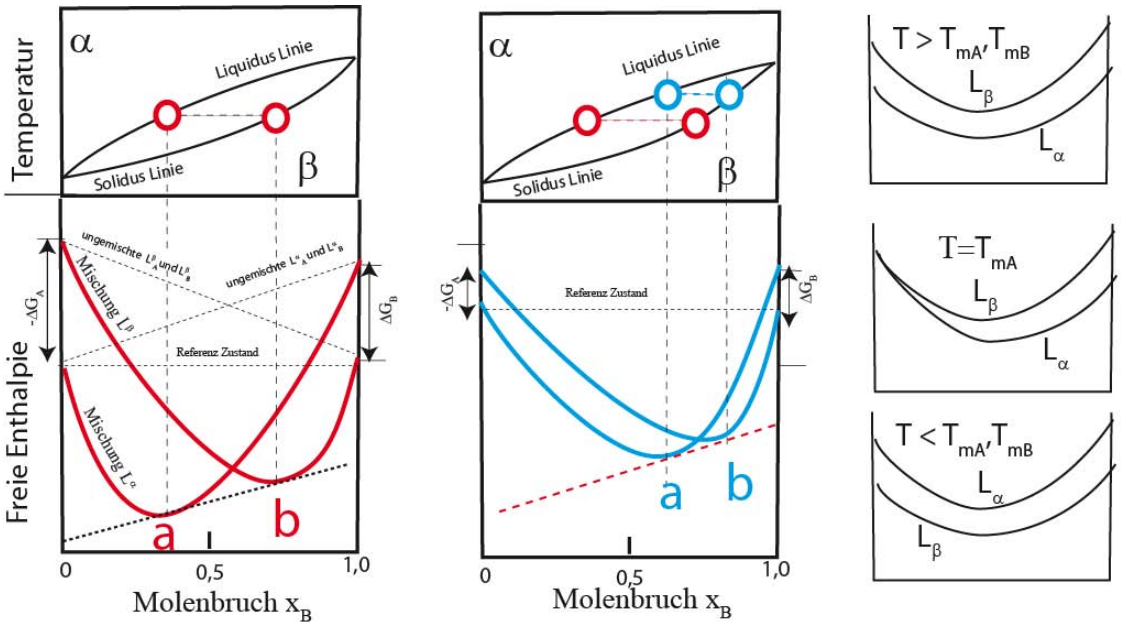


Figure 8: Zur graphischen Bestimmung der Phasengrenzen

Weg 2: Analytische Berechnung des Phasendiagramms: Man geht von Gleichungen 12.A.1 für die freie Enthalpie der Molekülsorten A und B aus.

Im Phasengleichgleichgewicht (d.h. an den zwei Phasengrenzen) sind die chemischen Potentiale jeder Komponente in den beiden Phasen gleich. Wir betrachten die Komponente A.

Da das chemischen Potential (μ_A) ein Maß für die Arbeit ist, ein Molekül A vom Zustand niedriger in den Zustand höherer freier Enthalpie zu verschieben, brauchen wir nur die Änderung der Molzahl dieser Komponente von N_A zu betrachten. Wir müssen aber dann berücksichtigen, dass in jeder Phase gilt:

$x_A^{\alpha(\beta)} + x_B^{\alpha(\beta)} = 1$ (12.1.3)

Da wir für die Berechnung der chemischen Potentiale nur die Variation einer Komponente (A oder B) betrachten müssen, folgt:

$N(\mu_A^\alpha - \mu_A^\beta) = \Delta G_A^0 + RT\,ln(\frac{x_A^\alpha}{x_A^\beta})$ (12.1.4)

Eine analoge Gleichung erhält man für die Komponente B. Man erhält daher das folgende Gleichungssystem:

$\frac{x_A^\alpha}{x_A^\beta} = e^{-\frac{\Delta G_A^0}{RT}}$ und $\frac{x_B^\alpha}{x_B^\beta} = e^{-\frac{\Delta G_B^0}{RT}}$ (12.14)

Man kann nun mit Hilfe der Bedingung (b) in der linken Gleichung einmal x_A^β und einmal x_A^α eliminieren und erhält:

$$x_A^\beta = \frac{e^{-\frac{\Delta G_A^0}{RT}}[1-e^{-\frac{\Delta G_B^0}{RT}}]}{1-e^{-\frac{\Delta G_A^0+\Delta G_B^0}{RT}}}$$

$$x_A^\alpha = \frac{[1-e^{-\frac{\Delta G_B^0}{RT}}]}{1-e^{-\frac{\Delta G_A^0+\Delta G_B^0}{RT}}}$$

Dies sind die beiden Gleichungen zur Berechnung der Liquidus- und Solidus-Linie. In der Aufgabe 12.5 werden einige Beispiele gezeigt.

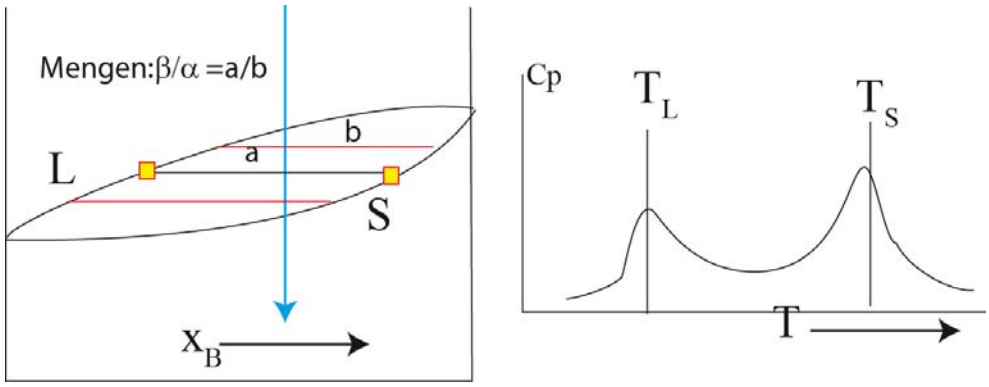
Eine ausführlichere Begründung findet man in dem Übersichtsartikel von D.Gaskell in R.Cahn and P.Haasen 'Physical Metallurgy' North Holland Publishing, Amsterdam 1983.

Aufgabe 12.2:

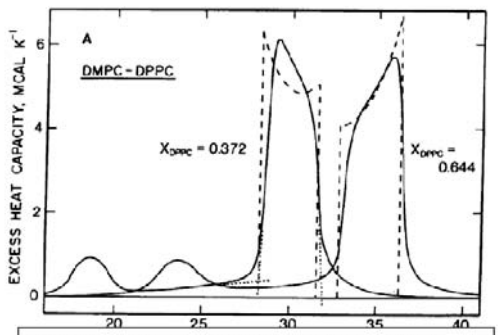
Kalorimetrische Bestimmung der Phasengrenzen

Es gibt viele Methoden zur Messung der Phasengrenzen wie NMR-und Infrarot-Spektrokopie, Kalorimetrie und Densitometrie. Wir betrachten nur die beiden letzteren Verfahren:

Differentialkalorimetrie: Die Methode wurde in Aufgabe 10.3 ausführlich beschrieben. Die Meßgröße ist $\Delta H = \int_{T1}^{T2} C_p dT = \int_{t1}^{t2} \frac{dH}{dt} dt$. Da beim Aufwärmen an der Solidus-Kurve abrupt Wärme frei wird, steigt $C_p = \frac{dH}{dT}$ steil an. Beim Überschreiten der Liquiduskurve tritt wieder eine Überhöhung der C_p-T auf, da die frei werdend Wärme wieder abrupt auf null abfällt. Die Breite des Anstiegs und des Abfalls ist durch die Breite der Umwandlung der reinen Komponente bestimmt. In der Mitte der Zigarre ändert sich Cp langsam und es entsteht eine Eindellung der C_p-T-Kurve. Das mittlere Bild zeigt die gemessene und berechnete C_p-T-Kurven für die Mischung aus DMPC und DPPC und das daraus berechnete Phasendiagramm. Die Theorie zur Bestimmung von C_p wurde in der Arbeit von Mabrey and Sturtevant dargestellt.



a)



Ausgezogene Kurven: Verlauf der Wärmekapazität der Mischung DMPC/DPPC für zwei Molenbrüche Die linke Bande rührt von der Vorumwandlung $L_\beta \rightarrow P_\beta$ her. Die ausgezogenen Kurven sind Thermogramme und die gestrichelten die berechneten C_p-x_B-Kurven. (Nach Mabrey and J. Surtevant 1976)

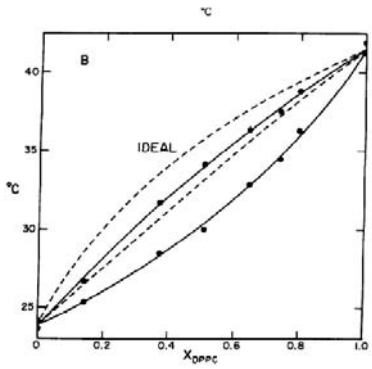
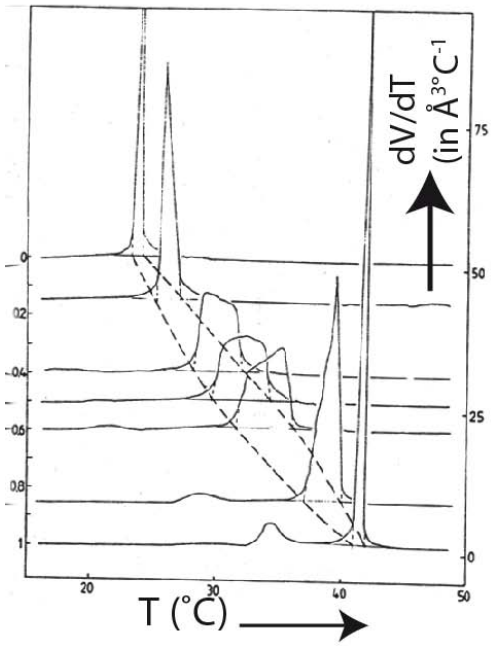
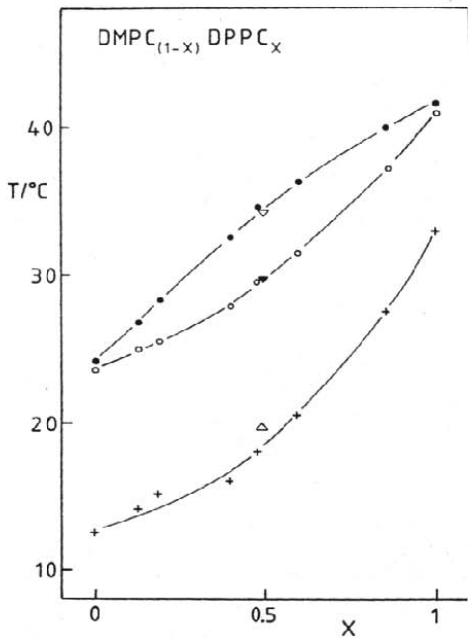


FIG. 2. (A) (—) Observed calorimetric transition curves for two mixtures of DMPC and DPPC; (- - -) transition curves calculated (see *text*) on the basis of the phase diagram in panel B. (B) (—) Phase diagram constructed from initiation and completion temperatures read from observed transition curves, corrected as described in the *text*; (- - -) ideal phase diagram calculated according to Eqs. 1 and 2. MCAL is a millicalorie.

b)





Die *Densitometrie* ist eine andere klassische, aber sehr empfindliche thermodynamische Methode zur Bestimmung der Phasendiagramme. Dabei wird die Dichte der Lösungen bestimmt, indem man die Verstimmung eines zu mechanischen Schwingungen angeregten Oszillators misst. Als solcher dient beispielsweise ein Glasröhrchen, das mit der Substanz befüllt wird, deren Masse M genau bekannt ist. Die effektive Masse des schwingenden Systems ist dann

$m_{eff} = m_0 + \rho V$, wobei ρ die Dichte und V das Volumen der Substanz sind. Im Fall ungedämpfter Schwingungen ist die Eigenfrequenz $\omega = \sqrt{\frac{k}{m_0}} = \sqrt{\frac{k}{M+\rho V}}$, wobei k eine Federkonstante des Systems ist, die man durch Messung der Masse des leeren Röhrchens bestimmt.

Referenzen:

Calorimetrie DMPC/DPPC:

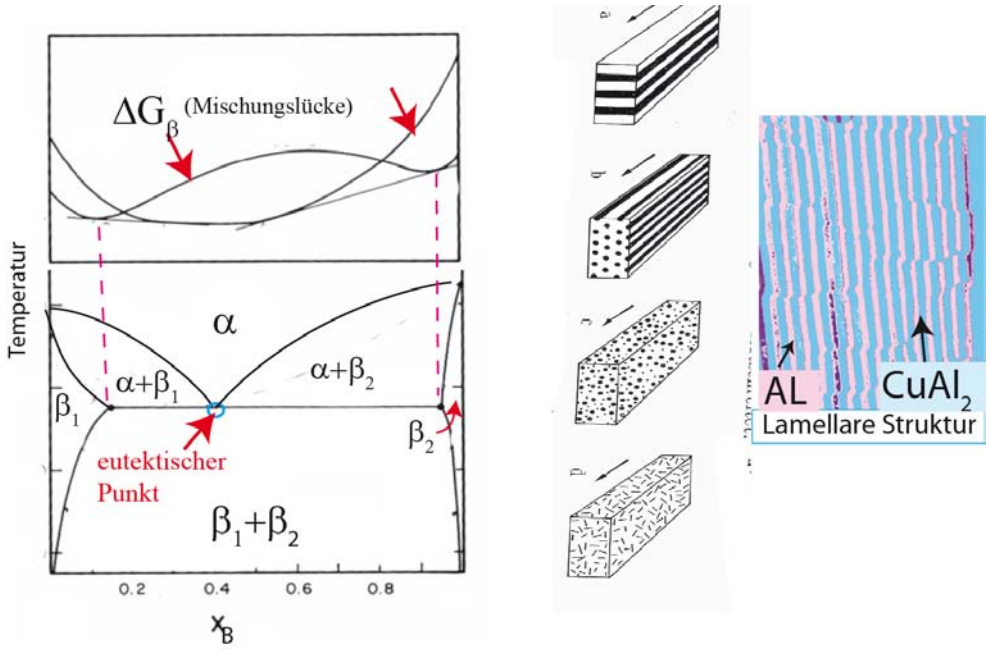
S. Mabrey and J. Surtevant, Proc.Natl.Acad Sci 73,3863 (1976)

Densitometrie:

G. Schmidt and W. Knoll, Berichte Bunsenges. Phys Chem 89; 36-43, 1985.

Aufgabe 12.3:

Eutektikum (griechisch: 'gut schmelzen') ist ein Phasengleichgewicht einer binären Mischung, in dem drei Phasen im Gleichwicht koexistieren. Die linke Abbildung zeigt die Entstehung eines Eutektikums im Bild der freien Energie als Funktion der Zusammensetzung.



Eutektische Mischungen findet man in der Regel nur bei Metalllegierungen. Sie sind aus zwei Gründen interessant:

- Der Schmelzpunkt eutektischer Legierungen liegt sehr tief. Beispiel ist Lötzinn, eine Legierung aus Sn und Pb mit 62% Zinn (Sn). Ein anderes Beispiel ist das quecksilberfreie Fieberthermometer aus einer Legierung aus Gallium, Indium und Zinn (Galinstan). Ein mögliches (aber noch nicht bewiesenes) Beispiel aus der Membranphysik ist die Mischung aus DMPC und Cholesterol bei 8 Mol% Cholesterol.

- Eutektische Mischungen können sehr vielfältige Strukturen durch hochgeordnete Anordnungen der Mischphasen ausbilden. Das Bild zeigt zwei Beispiele: Links sehen wir typische geordnete Strukturen, die beim Abkühlen aus dem eutektischen Punkt entstehen können. Es handelt sich um ein interessantes Problem der Musterbildung durch Zusammenspiel von Diffusion und Grenzflächenkräften an den Phasengrenzschichten. Das rechte Bild zeigt das reale Beispiel einer Al/Cu-Legierung, wobei die feste Phase aus einer stöchiometrischen $CuAl_2$-Mischung

und die fluide aus flüssigem Al besteht (Schmelzpunkte: Al ca 600°C, Cu ca 1000°C). Die Metallurgen benutzen diese Möglichkeit, um Metalle mit spezifischen mechanischen Eigenschaften herzustellen, beispielsweise um die Formbarkeit (Duktilität, engl. ducility genannt) zu erhöhen. Ein wichtiges Beispiel ist die eutektische Mischung aus 72% Ag und 28% Cu, die als Zahnfüllungen benutzt werden.

- Es gibt auch interessante Anwendungen eutektischer Mischungen zur Anwendung von Arzneimitteln (ein Galenik genanntes Gebiet, auf dem auch Physiker gefragt sind), wo es darum geht, die Pharmaka möglichst an spezifischen Stellen des Körpers zu konzentrieren, um die Dosis gering zu halten. Ein erfolgreiches Beispiel ist die Applikation von Lokalanästhetika auf der Haut. Die Wirkstoffe Lidocaine and Prilocaine werden in Emulsionen suspendiert. Werden die Substanzen getrennt eingebracht, bleiben sie kristallin. 1:1 Mischungen bilden dagegen bilden eine eutektische Mischung und sind bis 18 °C fluide.

Zusatzbemerkung: Es mag etwas absurd erscheinen, in einem Buch über Biophysik Beispiel aus der Metallphysik zu diskutieren. Da man es in der Biologie stets mit Verbundmaterialien aus vielen Komponenten zu tun hat, spielt die Physik von Mischsystemen eine zentrale Rolle für deren Struktur und Funktion, wie das Beispiel der Bildung von funktionalen Domänen zeigt. Viele Millionen Jahre der Evolution waren notwendig, um die richtigen Membranmischungen und Methoden zur Kontrolle der Zusammensetzung auszubilden. Die Metallurgen haben dank der Thermodynamik der Mischungen seit rund 150 Jahren gelernt, Mikrostrukturen der Metalle systematisch einzustellen, um spezifische physikalische Eigenschaften zu erzwingen. Man denke nur an die Herstellung von rostfreiem Stahl. Natürlich haben die Menschen auch vorher schon intuitiv erstaunliche Legierungen (wie Bronze und Stahl) hergestellt, aber die Entwicklung ging sehr viel langsamer.

Die Metallphysik ist ungeheuer reich an Beispielen, an denen man die Grundprinzipien der Physik von Legierungen lernen und verstehen kann, um neue Materialien rational zu entwick-

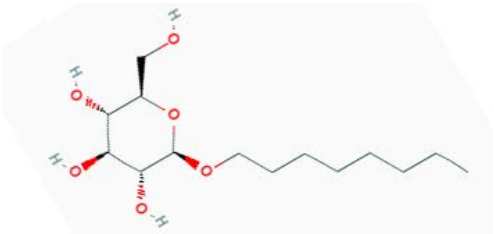
eln. Wenn wir Zusammenhänge zwischen der Struktur und Funktion der Membranen, des Zytoskeletts oder der extrazellulären Matrix quantitativ erfassen wollen, müssen wir die Thermodynamik der Legierungen aus Lipiden und Proteinen oder der Mischungen aus semiflexiblen und flexiblen Polymeren systematisch untersuchen. Die rationale Herstellung biologischer oder biokompatibler Materialien ist ein zukunftsträchtiger Zweig der angewandten Biomaterialforschung.

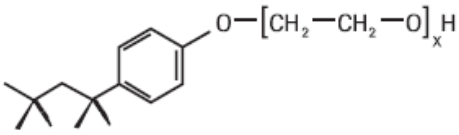
Aufgabe 12.4:

Aufbau von Modellmembranen-Rekonstitution von Proteinen.

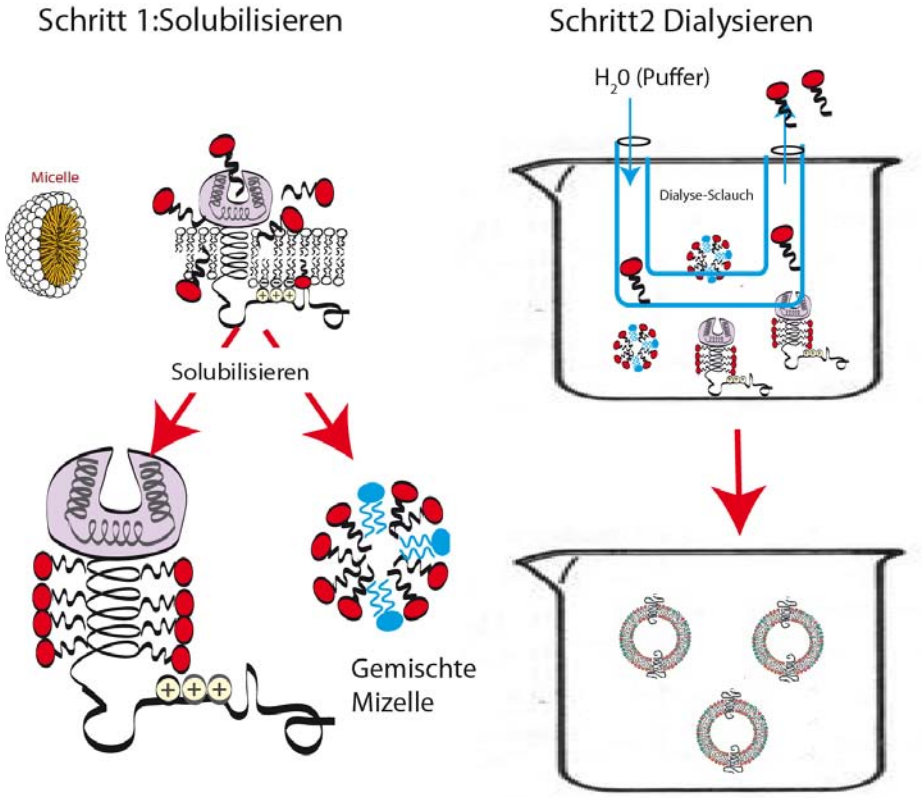
Motivation: Eine Strategie auf dem Weg zum Verständnis komplexer Biomaterialien ist der Aufbau zunehmend realistischer Modelle. Um Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion einzelner Membranpoteine zu verstehen, werden diese in Vesikel oder festkörpergestützte Membranen eingebaut (siehe Abb 13.3), ein oft sehr mühsames Verfahren. Es besteht aus zwei Schritten: Der Solubilisierung der Proteine und Phospholipide durch Tensiden (engl. surfactants) und der anschließenden Entfernung der Tenside. Wie in der Abbildung links oben dargestellt, wird der hydrophobe Stamm der Proteine durch einen Mantel aus Tensiden umgeben und so dessen Denaturierung vermieden. Wichtig ist die Verwendung von nicht-ionischen Tensiden, um die Denaturieung der Kopfgruppen der Proteine zu umgehen.

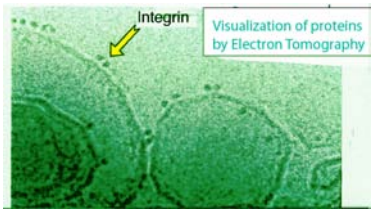
Zwei wichtige Beispiel sind: N-Octyl-β-D-glucoside (links, mit der kritischen Mizellkonzentration (cmc) von 6 to 8 mM) und Triton X100 (rechts, cmc 23 mM):





Durch sukzessive Entfernung der Tenside entstehen die Vesikel mit eingebauten Proteinen durch Selbstorganisation. Den Beweis des Erfolgs des Experiments führt man in der Regel mittels Elektronenmikropskopie, insbesondere Elektronen-Tomographie. Das rechte Bild zeigt in Vesikel eingebaute Integrin-Rezeptoren (nicht veröffentlichen Aufnahmen eines Autors (ES)). Aus solchen Aufnahmen folgt, dass mit den Methoden ein Protein-zu-Lipid-Verhälnis von etwa 10^{-3} erreicht wird. Dies entspricht in etwa den Dichten einzelner Sorten von Membranproteinen in Zellmembranen (z.B. von Bande III- Proteinen in Erythrozyten s. Kapitel 12 oder von Selektinen in Leukozyten).





Grundlagen der Dialyse-Methoden und Alternativen: Der Grund für die Bildung der Membranen ist die extrem niedrige cmc der Phospholipide von cmc ~$10^{-12}M^{-1}$, verglichen mit dem Wert der Tenside: cmc ~$10^{-3}M^{-1}$. Neben den Mischmizellen aus Tensid, Phospholipid und Protein enthält der Puffer in der Präparationszelle einige mM des molekular gelösten Tensids. Ersetzt man dieses Lösungsmittel durch reines Wasser, so werden die monomeren und in Mizellen befindliche Tenside durch die Poren der Dialysemembran entfernt und Vesikel mit eingebauten Proteinen werden gebildet.

Manche Tenside wie Triton X100 lassen sich schwer durch Dialyse entfernen. Daher benutzt kolloidale Suspensionen von Polymer-Partikeln (z.B. die kommerziell erhältlichen Biobeads), welche Triton sehr stark adsorbieren. Man trennt dann die Vesikeln von den Kolliden durch Zentrifugation.

Aufgabe 12.5:

Spontane Porenbildung in Membranen.

Motivation: Die Bildung von Poren in Lipid-Vesikel ist von praktischer Bedeutung. Sie spielt eine wichtige Rolle bei der Herstellung festkörpergestützter Membranen durch Spreiten von Vesikeln auf Festkörpern und bei der Freisetzung von Wirkstoffen aus Vesikeln, bei deren Anwendung als Arzneimittel-Transporteure in Zellen. Schließlich haben wir die Bedeutung der Porenbildung als letzten Schritt vor der Fusion von Membranen kennengelernt. Es gibt zwei

Wege zur Steuerung der Porenbildung: Die Erhöhung der lateralen Spannung σ und die Reduktion der Randenergie der Poren durch Tenside. Wir betrachten hier nur den ersten Fall. Ein sehr schönes Experiment zur Porenbildung stammt von der Arbeitsgruppe von F. Brochard. (E. Karatekin, Biophys. J 84, 1734 (2003)). Ein Beispiel aus dieser Arbeit zeigt die Abb. 12.5A. In dieser wurde die Membranspannung durch Erhöhung des osmotischen Drucks mittels Glukose kontrolliert. Zur Verlangsamung des Prozesses wurde Glyzerin zum Puffer gegeben (Viskosität $\eta = 32 \cdot 10^{-3} \frac{Js}{m^2}$ oder 32cP). Die Vesikel wurden mit fluoreszierenden Lipiden dotiert und mittels Mikrofluoreszenz beobachtet.

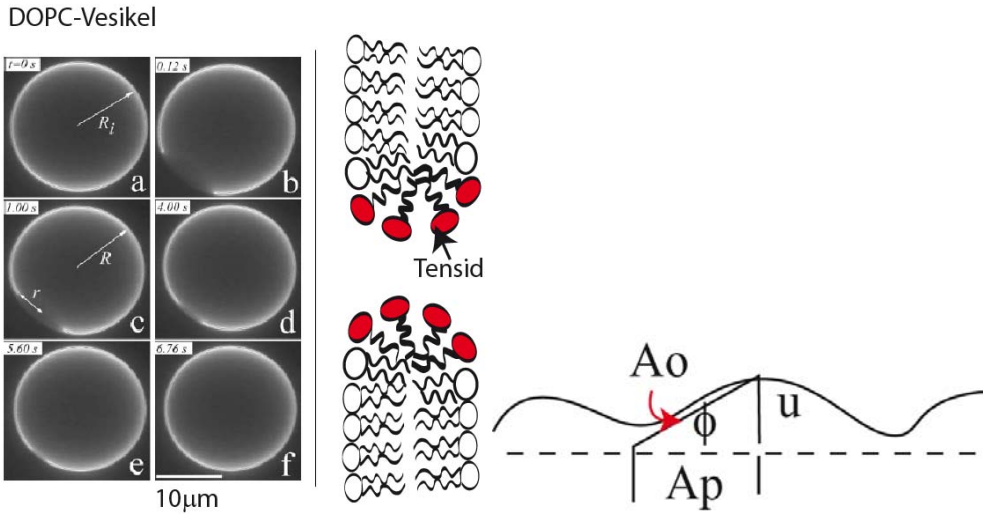


Figure 9: Links: Spontane kurzzeitige Porenbildung in DPOC-Vesikeln. Man beachte, dass die Pore sich kurzfristig öffnet und wieder schließt. Rechts: Definition der projizierten rauen Fläche. Dabei ist u ist die Ondulationsamplitude.

Mechanik der Porenbildung durch laterale Spannungen.

In Kapitel hatten wir darauf hingewiesen, dass die dynamisch rauen Membranen durch laterale Spannungen geglättet werden. Zur quantitativen Analyse dieser Glättung hatten wir die Differenz δA zwischen den Flächen einer glatten (Fläche A_0) und einer rauen Membran (A_p) betrachtet. Wir hatten begründet, dass die relative Flächenänderung $\frac{\delta A}{A}$ bei Anlegen einer kleinen Membranspannung σ ' durch Gleichung 11.5b gegeben ist.

$\frac{\delta A(\sigma)}{A_0} \approx -\frac{k_B T}{8\pi\kappa} ln(\frac{\kappa\pi^2}{\sigma' d_m^2})$ (1a)

Dabei $\frac{\pi}{d_m}$ der Wellenvektor der höchsten Mode und d_m die Membrandicke. Diese Gleichung wurde in einer Arbeit von Servus und Helfrich (in Il Nuovo Cimento 3D, 137, 1984) abgeleitet. In derselben Arbeit wurde für den Fall der spannungsfreien Membran folgende Gleichung abgeleitet:

$\frac{\delta A(\sigma)}{A_0} \approx -\frac{k_B T}{8\pi\kappa} ln(\frac{A_0\pi^2}{d_m^2})$ (1b)

Wir betrachten im folgenden den einfachen Fall einer flachen Membran. Der komplizierte Fall eines sphärischen Vesikels wurde in der Arbeit von Karatekin et al (Biophysical J 84,1734-1749 (2003)) behandelt. Der Beitrag der Biegeenergie zur Porenbildung ist jedoch klein.

Wenn wir nun die Membran durch Variation des osmotischen Druckes oder mittels Mikropipetten dehnen, so hat die relative Dehnung die Form $\eta = \frac{\delta A(\sigma)}{A_0} - \frac{\delta A(0)}{A_0}$. Setzt man die Gln.(1a) und (1b) ein und berücksichtigt, dass bei $\sigma = 0$ auch $\eta = 0$ wird, so folgt:

$\eta \approx \frac{k_B T}{8\pi\kappa} ln(1 + \frac{\pi^2\sigma' A_0}{\kappa})$

a) Die Biegeenergie quasisphärischer geschlossenen Membranen ist unabhängig vom Radius R und beträgt: $\Delta G_{ela} = 8\pi\kappa$. Für Phospholipid-Vesikel ist $\kappa \approx 10 k_B T$, d.h. die gesamte Energie beträgt nur einige $k_B T$ und ist klein gegenüber der Randenergie, die beim Öffnen der Pore aufgewendet werden muss.

b) Wird die geglättete Membran weiter gestreckt, so muß man dies durch einen zusätzlichen Beitrag berücksichtigen. Die allgemeine Dehnungs-Kraft Beziehung lautet daher:

$\eta \approx \frac{k_B T}{8\pi\kappa} ln(1 + \frac{\pi^2 \sigma' A_0}{\kappa}) + \frac{\sigma}{K}$

wobei K der Kompressionsmodul der Membran ist.

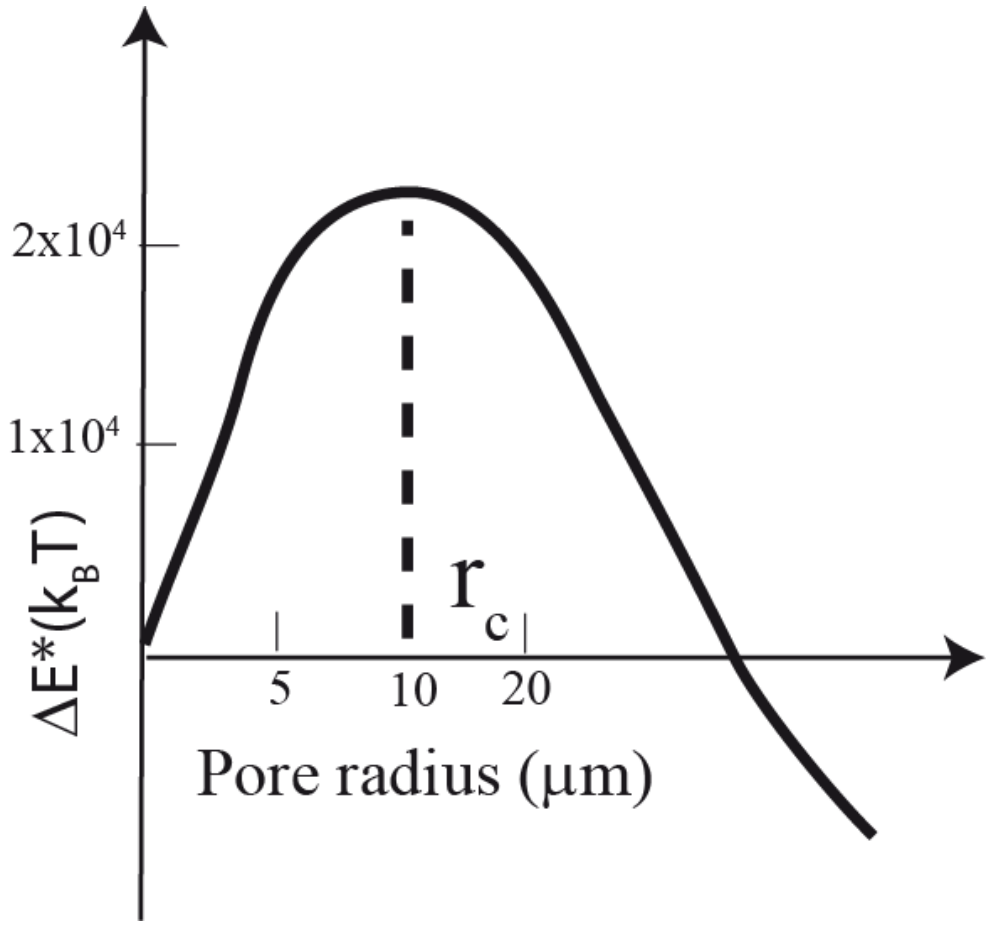


Figure 10: Darstellung der Energie der Pore als Funktion des Porenradius.

Eine ausführliche Theorie der Kinetik des Öffnens und Schließens von Poren findet man in der Arbeit von Karatekin et al (2003).

c) In Kapitel 12.6 hatten wir die Bildung von Poren als aktivierten Prozess beschrieben und

gezeigt, dass der Aufwand an Randenergie durch die Reduktion der Spannung (und damit der in der Membrandehnung gespeicherten Energie) aufgrund der Verkleinerung der Vesikelfläche kompensiert wird. Diese Betrachtung lieferte folgende Gleichung für den kritischen Radius: $\rho* = \frac{\Gamma}{4\sigma}$

Mit $\sigma = 10^{-6}\frac{N}{m}$ wird ρ^*~$2\mu m$. Der experimentelle Wert nach Karatekin ist größer(~$10\mu m$). Mit dem unten abgeschätzen Wert von Γ wird ρ^*~$10\mu m$.

Warum schließt die Pore wieder?

Wenn die Pore öffnet, wird aufgrund des Laplace- Drucks ($P = 2\frac{\sigma}{R}$) Wasser aktiv ausgetrieben. Die Membran-Spannung relaxiert und die Pore schließt sich wieder.

Abschätzung der Randenergie G: Man kann die Randenergie aus der Bindungsenergie δe der Lipide in Membran abschätzen. Diese wurde mit der Kraftspektroskopie mittels Mikropipetten bestimmt (Abb. 8.10 und Evans und Ludwig, J. Phys. Condensed Matter. 11, 1-6 (1999)) und liegt bei mittleren Kraftraten bei rund 25 pN. Mit $d_m \approx 4nm$ wird $\delta e \approx 25k_BT$. Der Porenradius sei ~50 nm (Umfang ~300 nm) und enthält ~300 Lipide: d.h. Γ ~25 pN. Dieser Wert stellt eine obere Grenze von Γ dar, da nur eine Kette mit Wasser in Kontakt kommt, wenn sich die Pore öffnet.

Aufgabe 13.1:

Van der Waals-Kontraktion versus entropische Abstoßung.

Vorbemerkung: Wir betrachten als Beispiel die Van der Waals-Wechselwirkung zwischen einer

Lipidschicht (Dicke d_m) und einer Glasoberfläche. Diese ist:

$V(h) = \frac{H_{MG}}{12\pi}[\frac{1}{h^2} - \frac{1}{(h+d_m}{}^2]$

Man erhält diese Gleichung, wenn man die Wechselwirkungen zwischen der Glasoberfläche und einer Halbebene aus Lipid im Anstand h bzw. aus Wasser im Abstand (h+d_m) betrachtet und berücksichtigt, dass die Wechselwirkung zwischen zwei Halbebenen $\frac{H}{12\pi h^2}$ ist. Entsprechend gilt für zwei isolierte Membranen:

$V(h) = \frac{H_{MM}}{12\pi}[\frac{1}{(h+2d_m)^2} - \frac{1}{h^2} + \frac{2}{(h+d_m)^2}]$ (1)

mit angeregten Biegefluktuationen. Es ist $H_{MG} \approx 8.0 \cdot 10^{-21} J$ und $H_{MM} \approx 5 \cdot 10^{-21} J$, d.h. die Werte sind ähnlich groß.

Da die Ondulationskräfte Abstoßungsdrücke erzeugen (und nicht als wirkliche Potentiale zu betrachten sind) ist es sinnvoller, Kräfte pro Fläche zu betrachten. Für den hier betrachteten Fall der Wechselwirkung der Membran mit Glas gilt:

$f(h) = \frac{H_{MG}}{6\pi}[\frac{1}{h^3} - \frac{1}{(h+d_m)^3}] \approx \frac{3k_BT}{2\pi}\frac{1}{h^3}(1 - 3\frac{d_m}{h})$ (2)

Die Näherung gilt natürlich nur für d_m « h. Die Gleichung für den Ondulationsdruck lautet (Kapitel 11.5.3): $p_{disj} \sim \frac{(k_BT)^2}{16\kappa h^3} \sim \frac{k_BT}{160h^3}$, wobei die rechte Gleichung für Lipidmembranen mit κ ~$10k_BT$ gilt (s. Tabelle 11.1).

Der Vergleich der Gleichungen zeigt, dass der repulsive Ondulationsdruck vergleichbar wird mit der Van der Waals Anziehung, falls $h \approx \frac{d_m}{3} \approx 12nm$. Das entspricht in etwa der Länge mit der Kopfgruppen vieler Membranproteine, die aus der Membran herausragen.

Ergänzungen zur Wechselwirkung zwischen freien Membranen:

Die Van der Waals-Attraktion zweier freier Membranen ist nach Gl (1) von der Größe $f(h) \approx \frac{H_{MM}}{6\pi}\frac{6d_m}{h}$. Mit $H_{MM} \approx k_B T$ folgt, dass die Kräfte vergleichbar sind, falls $h \approx 50d_m$~$200nm$. Die Ondulationskräfte dominieren die Wechselwirkung also bei sehr viel größeren Abständen. Dies hat interessante Konsequenzen für die Wechselwirkung zwischen nicht-sphärischen intrazellulären Organellen, wie dem ER oder den Endosomen. Die Ondulationen verhindern das Verkleben der Organellen, falls sie nicht durch spezifische Kräfte zwischen Oberflächen-Rezeptoren erzwungen wird. Die Abstoßung zwischen den Organellen kann auch durch laterale Spannungen getriggert werden.

Aufgabe 13.2:

Herstellung festkörpergestützter Membranen durch Vesikelfusion auf Oberflächen.

Motivation: Seit den ersten Versuchen zur Herstellung festkörpergestützter Lipidfilme vor rund 20 Jahren (s. McConnell und Tamm 1984; Review: Sackmann 1996), gewinnen diese Modellmembranen zunehmend an Bedeutung; zur Herstellung von biologisch aktiven Grenzschichten auf Halbleiterbauelementen (zum Aufbau von Biosensoren) oder zum Aufbau von Modellen der Zelloberfläche. Es eröffnete sich dadurch ein neues Gebiet zwischen Festkörperphysik und Biophysik. Es gibt zahlreiche Methoden zur Herstellung solcher Filme.

a) Wir betrachten hier die häufig verwendete Vesikel-Fusion bei hohen Adhäsionsenergien W_{ad}. Dabei nehmen die Vesikel die Form einer Kugelkappe (s Abb. A13.1b). Man kann in diesem Fall immer noch einen effektiven Kontaktwinkel θ_{eff} definieren und die Young-Gleichung (Gl.13.2) anwenden (s. [Lipowsky und Seifert 1995]): $W_{ad} = \Sigma(1 - cos(\theta_{\text{eff}}))$. Wie wir in Kapitel 12

lernten, platzen die Vesikel (der entspannten Oberfläche A_0) durch Porenbildung an der Spitze bei einer kritischen Dehnung von $a* = \frac{A_0 - A}{A_0} \geq a* \approx 0.03$ auf. Für Vesikel aus SOPC (bzw: 1:1 SOPC/Cholesterol Mischungen) ist der Kompressionsmodul nach Tabelle 11.1 $K \approx 200\frac{mN}{m}$ (bzw. $K \approx 1700\frac{mN}{m}$) und die kritische Spannung ist daher $\Sigma^* = Ka^* \approx 6\frac{mN}{m}$ (bzw. $50\frac{mN}{m}$). Wenn die Vesikel zu Beginn eine große Überschussfläche besitzen, nehmen sie vor dem Platzen eine pfannkuchenartige Form an, d.h. $\theta_{\text{eff}} \sim \pi$ und $\Sigma \sim \frac{W_{ad}}{2}$. Man benötigt also Adhäsionsenergien von W~12 $\frac{mJ}{m^2}$(bzw. 100 $\frac{mJ}{m^2}$). Abb. 13A.1C zeigt als Beispiel die Spreitung eines Vesikels auf F. Gleichzeitig sieht man ein kugelkappenförmiges Vesikel. Durch Aufnahme des Spreitens mittels RICM kann man sowohl die Dicke des fusionierten Bilayers und θ_{eff} messen.

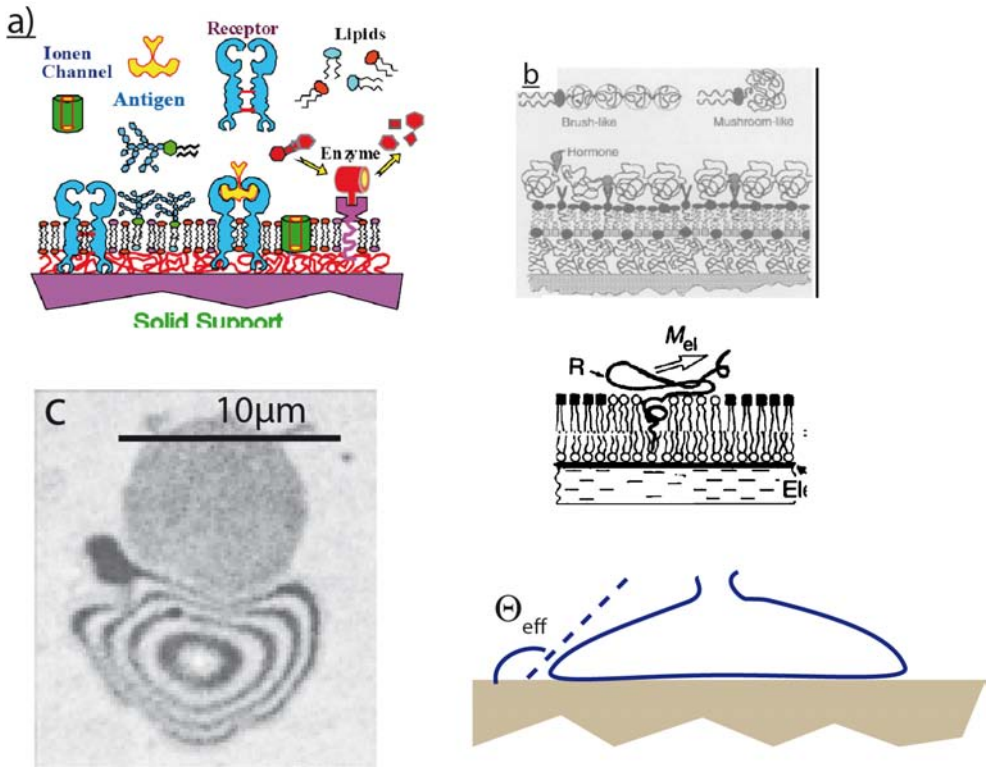


Figure 11: Festkörpergestützte Membranen. a) Aufbau von Biosensoren und Modellen der Zelloberfläche durch Trennung der Membranen von der Proteine denaturierenden Festkörperoberfläche durch Polymerkissen. b) Herstellung elektrisch isolierender Membranen. Links: Übertragung von Doppelschichten. c) Spreitung eines geplatzten Vesikels (oben im Bild) und einer Kugelkappe (unteren im s Bild) nach [J. Rädler et al Langmuir 11, 4539,(1995)].

Ergänzung zu Frage a:

Wir haben oben die Krümmungsenergie vernachlässigt. Für kleine Vesikel gilt dies nicht mehr. Für diese hängt das Verhalten von der Bilanz des Gewinns an Biegenergie und des Aufwands an Randenergie ab. Diese ist bestimmt durch die Gleichung: $\Delta G = -4\pi w R^2 + 2\pi R \Gamma_R$, wobei w die Adhäsionsenergie und Γ_R die in Aufgabe 12.5 definierte Randenergie der beim Platzen entstehenden Scheibe ist. (Sie hat einen Wert von G $\approx$ 25 pN. In erster Näherung erwartet man, dass die Vesikel instabil werden, wenn der Energieaufwand ΔG ein Minimum ist. Diese

Bedingung bestimmt den minimalen Radius R_{min}, die ein Vesikel haben muss, um zu platzen (falls keine Detergenzien in der Membran gelöst sind). Es wird $R_{min} = \frac{R}{2w}$. Für typische Werte von $10^{-3} < w < 10^{-2}\frac{mN}{m}$ variiert R_{min} von 1-10 μm. Eine genauere Theorie findet man in den unten zitierten Arbeiten von Lipowsky und Seifert.

Frage b: Nach dem in Teil a beschriebenen Modell ist die kritische Spannung $\Gamma^* = Ka^*$. Für SOPC ist K=200, und a*=0.03. Die minimale Flächendichte der Biotine ist: $n = \frac{N}{A} \approx 5 \cdot 10^{16}$ pro m^2.

Zusatzfrage: Zur Beantwortung dieser Frage kann von Gl 13.8 in Kapitel 13.3 ausgehen. Eine detaillierter Betrachtung findet man in der Arbeit von Bruinsma et al. Phys. Rev. E.61: 4253 (2000) Gl.3.10. Das einfachste Verfahren zur Kontrolle der Adhäsionsenergie W ist die Dotierung der Vesikel mit polymere Kopfgruppen tragenden Lipide (z.B. aus Polyethylenoxid). Nach Gleichung 13.8 reduziert der durch Puffermoleküle der Konzentration $c - P$ erzeugte osmotische Druck die Adhäsionsstärke um $k_B T c_P$. Es reichen wenige Mol% aus, um Platzen von Riesen-Vesikel zu verhindern.

Praktische Hinweise: Einzelne Doppelschichten spreiten auf Glas (und auf mit dünne Filmen aus Hyaluronsäure) bedeckten Substraten spontan, indem man einen Klumpen aus Lipid auf das Substrat deponiert und mit Wasser bedeckt. Es handelt sich dabei um ein schönes Beispiel des Wachstums zweidimensionaler Strukturen auf rauen Oberflächen, die durch die berühmte Kadar-Parisi-Zhang Gleichung (KPZ-Gleichung) beschrieben wird [Rädler].

Referenzen:

H. M McConnell L.Tamm Proc. Natl. Acad. Sci. 81:324 (1984)

E. Sackmann Supported Membranes: Scientific and Practical Applications. Science (1996) 271, 43-48.

E. Sackmann , M. Tanaka M. Trends Biotechnol. 18:58-64.(2000)

S. Seiffert und R. Lipowsky Handbook of Biological Physics, Vol 1B (1995).

S. Seiffert und R. Lipowsky Mol. Cryst. Liquid Cryst. 202: 17-25 (1991).

Aufgabe 13.3:

Das Momentengleichgewicht bestimmt den Kontaktwinkel.

Die Form adhärierender Schalen in der Nähe der Substratoberfläche ist durch zwei Randbedingungen (erster Ordnung) bestimmt: Eine ist das in Kapitel 13 diskutierte Gleichgewicht der Oberflächenspannungen. Die zweite ist das Gleichgewicht der Biegemoment an der Randlinie. Wenn die Randlinie jedoch scharfe Kanten aufweist, wie bei der Bildung stark haftender Mikrodomänen, so muss auch noch eine Randbedingung berücksichtigt werden, welche das Gleichgewicht der Gradienten der Biegemomente berücksichtigt. Eine sehr ausführliche Diskussion dieser Randbedingung findet man in §11 des Lehrbuchs von Landau und Lifshitz (Band VII Elastizitätstheorie). Die Anwendung auf Membranen findet man in Guttenberg et al. Langmuir. 16 8984 (2000).

Zur Lösung des Problems betrachten wir die folgende Skizze:

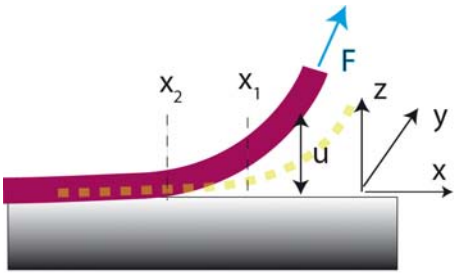


Abb. 13. A.3.1: Darstellung des Gleichgewichts des Biegmoments an der Kontaktlinie.

Das durch die nach oben gerichtete Kraft erzeugte Drehmoment bestimmt die Krümmung $C = \frac{\partial^2 u}{\partial x^2}$ an der Kontaktlinie, wobei u die Auslenkung in z-Richtung ist. Nach Gl 11.4 gilt $C = \frac{M}{\kappa}$. Durch Anlegen eines Zusatzmoments wird Kontaktfläche um δu nach oben und um δx nach links verschoben. Dabei wird die Fläche δx pro Einheitslänge in Richtung der y-Achse freigelegt.

Die Deformation kostet folgende mechanische Arbeit:

$\delta g = M\frac{\partial \delta u}{\partial x} = M\frac{\partial^2 u}{\partial x^2}\partial x$ (1)

Diese Gleichung folgt aus der Betrachtung der Dimension von δg die [Arbeit pro Länge] oder [N] ist. $\delta g \propto \frac{\partial \delta u}{\delta x}$ folgt auch aus der Überlegung, dass $\frac{\partial \delta u}{\partial x}$ gleich dem Winkelinkrement $\delta\Phi$ ist, um das die Tangente an die Kontur entgegen dem Uhrzeigersinn gedreht wird und die Arbeit pro Länge gleich $M\delta\Phi$ ist. Andererseits ist $\delta u = \frac{\partial u}{\partial x}\partial x$, womit die rechte Seite von Gl (1) begründet ist. Nun müssen wir noch beachten, dass wir durch Verringerung der Kontaktfläche um δx zweimal die Adhäsionsenergie $W\delta x$ verlieren (wobei W die Adhäsionsenergie pro Fläche ist). Damit ist Gl. 13.3 bewiesen.

Diese Beziehung wurde von Lipowsky und Seifert auch auf anderem Weg abgeleitet (s. Seifert und Lipowsky Phys. Rev. A 42: 4768-4771, (1990).

Aufgabe 14.1:

Das Planck'sche Diffusionspotential-wo ist es wichtig?

Bei der Berechnung der stationären Membranpotentiale geht man immer davon aus, dass die

beteiligten Ionen in der Zelle und der extrazellulären Matrix homogen verteilt sind. Lokale Konzentrationsgradienten und die unterschiedliche Beweglichkeit der Ionen werden vernachlässigt.

In Gegenwart mehrerer Sorten von Ionen mit unterschiedlichen Beweglichkeiten kann an Grenzflächen zusätzlich das Planck'sche Diffusionspotential auftreten. Dazu betrachten wir als Beispiel ein Salz (Konzentration c_S), das in ν_A Anionen der Wertigkeit z_A und ν_K Kationen mit z_K dissoziiert sei.

$$A_{\nu_A} K_{\nu_K} \longleftrightarrow \nu_A A^{-z_A} + \nu_K K^{+z_k}$$

Daher gilt $c_A = \nu_A c_S$ und $c_K = \nu_K c_S$. Wie in Kapitel 14 gezeigt, müssen wir die Bedingung der Elektroneutralität an jedem Ort erfüllen:

$$c_K z_K = c_A z_A$$

$$j_j = c_j u_j \nabla \mu^{elechem} = -u_j c_j (\frac{\partial \mu}{\partial x} + z_j e \frac{\partial \Phi}{\partial x}) = u_j c_j (k_B T \frac{\partial ln(c_i)}{\partial x} + z_i F \frac{\partial \Phi}{\partial x})$$

Eine analytische Lösung des Problems ist nur für den stationären Zustand der Ströme der positiven und negativen Ionen möglich. Dazu müssen sich die Ströme gemäß $j_K z_K = j_A z_A$ kompensieren:

$$\frac{\partial \Phi}{\partial x} = -\frac{u_K - u_A}{u_K z_K + u_A z_A} \frac{k_B T}{e} \frac{\partial ln(c_S)}{\partial x}$$

Anwendungen: Betrachten wir den Fall der Erythrozyten in physiologischer Kochsalzlösung. Diese enthält 145 mM NaCl. Die Beweglichkeiten u_i durch die Membran ist durch die Permeabilität $P_i = \frac{D}{d_m} = \frac{u}{k_B T d_m}$ gegeben. Nach 14.3.7 verhalten sich die Permeabilitäten durch

die Membrane wie $P_{Na} : P_{Cl} = 0.04 : 0.45$.

Im Inneren der Zelle ist die Salzkonzentration nach Abbildung 9.8 etwa 50 mM. Daher wird $\partial ln(c_S) \approx ln(3)$ mit $k_B T \approx 25meV$ und $\Delta\Phi_{Planck} \approx -20mV$.

Aufgabe 14.2:

Wie der junge Helmholtz die Geschwindigkeit der Nervenimpulse bestimmte.

Bis 1852 nahm die Mehrheit der Naturforscher noch an, die Erregung der Nervenleiter würden sich extrem schnell (evtl. mit Lichtgeschwindigkeit) ausbreiten. Die Meinung geht insbesondere auf Newton zurück. Der junge Helmholtz muss ein mutiger Mann gewesen sein, als er daran ging, diese Hypothese zu widerlegen. Besonders beeindruckend und lehrreich ist die Idee, die er zur Durchführung des Experiments entwickelte. Eine mögliche schematische Ansicht der Anordnung zur Messung von Helmholtz zeigt die Abbildung unten links. Durch die Kontraktion des Muskels reißt die elektrische Verbindung (ein dünner Draht) zwischen dem Muskel und dem motorischen Axon und unterbricht den Stromkreis. Man kann den Anstieg und Abfall des Stromes mit einem ballistischen Galvanometer beobachten.

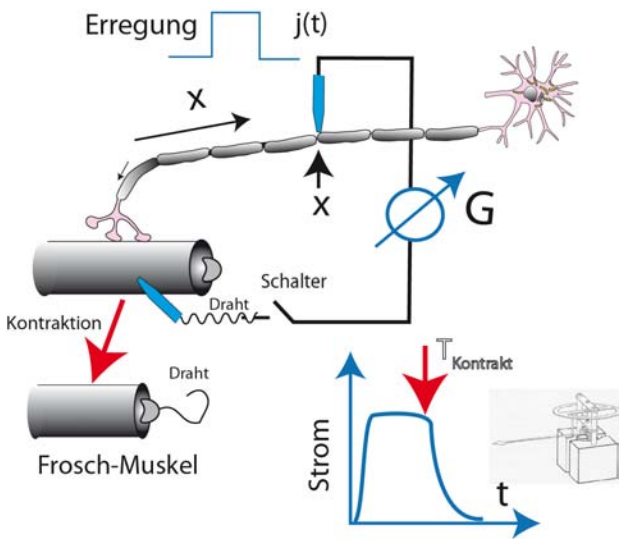


Figure 12:

Helmholtz benutzte für das erste Experiment tatsächlich einen Wellenschreiber (Kymograph), ein auf Thomas Young zurückgehendes Gerät zur schnellen Registrierung der Position eines Zeigers mit der Zeit. Es besteht aus einer rotierenden Walze, die mit Ruß bedeckt ist und auf der ein Zeiger (Griffel) die Position als Funktion der Zeit einritzt. Eine Skizze des Aufbaus zeigt die obige Abbildung rechts.

Aufgabe 14.3:

Wie Synapsen durch Abbau der Transmitter die Übertragungsrate beschleunigen.

Die Breite der Synapse sei etwa 1000 nm:

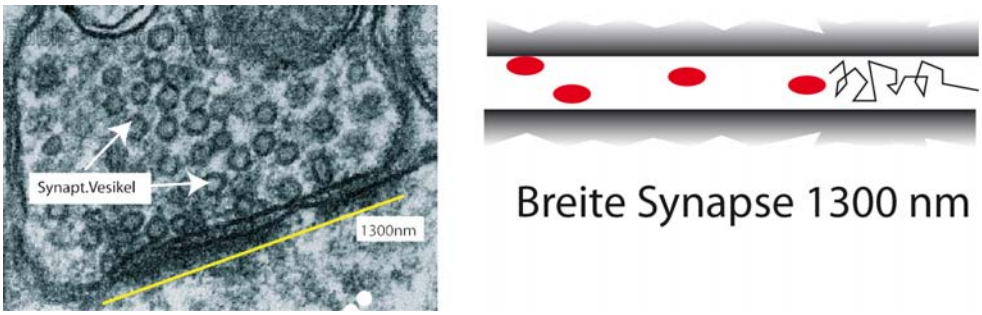


Figure 13:

Lösung: Mit der effektiven Viskosität der Flüssigkeit im Spalt von $\eta_{eff} \approx 10^{-2}$ Pas wird $D_{eff} \approx 10^{-6} \frac{cm^2}{s}$.Unter der Annahme, dass das Gewebe im synaptische Spalt homogen ist, kann die Zeit, die ein Molekül braucht, um die Strecke r vom Zentrum zum Rand zu diffundieren, einfach aus der Einsteinbeziehung abschätzen. Wir nehmen dabei an, dass der Spalt so breit ist, dass man die Diffusion als dreidimensional beschreiben kann. Dann wird $t = \frac{<r^2>}{4D} \approx 2.5ms$. Das ist relativ schnell, aber bei hoher Aktivität reichert sich der Transmitter mit der Zeit an. Die Viskosität η_{eff} ist wahrscheinlich auch etwa 10 mal größer.

Es gibt mehrere Publikationen mit exakteren Berechnungen des Diffusion in synaptischen Spalten. Das Problem der Diffusion des Acetylcholins wurde von Anthony und Aidoo, behandelt (Mathematical and Computer Modelling 44: 952-962, (2006)). J. Kleinle et al. (Biophysical J 71, 2413 (1996)) berechnete die zeitliche Verteilung der durch Vesikelfusion an der Oberfläche der prä-synaptischen Membran lokal erzeugten Transmitters. Sie behandeln vor allem das Problem der Sättigung der Rezeptoren mit Transmitter.

Ergänzung zum Auf- und Abbau des Acetylcholins:

Der Transmitter kommt im ganzen Tierreich (im autonomen vegetativen und im motorischen Nervensystem) vor. Die Synthese findet in den Nervenzellen statt und wird in 30-60 nm großen

sekretorischen Vesikeln gespeichert. Es gehört zu den aktiv, d.h. durch die Erhöhung des Ca-Spiegels, ausgeschütteten Hormonen, so wie Adrenalin.

Der Abbau findet durch die Acetylesterase im zytoplasmatischen Spalt statt. Das Enzym ist eines der schnellsten, die man bisher kennt. Es spaltet den Transmitter in Essigsäure und Cholin. Die externe Hemmung des Enzyms, durch Pestizide oder Giftgase (wie Sarin) hat fatale Folgen. Die dadurch bedingte Anreicherung des Transmitters im synaptischen Spalt führt zu Krämpfen oder Tod durch Atemlähmung.

Aufgabe 14.4:

Experimenteller Beweis der Ca-induzierten Fusion synapticher Vesikel.

Wir beschreiben hier die Methode nach K. R. Delay und R. S. Zucker (Journal of Physiology 426; 473-498, (1990)). Zum Beweis der Hypothese benutzten Zucker et al. die Methode der Freisetzung der Ca-Ionen aus gefangenen Verbindungen. Bei dieser weiter unten beschriebenen Technik injiziert man Komplexierungen mit Ca (sog. Chelate) in die Synapsen. Durch Belichtung mit einem Lichtblitz (der Wellenlänge $\lambda \leq 350nm$) wird Ca freigesetzt.

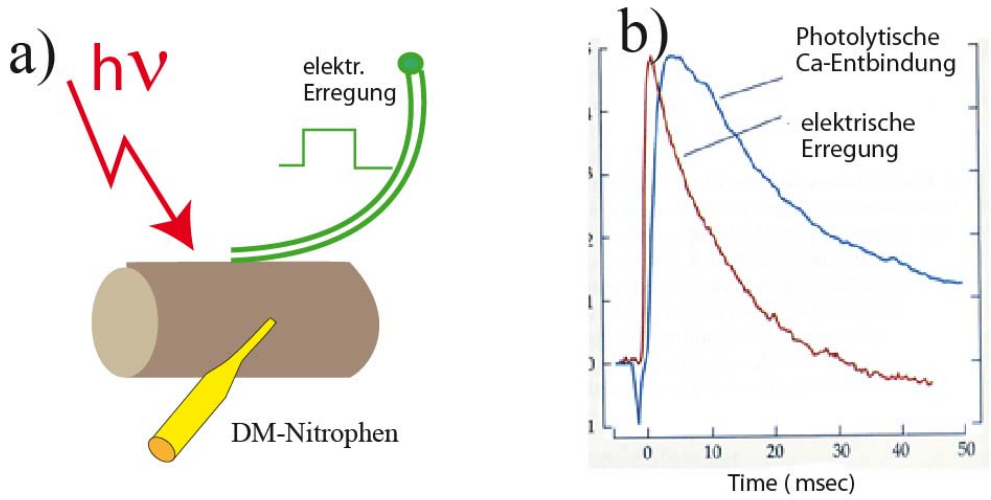


Abbildung 14. A1 zeigt das Ergebnis dieses eleganten Experiments. In diesem beobachtet man die Erregung der postsynaptischen Membran einmal nach Anregung eines elektrischen Impuls ΔV und nach Belichtung mit einem Lichtimpuls von $\lambda = 350nm$. Die Aktionspotentiale der postsynaptischen Membran sehen sehr ähnlich aus, abgesehen von der etwas langsameren und unvollständigen Relaxation im Fall der photolytischen Ca-Freisetzung. Der Grund liegt darin, dass der dissoziierte Ca-Komplex als Puffer wirkt, der den intrazellulären Kalziumspiegel über dem Wert der Zelle im Ruhezustand (d.h. 10^{-7}M) festklemmt.

Photolytische Freisetzung von Ca Ionen aus einem organischen Ionenkomplex (engl. caged Ca-compound). Die photolytische Entbindung von gefangenen Verbindungen (wie ATP) oder Ionen (wie Ca^{2+}) ist eine elegante Methode zur lokalen Freisetzung von Energie (wie ATP) oder Botenmolekülen (wie Ca^{2+} oder c-AMP). Zur lokalen Applikation von Ca benutzt man häufig die unten gezeigte Verbindung: 1-(2-nitro-4,5-dimethoxyphenyl)-N,N,N',N'-tetrakis[(oxycarbonyl)methyl]-1,2-ethanediamine (Abkürzung DM-Nitrophen). EPSP (excitatory postsynaptic potential): Abkürzung für das exzitatorische Potential an der postsynaptischen Membran.

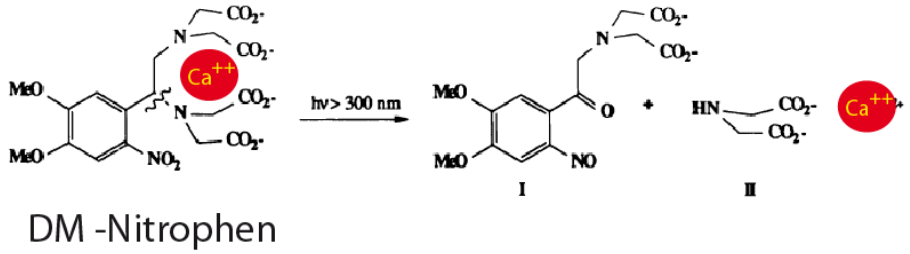


Figure 14: Abbildung 14. A 3: Chemische Struktur des Ca-Cheators DM-Nitrophen und der Spaltung des Komplexes durch Anregung mit Licht der Wellenlänge $\lambda \approx 350nm$. Nach Kaplan und Ellis-Davies (PNAS 85, (1988))

Die Bindungskonstante des Chelators beträgt $K_a \approx 5nM$. Daher ist im Ruhezustand der Zellen (bei der Ca-Konzentration $0.1\mu M$) Kalzium im Komplex gebunden. Nach der Spaltung des Komplexes bindet Ca sehr schwach (mit $K_a* \approx 2.5\mu M$). Daher wird der intrazelluläre Ca Spiegel erhöht, auf zwar bis auf den Wert K_a* bzw. der Konzentration des Chelators, falls diese höher ist, als die Ca- Konzentration im Ruhezustand der Zelle.

Ergänzung zur Aufgabe 14.4: Ein eleganter Nachweis, dass Ca die Vesikelfusion einleitet und dass dies nahe am Ort der Fusion stattfinden muss, zeigt ein einfaches elegantes Experiment von Adler et al. (Adler et al. J Neuroscience 11: 1496-1507 (1991)). Es basiert auf der Verwendung der beiden Chelatoren BAPTA und EGTA, BAPTA bindet Ca sehr stark (mit $K_d = 2 \cdot 10^{-7}$) und vor allem sehr schnell; mit einer Bindungsrate von $k_+ = 5 \cdot 10^8 \frac{1}{Ms}$. EGTA bindet ähnlich stark, aber 100 mal langsamer ($k_+ = 10^6 \frac{1}{Ms}$). Im Experiment wurden die Chelatoren in die Synapsen injiziert und das exzitatorische postsynaptische Potential (EPSP) gemessen, mit folgendem Ergebnis (Bilder siehe Nicholls et al. 'From Neuron to Brain' Ch. 11 'Transmitter release'):

Der schnelle Chelator BAPTA unterdrückt das postsynaptische Potential (EPSP), das langsamere EGTA dagegen nicht. Durch sorgfältige Analyse der Kinetik der Ca-Bindung und der Diffusion der Chelatoren in den Synapsen konnten Adler et al. zeigen, dass der Ca-Kanal, durch den die

Ionen eintreten und der Ort der Fusion nicht mehr als 100 nm voneinander entfernt sein können. Dies Experiment ist erwähnenswert, denn es zeigt eindrucksvoll, wie man durch geschickte biophysikalische Experimente quantitative Information über molekulare Prozesse auf nm-Skalen in Zellen gewinnen kann. Die Analyse basiert etwa auf folgender Betrachtung: Wenn Ca durch die Kanäle eintritt, benötigt es die Zeit $t \approx 10^{-5}s$, um 100 nm zu diffundieren (Diffusionskoeffizient $D = 10^{-6}\frac{cm^2}{s}$). Ist die Synapse mit BAPTA gefüllt, so wird Ca (Konzentration c) mit der Rate $\frac{dc}{dt} = k_+ c_B c$ gebunden. Daher $c(t) = c_o e^{-tk_+ c_B}$. Ist $c(0) = 10^{-5}M$ ($100\mu M$), so erfolgt die Bindung in $t \approx (k_+ c(0))^{-1} \approx 10^{-5}s$, d.h. BAPTA kann fast alle Ca-Ionen binden, ehe diese 100 nm diffundiert sind. Das 100 mal langsamer bindende EGTA kann dies nicht.

Aufgabe 14.5:

Das Quantengesetz der postsynaptischen Erregung.

Vorbemerkungen: Die Beobachtung der Erregung der postsynaptischen Membran durch simultane Freisetzung einer minimalen Menge von Transmittern (die Transmitter-Pakete oder Quanten) geht auf B. Katz (del Castillo and B. Katz. (1954)). Sie gehört zu den wichtigsten Entdeckungen der Neurophysik. Der Bezug zur Quantenmechanik ist eher symbolisch zu verstehen. Allerdings besteht eine Analogie darin, dass ein gewisses Quantum an Transmittern notwendig ist, um ein anderes Neuron oder eine Muskelfaser in einen aktiven Zustand zu versetzen. Die Entdeckung von B. Katz und J. del Castillo ist ein lehrreiches Beispiel dafür, wie man aus einfachen Experimente und durch Nachdenken quantitative Biologie betreiben kann.

Die Entdeckung des Quantengesetzes basierte auf einer sorgfältigen Analyse der durch Nervenimpulse induzierten Potentiale der Muskel-Endplatte. Letztere wurde durch Mikroelektroden bestimmt (s. Abb. 14.A.5.1a). Tatsächlich sind Membranen für den Transmitter Acethylcholin (ACh) durchlässig und dessen passiver Strom ist 100 mal größer als der die durch ACh-

Quanten vermittelte Ausschüttung. Wir haben aber in Abb.14.3 gesehen, dass der Transmitter durch das Enzym Acethylcholinesterase (durch Hydrolyse) wieder abgebaut wird, wodurch der ACh-Spiegel im synaptischen Spalt niedrig gehalten wird.

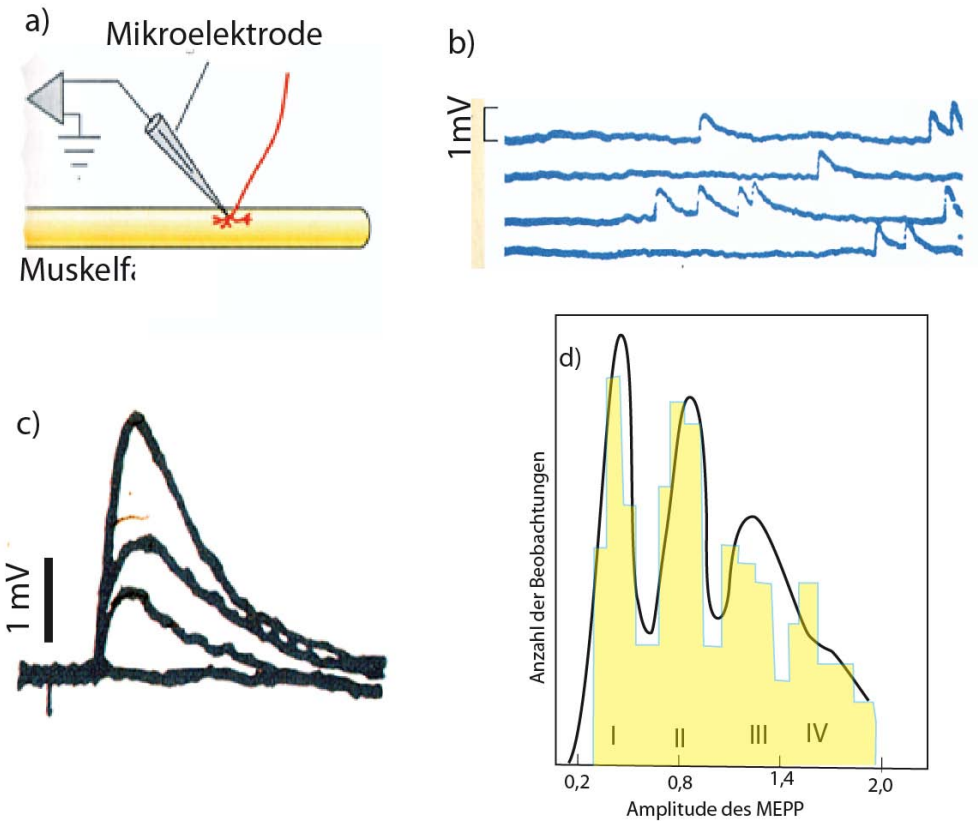


Figure 15: Abb. 14.A.5.: Zum Nachweis der Erregung der postsynaptischen Membran durch Freisetzung von Acetylcholin-Quanten; Am Beispiel der Muskel-Endplatte. (a) Messung der Spannung der Muskelendplatte mittels Mikroelektrode. (b) Spontane Aktionspotentiale der Muskelendplatte (auch Miniaturpotentiale genannt). Man beachte, dass deren Amplituden etwa 1 mV betragen. (c) Überlagerung von drei beobachteten Endplattenpotentialen (EPP) deren Amplituden sich ungefähr wie 1: 2: 3 verhalten. (d) Verteilung der Amplituden der Endplattenpotentiale an einer Muskelendplatte bei hoher Konzentration von Magnesium gemessen ($\approx 12mM$). Man beachte, dass das Histogramm deutliche Maxima bei 0.4, 0.8 und 1.2 mV zeigt. Die Balken geben die Messungen wieder und zeigen die experimentell gemessenen Häufigkeiten. Die ausgezogene Kurve zeigt den nach der Poissonverteilung erwarteten Abfall der Wahrscheinlichkeit, dass ein, zwei oder drei ACh- Pakete gleichzeitig ausgeschüttet werden.

Experimente und Analysen.

Da man wusste, dass die post-synaptische Erregung durch Ca-Ionen ausgelöst wird, wurde Kalzium im Außenmedium durch Mg- Ionen ersetzt, um die physiologischen elektrischen Bedingungen zu erhalten. Gleichzeitig wurde die Stärke der elektrischen Stimulation der Muskelendplatte so weit reduziert, dass einzelne Erregungen der Membran beobachtet werden konnten (siehe Abb. 14.A.5b). Del Castillo und Katz verglichen die durch Nervenimpulse und durch spontane Erregung ausgelösten Aktionspotentiale der Muskelfasern. Die überraschende Beobachtung war, dass die beobachteten Aktionspotentiale (die Endplatten-Potentiale EPP) Vielfache eines minimalen Potentials (dem Miniatur Endplatten-Potential MEPP) sind. Die Amplituden der MEPP sind 1 mV (s. Abb. 14. A.5c).

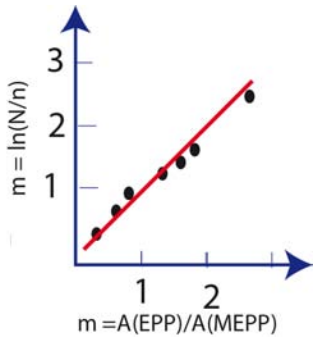
Die Messung vieler Potentiale ergab das in der folgenden Abbildung gezeigte logarithmisches Gesetz für das Verhältnis der Amplituden der gemessenen Potentiale A(EPP) zum Miniaturpotential A(MEPP):

$$m = \frac{A(EPP)}{A(MEPP)} = ln(\frac{N}{n})$$

oder

$$n = Ne^{-m}$$

Wobei N und n rationale Zahlen sind.



Trägt man also das Amplitudenverhältnis m=A(EPP)/A(MEPP) gegen das Zahlenverhältnis N/n auf (siehe Fig. 11.8 in Nicholls et al „From Neuron to Brain", Fourth Edition). Wie Abb 14 A.5d zeigt folgt die Wahrscheinlichkeit, dass ein, zwei oder drei synaptische Bläschen gleichzeitig mit der präsynaptischen Membran fusioniert sind, in der Tat einer Poisson-Verteilung

Del Castillo und Katz schlossen aus diesem Ergebnis, dass die präsynaptische Membran tausende von Paketen aus ACh enthält, die mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit p in den synaptischen Spalt freigesetzt werden und die Muskelmembran erregen, wobei sie annahmen, dass jedes Paket dieselbe Menge an Transmittern erhält. Da die Existenz der synaptischen Vesikel noch unbekannt war, war dies eine gewaltige Leistung.

Das Modell beruhte auf der genialen Idee, dass die statistische Ausschüttung der Transmitter durch die Poisson-Stastistik bestimmt ist. Die Poisson-Verteilung ist eine Näherung der Binominalverteilung für kleine Wahrscheinlichkeiten p. Sie hat gegenüber dieser den großen Vorteil, dass man weder die Gesamtzahl der Pakete N (d.h. die Zahl synaptischer Vesikel) noch die Wahrscheinlichkeit p der Öffnung a priori wissen muss, sondern nur das Produkt Np, das gleich der mittleren Zahl der pro Versuch geöffneten synaptischen Vesikel oder gleich dem EPP ist.

Die Poisson-Verteilung hat hier folgende Form:

$n = N(\frac{\lambda^k}{k!})e^{-\lambda}$
oder
$\lambda = ln(\frac{m^k}{k!}) + \frac{N}{n}$

Trägt man also das Amplitudenverhältnis $m = \frac{A(EPP)}{A(MEPP)}$ gegen das Zahlenverhältnis $\frac{N}{n}$ auf, so liegen die Messpunkte auf eine Geraden. Wie Abb 14 A.5d zeigt, folgt die Wahrscheinlichkeit, dass ein, zwei oder drei synaptische Vesikel gleichzeitig mit der präsynaptischen Membran fusioniert sind, in der Tat einer Poisson-Verteilung.

Messung der Zahl der ACh- Moleküle pro Paket.
In der ersten Messung wurden sehr feine Pipetten mit definierten Mengen an ACh gefüllt und

auf Muskelendplatten gespritzt (siehe Nicholls et al, Seite 211). Der Vergleich der mit dieser Methode erzeugten Antworten der Muskelendplatte mit den unter physiologischen Bedingungen erzeugten Erregungen zeigte, dass pro Paket etwa 7000 ACh-Transmitter ausgeschüttet werden. Die Zahl der Moleküle pro Paket ist im Fall des Muskels besonders groß.

Die Erregung von Ganglion-Zellen erfolgt dagegen mit rund 10 Transmittern und in den Zellen des Zentralnervensystems sind nur wenige Transmitter (manchmal nur einer) beteiligt. Da in diesen Fällen die Wahrscheinlichkeit der Öffnung der Kanäle jedoch groß ist $p \approx 0.9$ ist, reicht die geringe Menge an Transmittern jedoch aus, um die Zielzelle zu depolarisieren. Hinzu kommt, dass jede Zelle Signale von vielen Synapsen erhält. Da p nahezu eins ist, lässt sich die Poissonverteilung nicht mehr anwenden, sondern man muss dann die Messungen mittels Binominalverteilungen analysieren. Oft muss man noch komplexere statistische Methoden anwenden (s. J.Bekkers Curr. Opin. Neurobiol. 4, 360, (1994)).

Wieviele Kanäle werden pro Paket geöffnet?

Um diesen Parameter zu bestimmen, vergleicht man den pro MEPP fließenden Strom mit dem durch einen einzelnen Kanal fließenden Strom. Ersterer ist etwa 40 nS und letzterer etwa 30 pS. Ein Miniaturpotential in der Muskelmembran wird also durch Öffnung von etwa 1300 Kanälen erzeugt. Die Zahl geöffneter Kanäle hängt von der Größe der Zellen ab. Sie beträgt im Fall der Neuronen des Hippocampus nur etwa 20-50 Kanäle. Die Größe der Transmitterquanten ist mit der Zahl der Rezeptoren in der postsynaptischen Membran korreliert. In der Muskelendplatte sind zehntausende von ACh-Rezeptoren dicht gepackt (10000 pro μm^2) und die Zahl aktivierter ACh-Rezeptoren und damit die Signalstärke hängt von der Zahl der ACh pro Quantum ab. Im Hippocampus ist die Zahl der Rezeptoren klein (etwa 100 auf einer Fläche von $0.4\mu m^2$) und jeder Rezeptor wird aktiviert.

Aufgabe 15.1:

Messung der Kapazität von Membranen mittels Fleckenklammer (patch clamp)-Technik.

Zur Untersuchungen der Endozytose und Exozytose benutzt man heute oft Fluoreszenzmethoden. Schonender und physikalisch interessanter sind Messungen der Kapazität der Zellhülle mit der Fleckenklammertechnik. Dies gilt insbesondere dann, wenn die Exozytose durch Erhöhung des intrazellulären Ca-Spiegels induziert wird. Ein wichtiges Beispiel sind die Chromaffin Zellen. Sie dienen der Erzeugung und Ausschüttung von Adrenalin (ein Epinephrin) und Noradrenalin. Sie entstehen während der embyonalen Entwicklung aus der Neuralleiste (dem Urzustand des Nervenssystems)und sind daher eng mit Nervenzellen verwandt. Die Zellen sind in den Nebennieren lokalisiert. Diese Organellen sind ein Teil des vegetativen Nervensystems und sind zufällig über den Nieren platziert, was ihnen den eigenartigen Namen gab. Die Ausschüttung des Adrenlins in das Blut wird durch Depolatisation der Zellmembran induziert. Diese wird durch Nervensignale nach Stress ausgelöst. Man kann daran besonders die Ca-induzierte Sekretion studieren.

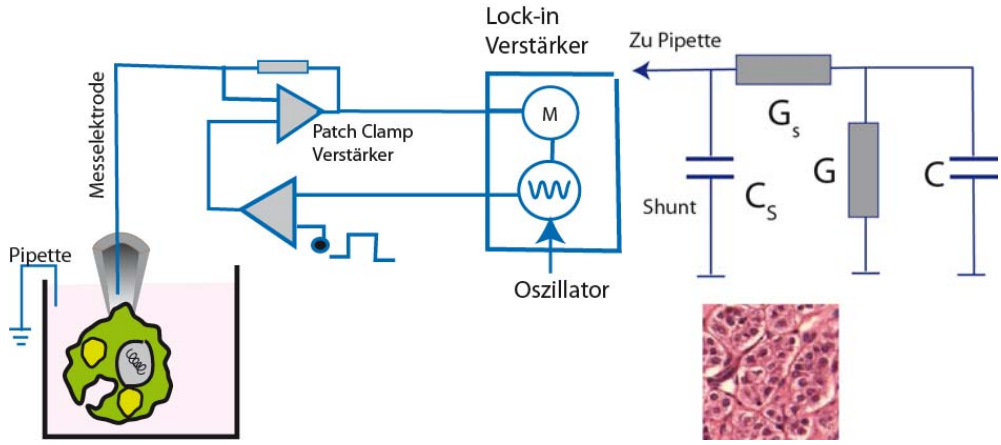


Figure 16: Abb. 15.A3: Links: Ersatzschaltbild zur Beobachtung der Fusion von Vesikeln mit der Zellmembran. Man beachte: C_m ist die Kapazität der Membran und G die Leitfähigkeit der Kanäle: Der obere Teil der Anordnung ist ähnlich wie die in Abb 15. 2. Der untere Verstärker dient der Stimulation der Exozytose durch Spannungssprünge. Rechts oben: Ersatzschaltbild der Messanordnung. Rechts unten: Anordnung von Chromaffin-Zellen

Messung der Kapazität: Die Messung erfolgt unter der Bedingung der Spannungsklammer. Da man sehr kleine Änderung der Ströme messen muss, wird die Methode der phasenempfindlichen Gleichrichtung (mit Lock-in-Verstärker) angewendet. Die Zelle wird mit einer sinusförmigen Spannung angeregt und man misst die induzierten Änderungen des Stroms. Ist die Frequenz der Anregung hoch, so ist die gemessene Änderung des Stromes proportional zur Membrankapazität und damit ein Maß für die Änderung der Membrankapazität.

Der gesamte komplexe Widerstand des Ersatzschaltbildes ist $\frac{1}{R*} = G_S + G + i\omega C_m$. Eine leichte Umrechnung liefert für den komplexen Widerstand R* und die Leitfähigkeit:

$$R* = G_S^{-1} + \frac{G^{-1}}{1+\omega C_m G^{-1}}$$

$$Y(\omega) = \frac{G_S(G+i\omega C_m)}{G_S+G+i\omega C_m} = B(\omega)(G + i\omega C_m)$$

mit $B(\omega) = 1 + \frac{G}{G_S} + i\omega\frac{C_m}{G_S}$

Zur Beantwortung der Zusatzfrage betrachten wir die Änderung des komplexen Widerstands mit der Leitfähigkeit G der Kanäle und der Membrankapazität. Man erhält:

$\frac{\partial R*}{\partial G} = \frac{1}{(G+i\omega C_m)^2}$
und
$\frac{\partial R*}{\partial C_m} = \frac{i\omega}{(G+i\omega C_m)^2}$

Die Änderung des komplexen Widerstands mit der Membrankapazität nimmt mit der Frequenz zu, während die mit der Leitfähigkeit abnimmt. Die Empfindlichkeit der Messung der Membrankapazität wird mit zunehmender Frequenz also immer größer.

Ein wichtiges Ergebnis des Experiments von Neher und Marty: Durch Variation des intrazellulären Ca-Spiegels wurde gezeigt, dass die Exozytose der Hormone durch Ca-Ausstoß in der Zelle ausgelöst wird, und dass es eine Untergrenze des intrazellulären Ca-Spiegels von 10 nM gibt, unterhalb der keine Exozytose mehr erfolgt. Aus der Änderung der Kapazität lässt sich die Größe der Vesikel abschätzen.

Aufgabe 15.2:

Über den Bau von Biosensoren-Impedanzspekroskopie und Nanovoltmeter.

Das Lernziel dieser Aufgabe ist sich mit elektrischen Eigenschaften von hydratisierten Schichtsystemen zu befassen. In Aufgabe 9.2 hatten wir auf die Bedeutung festkörpergestützter

Membranen für den Bau von Biosensoren auf elektro-optischen Bauelementen hingewiesen. Dabei kann es sich um Halbleiter auf Si/SiO_2- oder Gallium/Arsenid-Basis handeln (MOSFET). Aber oft ist es einfacher, mit Indium-Zinnoxid (ITO-)-Halbleitern oder Glas/Gold-Übergängen zu arbeiten, denn es ist extrem schwierig, elektrisch gut isolierende Lipidfilme auf den Halbleitern mit rauen Oberflächen zu deponieren. Man verzichtet dabei auf die Möglichkeit der Miniaturisierung. Man kann drei Arten elektrischer Sensoren aufbauen. Erstens, Membranen, die vom Halbleiter durch einen einige 10 nm dicken Polymerfilm oder Elektrolyt getrennt sind und in die man Enzyme oder Ionenkanäle einbauen kann. Zweitens, direkt auf dem Halbleiter fixierte Membranen zur Messung von Oberflächenladungen (Literatur siehe S. Gritsch et al. Langmuir,14: 3118-3125 (1998)). Eine weitere elegante Möglickeit besteht darin, Membranen über Poren in Festkörpern zu spannen (s. dazu Ch. Danelon, et al. Langmuir, 22 22-25 (2006). Oder N. Fertig et al. Biophys J. 82: 3056-3062 (2002)). In der Aufgabe betrachten wir das erste in folgender Abbildung dargestellte System.

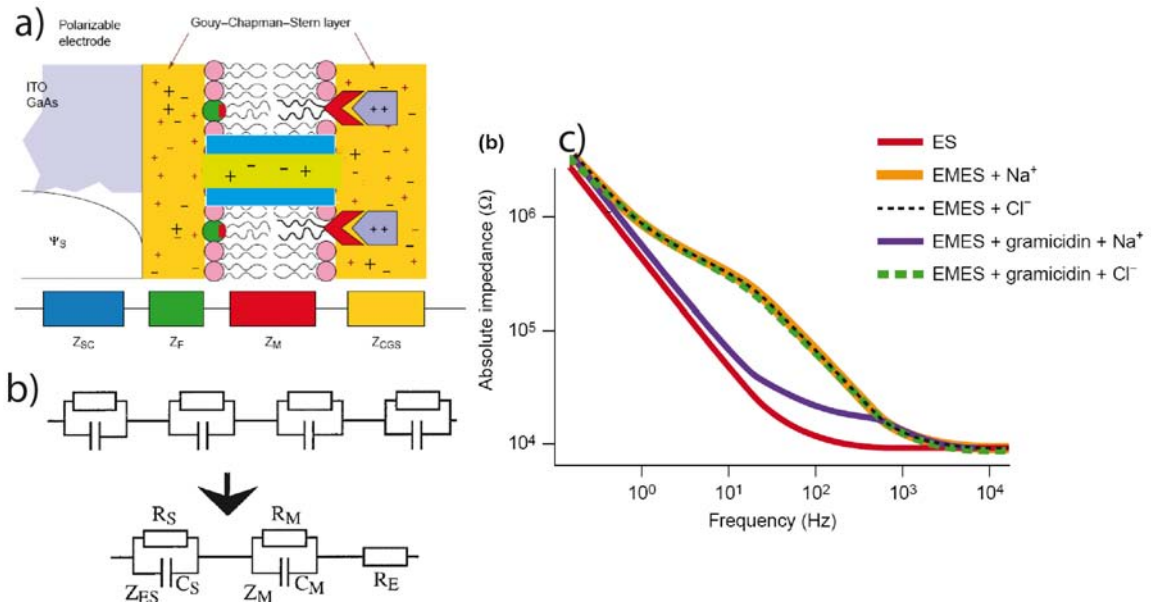


Figure 17: Abb. 12.A6.(a) Struktur des schichtartig aufgebauten Sensors. ES steht für die nackte Halbleiteroberfläche (S) im Kontakt mit dem Elektrolyt (E). EMES steht für Elektrolyt-Membran-Elektrolyt-Halbleiter. (b) Äquivalenzschaltkreis des Sensors. (c) Impedanzspektren für nackten und membranbedeckten Halbleiter ohne und mit dem Ionenkanal Gramicidin (s. Kapitel 12.7)

Zu Berechnung der Impedanz des Sensors müssen wir vier Schichten betrachten: Den Halbleiter, den Elektrolyt, die Membran und den Puffer. Jeder Schicht wird durch eine Parallelschaltung eines Widerstandes und einer Kapazität bestimmt, was 8 unabhängigen Variablen entspricht. Man kann diese Zahl jedoch reduzieren, indem man den Halbleiter und die anschließenden Elektrolytfilm zusammenfasst. Die einzelnen Beiträge der drei restlichen Schichten lassen sich durch Messung der komplexen elektrischen Impedanz als Funktion der Frequenz (d.h. durch elektrische Impedanzspektroskopie) bestimmen. Außerdem interessiert für Anwendungen in der Sensorik nur der Beitrag der Membran, z.B. die Leitfähigkeit der Kanäle. Die Impedanz: Man erinnere sich daran, dass die Leitfähigkeit G* und die komplexe Impedanz Z* eine Parallelschaltung aus Widerstand R_i und Kapazität C_i gegeben sind durch:

$G* = R_e + \frac{i}{\omega C}$ und $Z_i* = \frac{R_i - i\omega C_i R_i^2}{1+(\omega C_i R_i)^2}$ (1)

Die gesamte Impedanz des schichtartig aufgebauten Sensors ist dann: $Z^* = \sum Z_i$

Man kann die nackte Impedanz der Halbleiter-Oberfläche ES durch eine Kapazität C_s und einen Widerstand R_E (den Faraday-Widerstand der Elektrolyt-Elektroden-Grenzfläche) charakterisieren. Diese Parameter bestimmt man durch Anpassung von $Z^*(\omega)$ an die beobachtete Kurve.

In Gegenwart der Membran verschiebt sich das Spektrum leicht zu hohen Frequenzen und es entsteht eine Schulter, deren Höhe den Wert der Kapazität C_m und des Widerstands R_m der Membran liefert. Baut man Gramicidin-Poren ein, so erniedrigt sich der Widerstand, falls der Elektrolyt aus Puffer mit Na und organischen Anionen (Na-Hepes Puffer) besteht. Wird dieser durch Cl-Trispuffer ersezt, so ändert sich das Impedanzspektrum wie erwartet kaum, da wir in Kapitel 12.7 lernten, dass Gramicidin selektiv Na^+ oder K^+ leitet.

Bemerkungen zur Qualität der Sensoren auf ITO-Halbleitern.
Der Widerstand R_m der Membran bestimmt die Empfindlichkeit des Sensors. Die höchsten R_m-Werte ($R_m \approx 100k\Omega cm^2$) erhält man mit Phospholipid-Cholesterol Mischungen [Gritsch et al 1998)]. Damit lassen sich rund 1000 Poren pro cm^2 nachweisen.

Der Widerstand der 'Schwarzen Membranen' (Kapitel 12.7) ist mit $R_m \approx 10M\Omega cm^2$ hundert mal größer. Der niedrigere Grenzwert ist durch die Leitfähigkeit der Wasserfilms zwischen Membran und dem Halbleiter (oft Mantelwiderstand genannt) bestimmt.

Anwendung der Impedanzspektroskopie in der Zellbiophysik: Diese wird insbesondere zur Messung der Dichtigkeit und Permeabilität von konfluenten Endothelzellschichten (z.B. der Blut-

Gehirnschranke) eingesetzt. Ein Beispiel ist Messung der Bildung von Passagen durch dichte Endothelzellschichten durch die Protease Thrombin oder das Hormon Histamin, die dazu dienen, die Migration von Blutzellen durch die Adern zu erleichtern (s. Kapitel 28.1; Referenzen: Steinem et al. Biochim. Biophys. Acta 1279: 169,(1996); Hillebrandt et al. Appl. Phys. A73, 539-546 (2001)).

Aufgabe 15.3:

Eine Kurze Begründung der Hill-Gleichung kooperativer Prozesse.

Die 100 Jahre alte Hill-Gleichung gehört zu den wichtigsten Grundlagen der Biochemie. Sie wird oft benutzt, um die Zahl der Liganden zu bestimmen, die an ein Enzym binden müssen, um dieses zu aktivieren und zwar dann, wenn die Enzymaktivität als Funktion der Konzentration der Liganden einen s-förmigen Verlauf aufweist. Man darf jedoch nicht vergessen, dass sie nur gilt, wenn die Bindung streng kooperativ ist und keine metastabilen aktivierten Zwischenzustände auftreten. Es muss sich also um Alles-oder-Nichts-Prozesse handeln.

Im Fall der Öffnung der Ionenkanäle R (beispielsweise der pentamere Acetylcholinrezeptor) durch Bindung von Liganden L (d.h. von Acetylcholin) haben wir es mit folgendem Gleichgewicht zu tun: $R + nL \longleftrightarrow RL_n$. Die Dissoziationskonstante sei K_d, wobei $K_d = \frac{[R][L]^n}{[RL_n]}$. Der Bruchteil der besetzten Bindungsstellen (oder aktivierten Monomere des Komplexes) ist dann:

$$s = \frac{[RL_n]}{[R]+[RL_n]} = \frac{\frac{[L]^n}{K_d}}{1+\frac{[L]^n}{K_d}}$$

Die beiden Modelle der kooperativen Umwandlung nach Kittel-Changeux (in 15A) und Hill liefern beide s-förmige Bindungskurven. Allerdings kann das chemische Hill-Modell keine Phasenumwandlungen erster Ordnung beschreiben, wie das physikalische Kittel-Changeux

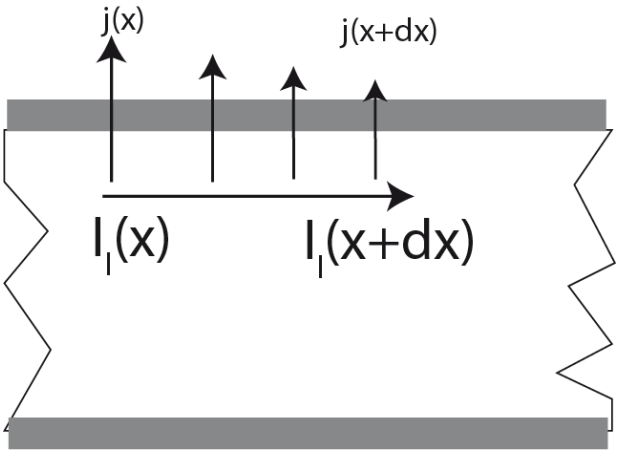
Modell.

Aufgabe 16.1:

Wie Thomson (Lord Kelvin) auf die Kabelgleichung kam.

Die Kabelgleichung ist eine Diffusionsgleichung eines Spannungsimpulses entlang eines leitenden Rohres. Ein lokal erzeugter Spannungsstoß breitet sich also wie eine scharfe Verteilung von Molekülen in einer eindimensionalen Flüssigkeit aus. Sie wird also verschmiert.

Die Gleichung der Signalfortpflanzung die Thomson seinem Kollegen Stokes in einem Brief mitteilte, können wir auf die Anwendung des Kirchhoffschen Gesetzes, zurückführen, indem wir annehmen, die Membran bestünde aus vielen kleinen Widerständen und der homogenen Kapazität C_m.



Da uns nur interessiert, weshalb die Ausbreitung diffusiv ist, nehmen wir (wie Thomson) an: $R_a = 0$. Der ohmsche Strom I_i im Zytoplasma wird durch den Verlust an Strom durch die Membrane abgeschwächt. Wir können dann im Sinne des Kirchhoff:

$\int I_m(x)dx \approx I_i(x) - I_i(x+dx) = \frac{1}{R_i}\frac{\partial V}{\partial x}$

wobei I_m der ohmsche Strom durch die Membran ist, gemessen in ($\frac{A}{\text{Länge}}$). Ableitung der Gleichung nach x liefert schließlich für den ohmschen Strom durch die Membran $I_m = \frac{1}{R_i}\frac{\partial^2 V}{\partial x^2}$ und für den Gesamtstrom:

$I = \frac{1}{R_i}\frac{\partial^2 V_m}{\partial x^2} - C_m\frac{\partial V_m}{\partial t}$

Zur Prüfung des Ergebnisses sollte man noch die Dimensionen betrachten. Wobei $[R_i] = 1\frac{\Omega}{cm}$. Der Strom durch die Membrane hat die Form (mit $[I_m] = \frac{A}{cm}$, $[R_m] = \Omega cm$ und $[C_m] = 1\frac{F}{cm} = 1\frac{As}{Vcm}$.

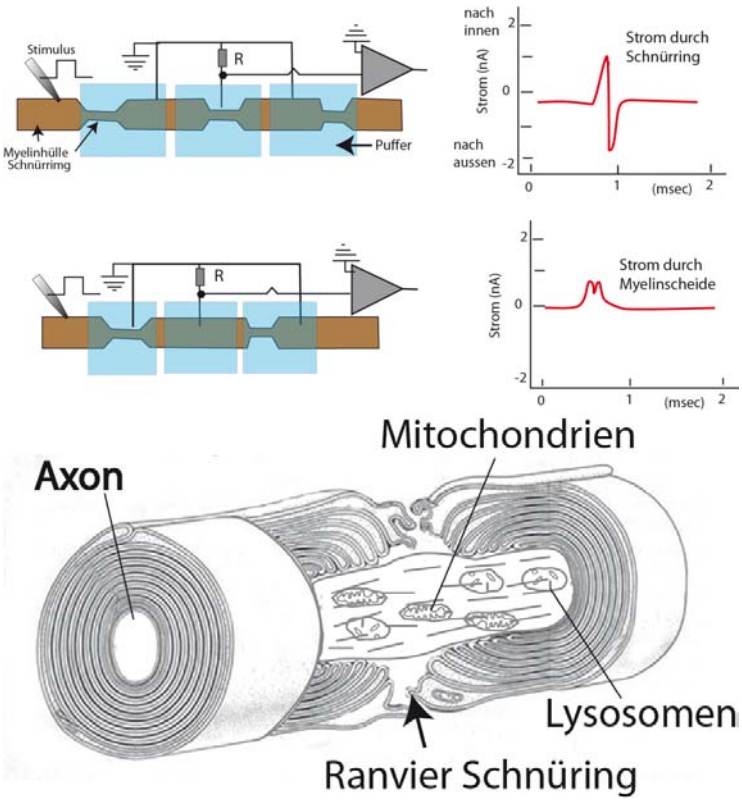
Das Ergebnis besagt, dass die Abschwächung des Signals durch dissipativen Verluste aufgrund des ohmschen Stromes durch die Membran bewirkt wird.

Aufgabe 16.2:

Experiment zur Beobachtung der Funktion der Ranvier Schnürringe (das Experiment von Huxley and Stämpfli).

Zur Erinnerung: Die quasi-periodisch angeordneten Myelinscheiden sind zwischen 0.2 μm und 2 mm lang, was etwa dem 100fachen des Durchmessers der Nervenleiter entspricht. Sie können aus 20-150 Doppelschichten bestehen. Das Experiment von Huxley und Stämpfli war einer der ersten und wichtigsten, mit dem die saltatorische Bewegung der Nervensignale bewiesen wurde. Die Messanordnung bestand aus drei mit Puffer gefüllten Kompartimenten (Bäder), über die der isolierte Nerv gelegt wurde. Zwischen dem mittleren (eigentlich schmäleren) und den äußeren beiden Bädern waren zwei schmale Luftspalten. Zur Registrierung dienten Elektroden, die mit dem Nerven in der in der Abbildung gezeigten Weise verbunden wurden. Der Stromkreis vom

Nervenoberfläche zum Leiter in horizontaler Richtung wurde in den Luftspalten unterbrochen. Der Stromfluss (sowohl der Betrag als auch die Richtung) wurde über den Spannungsabfall über dem Widerstand R bestimmt.



Falls die Myelinscheide, wie nach dem Modell der saltatorischen Transports erwartet, als Isolator wirkt, so erwartet man nur dann einen Stromimpuls durch den Widerstand, wenn die Elektrode das nackte Axon im Schnürring tangiert. Messungen wurden nun für zwei Szenarien durchgeführt. In einem (oben in Bild) befand sich im mittleren Bad ein Schnürring, während im anderen die Myelinscheide das ganze Bad durchspannte. Tatsächlich beobachte man nur im ersten Fall ein starkes Signal, das Ähnlichkeit mit dem Aktionspotential (AP) hat. Man erkennt, dass zu Beginn des AP ein Strom nach außen, vom Schnürring zum linken Bad, fließt. Dieses depolarisiert die Nervenmembran und führt zu einem Strom in das Axon am Ende des AP. Den Strom in das Axon kann man dem Natrium-Einstrom zuordnen. Wie im Kapitel 16

erwähnt, sind die Na-Kanäle im Schnürring konzentriert, während die K-Kanäle im Axon unter der Myelinscheide verteilt sind. Im zweiten Szenario findet nur ein möglicherweise kapazitiver Strom nach außen statt.

Zusatzbemerkungen:

Die ungleichmäßige Verteilung der Ionenkanäle kann durch Markierung mit monoklonalen Antikörpern sichtbar gemacht werden (s. Nicholls et al 'From Neuron to Brain' Fig 7.6). Folgendes Experiment zeigt, dass sie durch die Myelinschicht bestimmt ist: Entfernt man diese, so verteilen sich die Ionenkanäle nach ca. 20 Tagen homogen über das Axon. Wenn man sie wieder herstellt, trennen sich die Kanäle wieder.

Die Zerstörung der Myelinschicht durch Krankheit, wie Multiple Sklerose, hat fatale Folgen für das Leben der Patienten. Sie wird durch Entzündungen hervorgerufen, die die Myelinschicht abbauen.

Aufgabe 16.3:

Motivation: Die elektrisch und chemisch steuerbaren Ionenkanäle sind ein eklatantes Beispiel der Anwendung bistabiler Steuerelemente in der Biologie. Andere Beispiele sind die allosterischen Enzyme mit stark positiver Kooperativität und die durch GDP $\longrightarrow$ GTP Austausch aktivierten GTPase-Schalter. Viele rhythmische Prozesse basieren auf bistabilen Netzwerken aus Enzymen, wie die den Zelltod einleitenden Caspasen. Daher ist es für Biophysiker wichtig, sich mit den molekularen Grundlagen solcher Schalter zu beschäftigen, über die man in den Grundvorlesungen in der Regel wenig lernt. In der Bioinformatik befasst man sich intensiv mit bistabilen Netzwerken. Meist sind diese Modelle formal und es ist oft schwer, sie mit konkreten biologischen Prozessen in Verbindung zu bringen.

Funktion der Tunneldiode: Die Tunneldiode besteht aus einem pn-Übergang sehr stark dotierter Halbleiter, sodass der Übergangsbereich sehr schmal ist (~10 nm). Dies hat zwei Konsequenzen: Die freien Ladungsträger können leicht durch die Potentialbarriere des Übergangs tunneln und bei der Spannung V=0 liegen das Leitungsband des p Leiters und das Valenzband des n-Leiters (und damit auch deren Fermi-Niveaus) etwa gleich hoch. Die Tunnel-Wahrscheinlichkeit hängt empfindlich von der Lage der Valenz- und Leitungsbandes ab und kann daher durch elektrische Felder gesteuert werden.

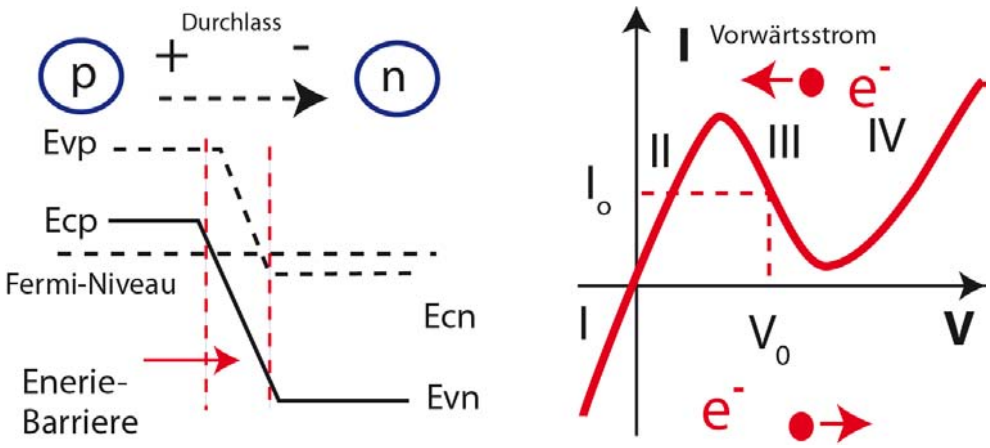


Figure 18: Abb. 16A.3: Das Energieschema und Strom-Spannungs-Kurve der Tunneldiode (TD). Das Energieschema gilt für den spannungsfreien Zustand. Man beachte, dass beim Anlegen einer Spannung die Energieniveaus Ecp und Evn sich einander annähern.

Wie die Abbildung zeigt, ist dass Verhalten durch vier Bereiche bestimmt, wenn wir die Spannung V von Sperr- zur Durchlassrichtung durchfahren:

Im Bereich I (Schaltung der Diode in Sperr-Richtung) liegt das Leitungsband (E_{Cn}) des n-Leiters tief und Elektronen können durch die enge Barriere von E_{Vp} nach E_{Cn} (unter Energiegewinn) tunneln und in Richtung der Anode laufen. Im Bereich II, in dem die Diode in Vorwärtsrichtung

geschaltet ist, können die Elektronen vom n-Leiter in die unbesetzten Zustände des p-Leiters tunneln. Daher steigt der Strom wie in normalen Dioden) in beiden Bereichen mit V an. Beim Übergang in den Bereich III (d.h. am Maximum des Stromes) liegen die Zustände E_{Vp} und E_{Cn} gleich hoch. Alle Zustände sind besetzt und der Tunnelstrom endet. Da die Energie der Elektronen noch nicht hoch genug ist, um die Energiebarriere durch thermische Anregung zu überwinden, nimmt der Strom trotz steigender Spannung V ab. Daher wird der Widerstand im Bereich III formal negativ. Erst ab der Spannung am Minimum der I-V-Kurve kommt man in den normalen Bereich IV der Diode, in dem die Elektronen durch thermische Anregung über die Barriere fließen.

Da im Bereich III eine Erhöhung der Spannung ΔV eine Stromänderung $-\Delta I$ bewirken würde, könnte man ein Perpetuum Mobile bauen. Ist die Tunneldiode in einem Schaltkreis wie den in Abb. 16. 7 eingebaut, so kann nach Erreichen des Maximums von I Strom aus der Batterie über den Widerstand fließen, bis die Spannung auf einen neuen stabilen Zustand springt. Von dort kehrt das System durch Abnahme des Stroms und der Spannung wieder auf den Ausgangszustand zurück.

Anmerkung: Wir werden in Kapitel 33 am Beispiel des Elektronentransfers zwischen Farbstoffmolekülen des Photosyntheseapparats sehen, dass die Natur Tunnelprozesse ausnutzt.

Stabilitätskriterien.

Die Bogenlampe besteht aus zwei voneinander isolierten Elektroden, die in einen geschlossenen Gasraum eintauchen und über einen Widerstand mit einer potenten Spanungsquelle verbunden sind. Oberhalb einer Zündspannung wird das Gas durch Ionisation zu einem leitenden und leuchtenden Plasma das den Stromkreis schließt. Ein anderes Beispiel aus der Elektrotechnik sind spannungsabhängige Widerstände, wie der Variator.

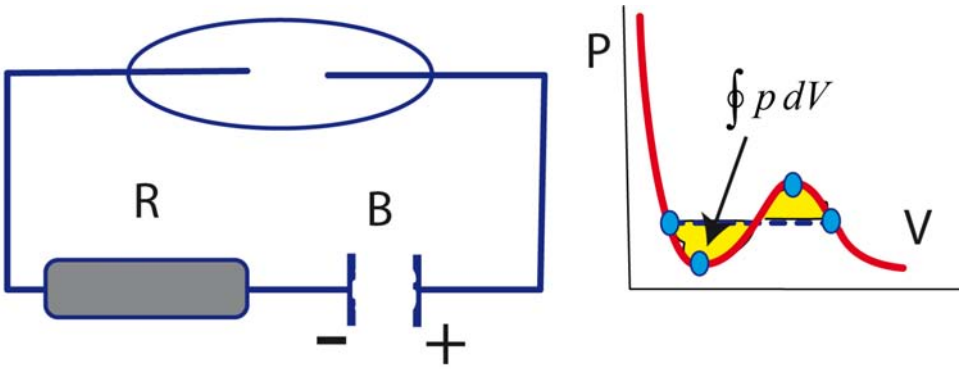


Figure 19:

Betrachten wir zunächst die Gasentladung der Bogenlampe. Nach Einsetzen der Gasentladung wächst der Strom zunächst mit der Spannung V linear an und sättigt, d. h. es wird $\frac{dI}{dV} \approx 0$. Bei weiterer Erhöhung werden durch Stoßionisation Sekundärelektronen erzeugt. Es tritt ein Verstärkungseffekt auf und $\frac{dI}{dV}$ steigt steil an und wird schließlich negativ. Bei der Bogenlampe stellt sich ein stationärer Zustand ein.

Mit negativen Kennlinien hat man es auch häufig in der Thermodynamik zu tun, wenn man die Stabilität von Zuständen betrachtet. Ein bekanntes Beispiel ist das p-V-Diagramm realer Gase. Die Stabilität ist hier durch die Bedingung bestimmt, dass die Entropie bei Zustandsänderungen stets zunehmen muss: $\Delta S \sim pdV > 0$. Werden diese reversibel geführt, so ist die Koexistenz der expandierten und kondensierten Phase durch die Bedingung bestimmt, dass die gelben Flächen in der rechten Abbildung gleich groß sind. Die durch blaue Punkte markierten kurzen Bereiche mit $\frac{dV}{dp} < 0$ sind metastabil und können durch Unterkühlung beobachtet werden.

Aufgabe 16.4:

Ein Ausflug in die Physiologie der Navigation: Der Kompass der Wüstenameise.

Motivation: Die Nagivation im Tierreich durch Wahrnehmung der Umgebung und der Entwicklung einer Strategie der Bewegung ist ein Gebiet der Zoologen und Tierphysiologen. Es beinhaltet aber eine Fülle physikalischer Konzepte und eröffnet eine große, noch unentdeckte Spielwiese für Physiker. Zwei Empfehlungen zum Einlesen: 'Die Karte im Kopf' von Leo van Hemmen (Phys. Rev Letters 84: 5668 (2000) oder D. Varju 'Mit den Ohren sehen und den Beinen hören' Verlag C.H. Beck München 1998.

Ein gut untersuchtes Beispiel ist die Navigation der Wüstenameisen. Sie kann sich auf der Suche nach Nahrung in der Wüste über 100 m vom Nest zu entfernen und findet problemlos wieder zurück. Eine ganze Reihe von Experimenten hat gezeigt, dass die Tiere anhand der Polarisation des Himmelslichtes ihr Nest lokalisieren können. Andererseits können sich Ameisen aber auch durch Markierung des zurückgelegten Weges mit Duftstoffen orientieren.

Frage 1: Wie kann man mit Polarisatoren die Richtung der Sonne feststellen?

Das von uns beobachtete Himmelslicht kommt durch Rayleigh-Streuung des direkten Sonnenlichts zustande. Das gestreute Licht wird von Molekülen der Luft ausgesendet, die als (vom Sonnenlicht angeregte) Hertzsche Dipole wirken. Wie man sich anhand des ersten Bild leicht klar machen kann, trifft vorwiegend Licht derjenigen schwingenden Dipole auf uns, deren Längsachse senkrecht auf der Einfallsebene steht. Außerdem hängt die Stärke der Polarisation vom Sonnenstand ab, wie das rechte Bild zeigt.

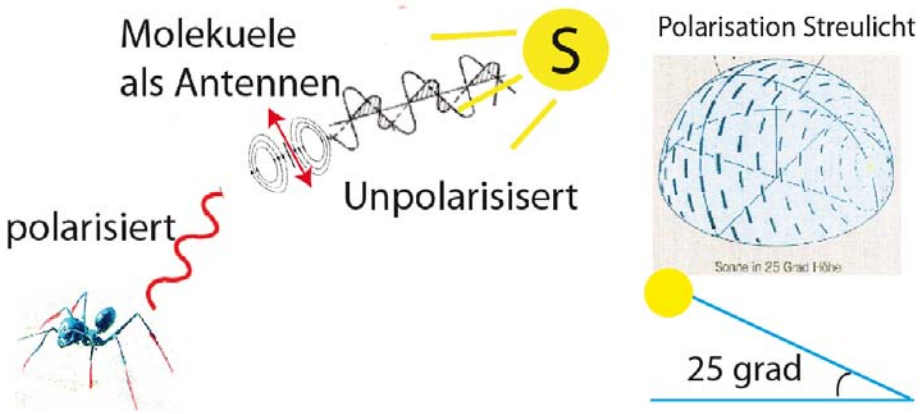


Figure 20: Abb. 16.A.4a: Links: Illustration der Polarisation des auf den Beobachter treffenden Streulichts. Rechts: Beobachtete Verteilung der Polarisation, wenn die Sonne eine Höhe von 25° erreicht hat.

Frage 2: Wie könnte man feststellen, ob die Ameise nicht doch Duftstoffe zur Navigation benutzt?

Die Ameisen bewegen sich bei der Futtersuche in einem Bereich von 100 x 100 m wobei sie sich irrflugartig bewegt, wie das untere Bild zeigt. Bei der Rückkehr dagegen läuft sie auf einer geraden Strecke. Wird der Ameise depolariserende Brillen aufgesetzt verliert sie die Fähigkeit, direkt zum Nest zu laufen.

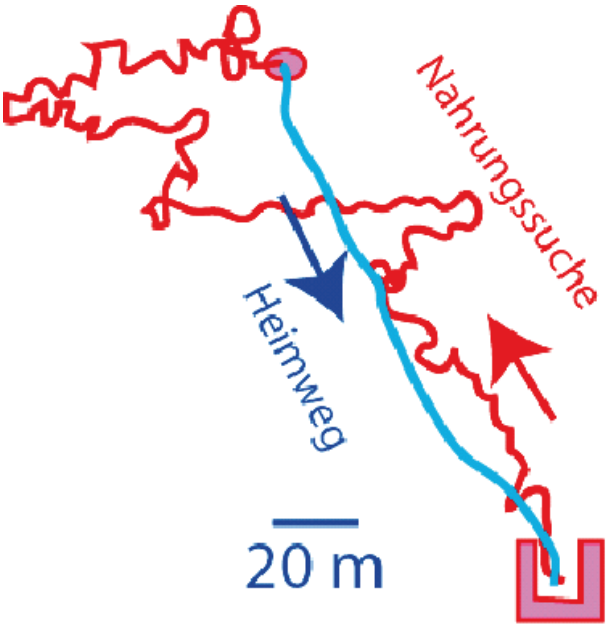


Figure 21: Abb. 16A.4b: Beispiel eines Weges einer Wüstenameise bei der Futtersuche und bei der Rückkehr

Frage 3: Welche Eigenschaft des Farbstoffs Rhodopsin wird dabei ausgenutzt?

Hier ist eine genauere Betrachtung des Komplexauges notwendig (s. auch das sehr gute Buch von R. Wehner und W. Gehring 'Zoologie' Thime Stuttgart 23. Auflage). Das Facettenauge besteht aus 8-9 ringförmig angeordneten Sehzellen (s. Abb:16A.4c), in deren Zentrum die Cilien der Zellen zusammenstoßen und das sog Rhabdom bilden (s. Abb:16A.4c links). Der Sehfarbstoff Rhodopsin mit dem Retinal als Lichtempfänger (s. Kapitel 9) bildet quasikristalline Anordnungen, die als starke Polarisatoren wirken (s.Abb:16A.4c rechts)

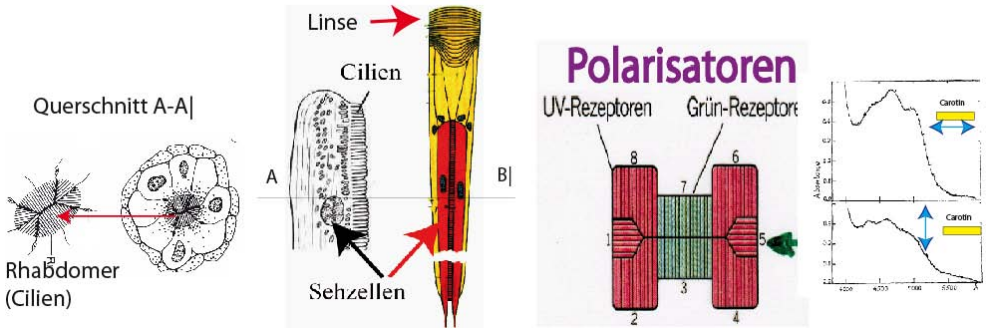


Figure 22: Abb. 16A.4c: Das Facettenauge der Insekten. Jede Facette (mit der Linse an der Oberfläche) besteht aus circa 9 ringförmig angeordneten Sehzellen, die als Lichtleiter dienen. Im Zentrum stoßen die Cilien jeder Zelle aneinander. Sie enthalten den Sehfarbstoff (Modifikationen des Rhodopsins) in quasikristallinen Anordnungen. Diese wirken als Polarisatoren. Wie das rechte Bild der Absorptionsspektren von Carotin zeigt, absorbieren die lang gestreckten Moleküle bevorzugt Licht, das parallel zur Längsachse orientiert ist.

Referenzen:

(a) Nicholls et al. From neuron to brain. (4. Auflage, 2001, Ch. 15). (ii): Wehner and Srinivasan. J. Comparative Physiol.142. 315-338 (1998).

(b) R. Wehner. Polarized light navigation by insects. Scientific American 234:106-115 (1976)

Ergänzungen

1) Es gibt die interessante Idee, dass schon die Wikinger die Polarisation des Himmelslichts zur Navigation ausnutzten. Als Polarisatoren könnten Sie das stark doppelbrechenden Kalkspat (Calcit) benutzt haben. (J. Walkerm, 'Der fliegende Zirkus der Physik', 9. Auflage. Oldenbourg Verlag 2008)

2) In Deutschland gibt es einige Nester der Wüstenameisen. Die Wissenschaftler wollten das Experiment auf dem Dach der Universität in Ulm demonstrieren. Sie schließen ein Nest an einen Kanal an. Am anderen Ende liegt eine Futterstelle. Nach kurzer Zeit haben die Ameisen das Gläschen mit Honig entdeckt und laufen zwischen Nest und Futter hin und her.
Sehr schöne neuere Experimente von Wittlinger et al zeigen, dass sich die Wüstenameisen über kürzere Strecken auch durch Integration der Zahl der Schritte orientieren (siehe M. Wittlinger et al., 'The Ant Odometer: Stepping on', Science 312 (2006)).

Aufgabe 17.1:

Magnetometrie mit SQUID-Magnetometer als bildgebendes diagnostisches Hilfsmittel.

Die Wirkung magnetischer Felder auf Tiere oder der durch Menschen erzeugte Magnetismus (oft Biomagnetismus genannt) beschäftigt die Menschen schon Jahrhunderte. Erst 1963 gelang es erstmals nachzuweisen, dass die Herztätigkeit messbare Magnetfelder erzeugt. Die Situation änderte sich schlagartig nach der Entdeckung des Josephson-Effekts und der Entwicklung des SQUID-Magnetometer. (SQUID steht für Superconducting Quantum Interference Devices) Durch 2D- Anordnungen von Sensoren wurde die Methode zu einem bildgebenden Verfahren entwickelt, die vor allem zur Untersuchung der Gehirnströme (Magneto-Enzephalographie = MEG) und der Aktivität des Herzmuskel (Magnetokardiographie = MKG) eingesetzt werden (oft als ergänzende Methoden zu NMR-Tomographie und PET. Ein Vorteil der Registrierung magnetischer Felder anstatt elektrischer (EKG) ist, dass Verfälschungen des Signals durch das Gewebe vermieden werden.

Aufgabe A. Reduktion des Einfluss großer Streufeldern (Erdfeld: $B = 5 \cdot 10^7 fT$; Großstadtrauschen: $10^7 fT$; bei 1Hz).

Zur Aufnahme eines MKG (~$10^4 fT$) oder MEG ($100 - 10^3 fT$) in Gegenwart der sehr großen Streufelder wurde die Methode der Gradientenspulen (Gradiometer genannt) entwickelt. Diese bestehen aus zwei entgegengesetzt gewickelten und miteinander verbundenen Drahtschleifen. Sie sind mit einer Aufnahmespule verbunden. Das Magnetfeld H_S dieser Spule wird vom SQUID Magnetometer registriert. Es ist offenbar proportional zur Differenz der Felder an den beiden Spulen (d. h. dem Gradienten des Feldes). In kommerziellen Geräten sind etwa 40 SQUID-Magnetometer in einem Messkopf angeordnet (s. [Schittenhelm und Oppelt 1990]].

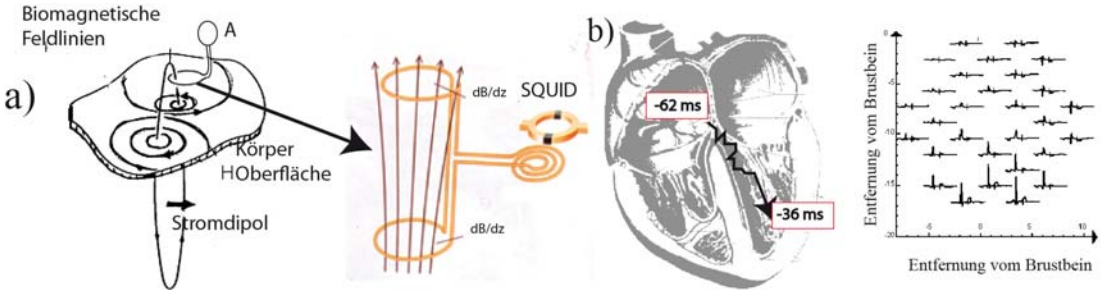


Figure 23: Abb. 17A.1 a) Zeigt das Prinzip der Messung. Lokale Gruppen von kollektiv erregten Zellen erzeugen (aufgrund der elektrischen Reizleitung) zeitabhängige Magnetfelder. Diese können in einigen cm Abstand als Dipolfelder approximiert werden, womit eine räumliche Lokalisierung auf wenige mm möglich ist. Die Genauigkeit der Lokalisierung beträgt ca. 3-5 mm an der Körperoberfläche und 5-10 mm im Inneren (nach [Schittenhelm und Oppelt 1990]). b) Ein Beispiel der Leistungsfähigkeit der SQUID-Magnetometer. Gezeigt werden Aufnahmen der Signale als Funktion der Zeit und des Orts im Bereich des Brustbeins. Daraus wurde die links im Bild gezeigte Ausbreitung der Erregung im Herzen rekonstruiert.

Ein Beispiel für die enorme Leistungsfähigkeit der Magnetokardiographie ist die in Abb.17A.1b gezeigte Beobachtung der Ausbreitung der Erregung des Herzens vom Sinus-Knoten zur Herzkammer. Man misst die vom EKG bekannten Erregungswellen simultan an verschiedenen Stellen des Herzens. Wie die Abbildung ganz rechts zeigt, beobachtet man nur eine P-artige Bande in der Nähe des Sinus-Knotens (oben Mitte), dagegen nur die QRS- bzw. T-Welle im

Bereich der Herzkammern (unten). Um die raum-zeitliche Ausbreitung zu bestimmen, analysiert man Zeitfolgen dieser Signalverteilungen, aus denen sich Magnetverteilungen als Funktion des Ortes und der Zeit bestimmen lassen.

Aufgabe B: Die Magnetfelder werden durch zeitlich fluktuierende Ionenströme durch die Membranen der Nervenzellen erzeugt. Wenn die Ströme durch externe Reize angeregt werden, sind die Felder stärker, da die lokale Ströme gerichtet sind. Die Stärke der Felder und deren Gradienten sind durch das Biot-Savartsche Gesetz bestimmt (s. Abb. 17A.1c). Betrachten wir zwei Positionen im Abstand r und (r+δ r), so ist die Differenz der magnetischen Feldstärken pro Länge, $\delta(\frac{H}{\delta l})$, von der Größenordnung $\frac{\delta r}{2\pi r^3}$. In der Nähe des Körpers sind daher die die Gradienten der Starkstromleitungen oder des Erdfeldes um viele Größenordnungen kleiner, als die der Gehirnströme.

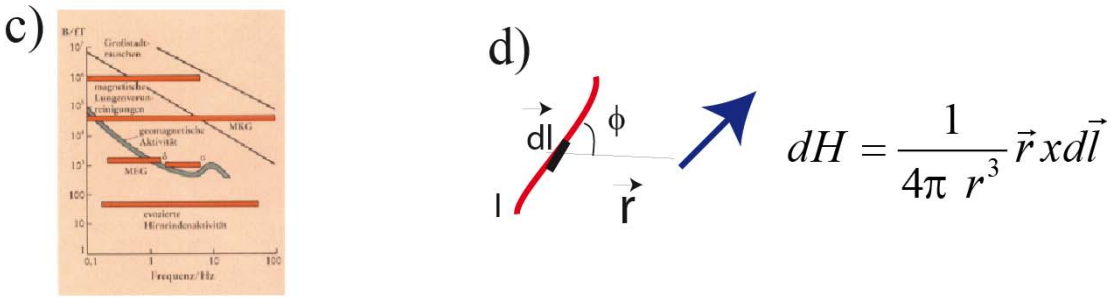


Figure 24: Abb.17.A.1.c) d): Vergleich der magnetischen Störfelder mit den durch Biomagnetismus erzeugten als Funktion der Frequenz (in Hz). MKG Magnetokardiogramm MEG: Magneto-Enzephalogramm. Man beachte, dass das Großstadtrauschen die Magnetfeldstärke der Gehirntätigkeit um das 1000 fache übertreffen kann.

Referenzen:

1 R. Schittenhelm und A. Oppelt, Hilfe: R.Schittenhelm und A. Oppelt 'Biomagnetische Diagnostik' in Physik in unserer Zeit 21 161-171 (1990)

2 J. Clarke. 'SQUID's' Spektrum der Wissenschaft Oktober 1994

Neuere Literatur zum Biomagnetismus: Andrä und Novak: 'Magneticsm in Medicine A Handbook' Wiley-VCH, Weinheim, 2006)

Aufgabe 18.1:

Krafterzeugung durch Actin-Gelation.

Motivation: In Abb. 18.12 hatten wir das Tretmühlenmodell des Pseudopdien-Vorschubs beschrieben. Als experimenteller Beweis gilt der Antrieb der Listeria-Bakterien durch Bildung verzweigter Aktin-Netzwerke mit dem Vernetzer Arp2/3 (s. Abb. 18.13) und vor allem die Möglichkeit, mit diesem Antriebsmechanismus Kolloide durch Wasser zu treiben. In dem Modell wird angenommen, dass das Wachstum durch sukzessive Andockung von aktivierten Aktin-Monomeren (G-Actin-ATP) an der Grenzfläche zwischen Gel und den Bakterien angetrieben wird. In Kapitel 18.5 hatten wir gezeigt, dass der Energiegewinn beim Andocken der Monomere etwa eine Kraft von 10pN erzeugen kann.

In der Aufgabe geht es auch um die Frage, wie viele Aktinfilamente notwendig sind, um Listeria Bakterien mit $v = 2\frac{\mu m}{s}$ durch Wasser (oder die Zelle) zu treiben (s. Abb. 18.13). Nehmen Sie an, das Bakterium sei kugelförmig (Durchmesser 1 μm). Die Viskosität des Wasser ist $\eta = 10^{-3}\frac{J}{m^3}$. Die Antriebskraft ist $F = F_R = 6\pi\eta R v \approx 10^{-14} N$.

Die notwendige Kraft ist erstaunlich klein, d.h. ein Filament reicht aus, um die Kraft zu erzeugen. Die Geschwindigkeit ist allein durch die Rate der Ankopplung k_+ von G-Aktin bestimmt. Die Geschwindigkeit der Kolloide in Wasser ist 0.03 $\frac{\mu m}{s}$. Da die Andockung eines G-Aktins einen Vorschub von 2.8 nm schafft, muss $k_+ \approx 10\frac{1}{s}$ sein. Wie in 18.2 und 18.6 gezeigt wurde, wird die Rate durch den Proteinkomplex VASP und den Wachstumspromotor Profilin beschleunigt.

Betrachten wir noch die Situation in der Zelle. Hier liegt die Viskosität bei 10 Pa s in Dictyostelien und 100 Pa s in Makrophagen. Die Geschwindigkeit ist 0.07 $\frac{\mu m}{s}$. Daher ist die notwendige Kraft viel größer: $F = F_R \approx 4$ bis 40 pN. Hier tritt ein anderes Problem auf: Die notwendigen Antriebs-Kräfte sind größer als Knickkraft einzelner Filamente. Dieses Problem wird in die nächsten Aufgabe diskutiert.

Aufgabe 18.2:

Wie engmaschig müssen Actin-Netzwerke und Gele sein, um nano-Newton-Kräfte auszuhalten?

Für den Vorschub der Pseudopodien durch Actin-Polymerisation muss nicht nur die Kraft pro wachsendem Filament groß genug sein, sondern die Gele dürfen unter der Last nicht umknicken. Nach Kapitel 18.5 ist die Knickkraft eines Aktinfadens der Länge l: $f^* = \frac{\pi^2 B}{l^2}$ (wenn beide Enden frei drehbar sind). Wir betrachten ein kubisches Gitter (Kantenlänge L) der Gitterkonstante x. Es sei zwischen zwei Wänden eingespannt und werde mit einer Spannung s $\frac{F}{L^2}$ komprimiert. Wir brauchen nur die $n = \frac{A}{x^2}$ Filamente senkrecht zur Wand betrachten. Die Kraft pro Filament ist dann $f^* = \frac{F}{n}$, d.h. $\frac{F\eta^2}{A} \leq \frac{\pi^2 B}{\eta^2}$ oder $\eta^4 \leq \frac{\pi^2 AB}{F}$, bzw. $\eta^4 \leq f_p \frac{A}{F_p}$.

Zusatz-Aufgabe: Wie wird Formin aktiviert und wodurch wird die Aktivierung eingeleitet?

Man erinnere sich: Die Familie der Formine spielt eine zentrale Rolle für das schnelle Wachstum der plus Enden der Aktine (s Abb 18.10). Es besteht aus mehreren Domänen (sog. Formin-Homologie Domänen FH1, FH2, FH3).

Die FH2-Domäne rekrutiert den Polymerisations-Promotor Profilin (s. Abb 18.12). Die FH1 ist reich an Prolin und bindet (zusammen mit FH2) an die Actin Monomere. Eine weitere Domäne bindet die biochemischen Schalter der Rho-Familie. Im Ruhezustand ist Formin inaktiv. Es wird durch Bindung an Rho-GTPasen (die an der Membran lokalisiert sein können) aktiviert. Die Rho GTPasen werden ihrerseits über externe Signale durch GDP $\longrightarrow$ GTP Austausch aktktiviert. Die aktivierten Proteine bilden Dimere und können in dieser Form F-Aktin verlängern (wie in Abb 18.10 gezeigt). Eine gute Darstellung findet man in H. Lodish et al. 'Molecular Cell Biology' (6th edition, Ch 17, Abb.17.13 und 14).

Aufgabe 19.1:

Krafterzeugung durch optische Pinzetten.

Optische Pinzetten gehören heutzutage zur Standardausrüstung eines Biophysiklabors. Es ist daher lehrreich und wichtig, sich mit den physikalischen Grundlagen der Kraftentstehung zu befassen. Je nach dem Durchmesser d der zu untersuchenden Partikel hat man es mit zwei Situationen zu tun: d klein gegen die Wellenlänge λ und d ~λ.

Für $d << \lambda$ hat man es wie bei der Rayleigh Streuung mit der Wechselwirkung eines polarisierbaren Teilchen (Polarisierbarkeit α) mit dem elektrischen Feld E(α) des Lichtes zu tun (s. Abbildung 19A.1. 1a).

Man muss dabei beachten, dass die Polarisierbarkeit durch die Clausius-Massotti Beziehung mit den Dielektrizitätskonstanten (ϵ_1 und ϵ_2) Brechungsindizes (n_1 und n_2) der Materialien verknüpft ist:

$P' = \frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{\epsilon_1 + 2\epsilon_2} \frac{M}{\rho} = \alpha \frac{N_A}{3\epsilon_0}$ (1)

M ist die Molmasse ($\frac{kg}{M}$) und ρ ist die Dichte ($\frac{kg}{m^3}$). P hat also die Dimension Molvolumen. Häufig wird $\epsilon_2 = 1$ (was nur für Partikel in Luft als eine gute Näherung gilt).

Im elektrischen Feld des Licht wird das im Teilchen induzierte Dipolmoment
$\vec{M} = n\alpha\vec{E}$
, wobei n die Dichte der Dipole im betrachteten Partikel ist, das als isotrop betrachtet wird. Die Kraft auf das Teilchen im inhomogenen Feld des fokussierten Lichts ist dann:

$\vec{F} = \vec{M}\nabla|E|$

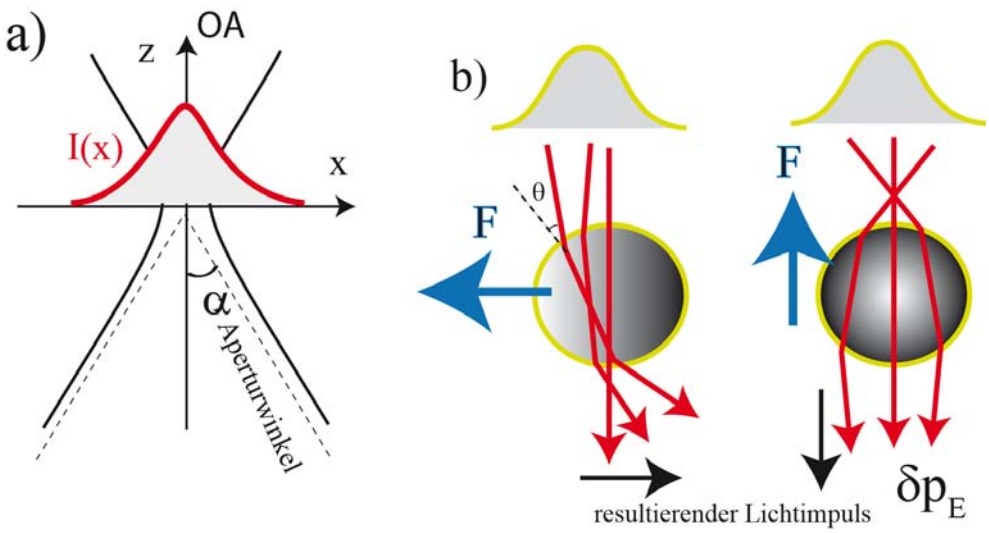


Figure 25: Abb 19.A.1: Zur Demonstration der Kraft auf die Partikel der optischen Pinztte

Für $\lambda << d$ erhält man die Kraft auf das Teilchen durch Betrachtung des Strahlungsdruck der Lichtstrahlen. Hier ist es für Nichtspezialisten ausreichend, sich auf die geometrische Betrachtung anhand der rechten Abbildung zu beschränken.

Die Abbildung 19A.1 zeigt, dass die Richtung der Kraft und die Bedingungen unter denen die Teilchen im Fokus gefangen werden in beiden Betrachtungen äquivalent sind. Die Berechnung der absoluten Kräfte auf das Teilchen ist schwierig und nicht nötig, da man im Experiment die Kraft bestimmt, in dem man die die Reduktion der Brownschen Bewegung im Kraftfeld des Lichtes misst. Dabei nimmt man an, dass man das Kraftfeld durch ein harmonisches Potential ersetzen kann ($V = k\frac{x^2}{2}$). Dieser Fall wurde mehrfach im Buch diskutiert, wobei gezeigt wurde, dass das mittlere Verschiebungsquadrat des Partikels in Richtung senkrecht zur optischen Achse gegeben ist durch $< |x(0)^2| >= \frac{k_B T}{k}$.

Zusatzfrage. Wie ändert sich die Situation, wenn der Brechungsindex des Partikels kleiner ist, als der des umgebenden Mediums (Situation einer Luftblase in Wasser). Nach der Clausius Masotti Bezeihung (1) ändert sich das Vorzeichen des induzierten Dipolmoments und das Partikel wird aus der Falle entfernt. Man kann sich dies durch Betrachtung des Lichtdruckes klar machen.

Aufgabe 19.2:

Der Strahlungsdruck des Lasers.

James Clerk Maxwell zeigte schon 1873, dass elektromagnetische Wellen einen Druck auf Körper ausüben können.

Ein Photon der Frequenz ν transportiert die Energie $E = h\nu$. Es besitzt die Masse $m = \frac{h\nu}{c^2}$ und damit den Impuls $p = \frac{h\nu}{c} = \hbar k$. Treffen in der Zeit dt dN Photonen auf eine Oberfläche, so ist der Impulsübertrag pro Zeiteinheit (d.h. die Kraft) $\frac{dp}{dt} = \frac{h\nu}{c}\frac{dN}{dt}$, falls alles Licht absorbiert wird. Auf eine gegen den Lichtstrahl um den Winkel θ geneigte Fläche wird der Strahlungsdruck $P_i = \frac{dp}{dt} = \frac{h\nu}{c \cdot dA \cdot cos(\theta)}\frac{dN}{dt}$ ausgeübt. Die Größe Φ (Dimension $\frac{J}{s} = W$) wird als Strahlungsstrom bezeichnet und die Größe E_s als Bestrahlungsstärke (engl. energy flux) und hat die Dimension

der Intensität ($[E_s] = \frac{Js}{m^2}$). Daher wird der Strahlungsdruck $P_s = \frac{E}{c}$.

Das Ergebnis der Rechnung ist: Der Strahlungsdruck auf das vollkommen absorbierende Partikel ist ungefähr gleich der Energiedichte der einfallenden Strahlung des Laser. Man beachte: Bei totaler Reflexion ist der Strahlungsdruck doppelt so groß.

Anwendung: Wir betrachten einen Laser mit 1 W Strahlungsleistung und 10 μm Strahldurchmesser. Die Bestrahlungsstärke ist: $E_s \approx 10^{10} \frac{W}{m^2}$. Der Strahlungsdruck ist: $P_s \approx 50Pa(= 310^{-3} atm)$. Die Kraft auf ein $1\mu m$ Partikel ist: für 100 % Reflektivität (r=1): 10pN; für Gold (r=0.75): 9 pN; und für Glas (r = 0.04): 0.3 pN.

Zum Vergleich: Der Strahlungsdruck der Sonne ($E_s \approx 10^3 \frac{W}{m^2}$) ist $P_s \approx 4.5\mu Pa$.

Aufgabe 19.3:

Kraftmessung mit magnetischen Pinzetten.

Die Kraftmessung mit magnetischen Partikeln (Pinzetten) hat den Vorteil, dass sie völlig berührungsfrei und störungsfrei ist.

Superparagnetismus: Die magnetischen Pinzetten (MPZ) bestehen aus Polymerkügelchen mit eingebauten ferromagnetischen Nanopartikeln aus Fe_2O_3 (s. Abbildung 19A.3.1). Letztere sind kleiner als die Weißschen Bezirke (Durchmesser je nach Material 3-50 nm). Sie sind daher nicht ferromagnetisch und besitzen keine Koerzitivkraft. In Abwesenheit des Feldes klappen die Momente durch thermische Fluktuation ständig um (mit Neel-Relaxationszeiten $t_N < 10^{-9} s$) und die MPZ sind nicht magnetisiert. Im Magnetfeld richten sich die Nanomagnete aus und

es entstehen große magnetische Momente. Sie verhalten sich also wie Paramagnete und man nennt sie daher super-paramagnetisch. Die magnetische Suszeptibilität der Pinzetten ist wie bei normalen Paramagneten durch eine Langevin Funktion bestimmt. Die Kraft auf die Pinzetten ist daher bestimmt durch:

$F = (\vec{M}(B)\nabla)\vec{B}$ (1)

μ_0 ist die magnetische Permeabilität gemessen in $\frac{N}{A^2}$ ($4\pi \cdot 10^{-7}\frac{N}{A^2}$). M ist das vom magnetischen Fluss abhängige magnetische Moment (Dimension $[Am^2]$) und B ist der magnetische Fluss (Dimension (V $\frac{s}{m^2}$ oder Tesla). Das Verhalten ist sehr kompliziert. In der Praxis umgeht man das Problem, indem man die Kraft als Funktion des Gradienten des magnetischen Flusses (oder einfach des Spulenstroms) bestimmt (s. beispielsweise Ziemann et al. Biophys. J 66, 2210,(1994)). Man misst dazu die Geschwindigkeit der MPZ in Wasser-Glyzerin-Mischungen. Den Reibungskoeffizienten kann man, wie im Fall der optischen Pinzetten in Aufgabe 19.1) durch Analyse der Brownschen Bewegung messen.

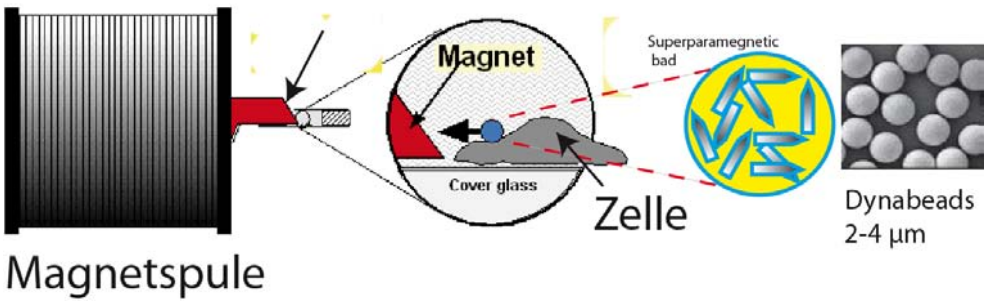


Figure 26: Aufgabe 19.A.3.1 Schematische Darstellung der Kraft-Messung mit magnetischen Pinzetten. Man kann die Spule auch durch sehr spitze magnetische Nadeln erzeugen, die mit Mikromanipulatoren an den Ort der MPZ bewegt wird.

Anwendung: Messung der Entbindungskraft von auf Aktinfilamenten laufenden Myosin V-Motoren. Abb. 19A.3.2 zeigt das Prinzip der Methode.

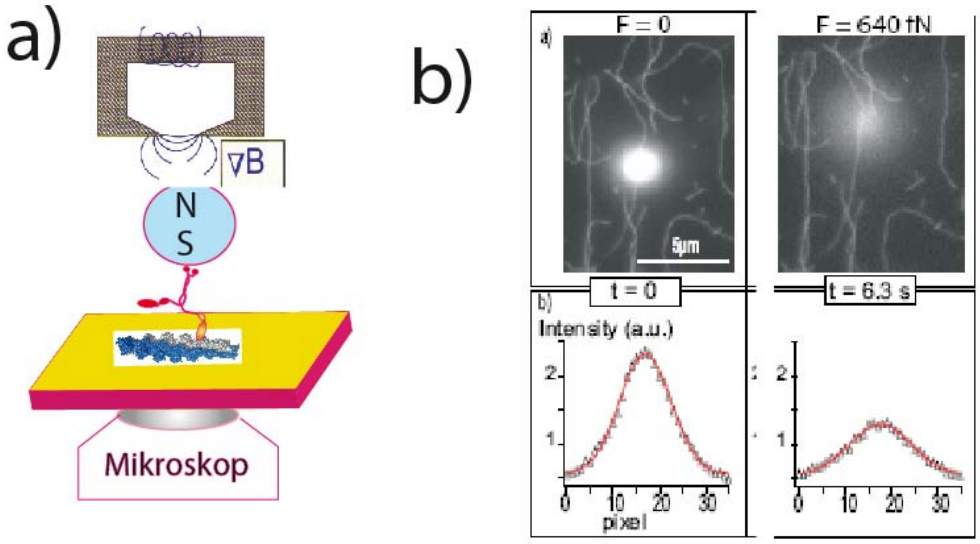


Figure 27: Abb 19.A.3.2 a) Anordnung zur Messung der Entbindungskraft von auf Aktinfilamenten laufenden MyoV-Motoren. Mit der Anordnung können 100pN erreicht werden. b) Beobachtung der Entbindung durch Analyse der Breite des Beugungsscheibchens des fluoreszierenden MPZ, deren Intensitätsverteilung man als Gaussfunktion darstellen kann (Höhenauflösung 7 nm).

Zum Experiment: Man fixiert fluoreszierende Aktinfilamente auf einer Glasplatte und koppelt die Myosin V Motoren auf den MPZ, der ebenfalls fluoresziert. Der Strom wird durch einen Funktionsgenerator gesteuert, mit dem man die zeitliche Änderung der Kraft variieren kann, um die Entbindungskraft als Funktion der Kraftrate zu messen. Die Methode zur Beobachtung der Entbindung wird unten beschrieben.

Messung des Abstandes zwischen dem MPZ und dem Aktinfilament: Hier nutzt man die Änderung des Beugungsbildes der fluoreszierenden Sonde aus, die durch dessen Entfernung aus der Fokusebene auftritt. Wie im Kapitel 37 gezeigt wird, kann man die Intensitätsverteilung als Gaussfunktion darstellen. Deren Breite nimmt zu, wenn die Sonde aus dem Fokus entfernt

wird (wie in Abb. 19.A.3.2b gezeigt wird). Man kann mit dieser Methode Höhenauflösungen von 7 nm erreichen. (siehe A. Roth Doktorarbeit Technische Universität München 2006 (siehe http://mediatum2.ub.tum.de/node, Rubrik Fakultät für Physik))

Aufgabe 19.4:

Beweis der Gleichung 19.3. Analyse der Kinetik gekoppelter Reaktionsgleichungen und eine Anwendung der Poisson Statistik:

Motivation: Ausgangspunkt der Aufgabe ist der Nachweis, dass die ADP-Entbindung des MyosinV-Motors dessen Zykluszeit bestimmt (s. Abb. 19.4) und mit dem gezeigt wurde, dass Myosin V ein prozessiver Motor ist. Dies wurde durch witzvolle Messungen der Verweilzeiten des Motors im gebundenen Zustand (Rigorzustand (MyoV-ADP) als Funktion der ADP-Konzentration gezeigt. Es ist ein sehr lehrreiches Beispiel, wie man die Kinetik gekoppelter chemischer Reaktionen aufklären kann.

Wir betrachten die Reaktionen My+ATP $\longleftrightarrow$ My-ATP; My-ATP $\longleftrightarrow$ My-ADP +P (Hydrolyse des ATP durch Myosin) und My-ADP $\longleftrightarrow$ My + ADP. My-ATP ist Lieferant von My-ADP. Man betrachtet zwei Szenarien. In Abwesenheit von ADP zerfällt MyADP ohne Rückbindung und ATP kann unbehindert binden. Ist ADP vorhanden, so konkurriert es mit der Bindung von ATP, d.h. ATP kann nur binden, wenn ADP dissoziiert. Der Zyklus wird verlangsamt.

Wir betrachten zuerst die Situation in Abwesenheit von ADP. Die Kinetik ist bestimmt durch den Zerfall von My-ADP und dessen Bildung durch Bindung von ATP. Zur Vereinfachung der Schreibweise benutzen wir folgende Abkürzungen ein: My-ATP=A; My-ADP = B, My = C; ATP = D und ADP = E.

Lösung der Ratengleichungen:

Die Konzentrationen seien A, B, C. Die Ratengleichungen sind nun:

Bildung (aus My-ATP) und Zerfall von My-ADP: $\frac{dB}{dt} = k_1 A - k_2 B$
Hydrolyse von My-ATP: $\frac{dA}{dt} = -k_3 A$

Lösung der homogenen Gleichungen:
$B = C(t)e^{-k_2 t}$
$A = A_0 e^{-k_1 t}$

Lösung der inhomogenen Gleichung für B durch Variation der Konstanten C(t)liefert:

$C(t) = \frac{A_0 k_1}{k_1 - k_2}(e^{-(k_1 - k_2)t_1})$
und damit:
$B(t) = \frac{B_0 k_1}{k_1 - k_2}(e^{-k_1 t - e^{-k_2 t}})$ (1)

Die Wahrscheinlichkeit, dass das ADP in der Zeit t entbindet (d. h. die Verweilzeit der My-ADP-Bindung) ist dann $k_2 B(t)$, denn ist k_2 groß, so ist die Lebensdauer des gebundenen Zustands klein.

Lösung mit dem Konvolutionstheorem: Bei diesem Lösungsweg gehen wir von der Poisson-Gleichung aus. Diese kann zwei Fragen beantworten. Wir können erstens (wie in Aufgabe 14.5) nach der Wahrscheinlichkeit fragen, wie oft ADP in der Zeit t von Myosin entbindet. Diese ist gegeben durch $P(k, \mu) = \frac{\mu^k}{k!} e^{-\mu}$

Für unsere Zwecke ist eine andere Darstellung notwendig. Anstatt die Zahl der Ereignisse in

einer Zeit t zu zählen, fragen wir nach dem Zeitintervall zwischen zwei Ereignissen. Diese ist gegeben durch: $P(t, \lambda) = \kappa e^{-kt}$, wobei κ die Wahrscheinlichkeit pro Zeit ist, dass das Ereignis eintritt. Dies wird verständlich, wenn man die mittlere Wartezeit berechnet: $T = \int te^{-\kappa t} dt = \kappa^{-1}$
.

Hat man es mit zwei Wahrscheinlichkeiten zu tun, d.h. in unserem Fall mit der, dass ADP entbindet ($W_1 = k_1 e^{-k_1 t}$) und der, dass ATP bindet ($W_2 = k_2 e^{-k_2 t}$), so ist die gesamte Wahrscheinlichkeit, dass ADP entbindet durch die Konvolution von $W_1(t)$ und $W_2(t)$ gegeben. Die Konvolution der Verteilungen der Übergangswahrscheinlichkeiten ist: $K(k_1, k_2) = \int e^{-k_1(t-t')} e^{k_2 t'} dt'$

Integriert man diese Gleichung von t=0 nach t so folgt die obige Gleichung (1). In den Experimenten von Rief et al. wurde Gl(1) an die gemessenen Verteilungen der Verweilzeiten angepasst, um k_1 und k_2 zu messen.

Zusatzbemerkung: Als weiterer Beweis dafür, dass ADP-Entbindung von MyosinV der geschwindigkeitsbestimmende Schritt des Arbeitszyklus ist, wurde in der Arbeit von Rief et al gezeigt, dass bei Anwesenheit von >400 μM ADP nur eine Ratenkonstante k_0 auftritt, d.h. dass die Verweilzeit des Motors eine rein exponentielle Funktion ist. Wir betrachten dazu das Gleichgewicht My-ADP $\longleftrightarrow$ My + ADP. Sie sei durch die Gleichgewichtskonstante K ($= \frac{Myo \cdot ADP}{My-ADP}$)bestimmt. Die Ratengleichung der Entbindung von ADP ($\equiv$ E) ist dann:

$\frac{dB}{dt} = k_1 CE - k_2 B = k_1 KB - k_2 B$ oder $B(t) \propto B_0 e^{-k^* t}$ mit $k^* = k_1 K - k_2$

Die Entbindung zeigt bei hohen ADP-Konzentrationen also einen einfachen exponentiellen Zerfall.

Aufgabe 19.5:

Beweis der Hand-über-Hand-Bewegung des Myosin V-Motors

Motivation: Die Methode der Anregung der Fluoreszenz unter dem Winkel der Totalreflexion TIRF (Abkürzung für 'Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy') eröffnet vielseitige Möglichkeiten zur Untersuchung der Reorganisation des Aktin-Zytoskeletts während der Zelladhäsion oder Zellbewegung oder zur Aufklärung elementarer Prozesse molekularer Motoren. Als eindrucksvolles Beispiel betrachten wir die Anwendung von TIRF zur hochauflösenden Aufklärung des Bewegungsmechanismus molekularer Motoren (Myosin V).

TIRF-Methode: Abb 19A.5 zeigt das Prinzip von TIRF. Das Objektiv des Mikroskops wird so konstruiert, dass die Lichtstrahlen an der oberen Oberfläche des Deckglases unter dem Winkel der Totalreflexion eintreffen. Der kritische Winkel θ_c der Totalreflexion ist durch die Bedingung $\theta_c = \frac{n_2}{n_1}$ bestimmt (s. Abb. 19A.5 rechts). Durch Verwendung von Immersionsöl wird die Einkopplung des Lichts in den Objektträger vereinfacht und gleichzeitig eine hohe numerische Apertur erreicht.

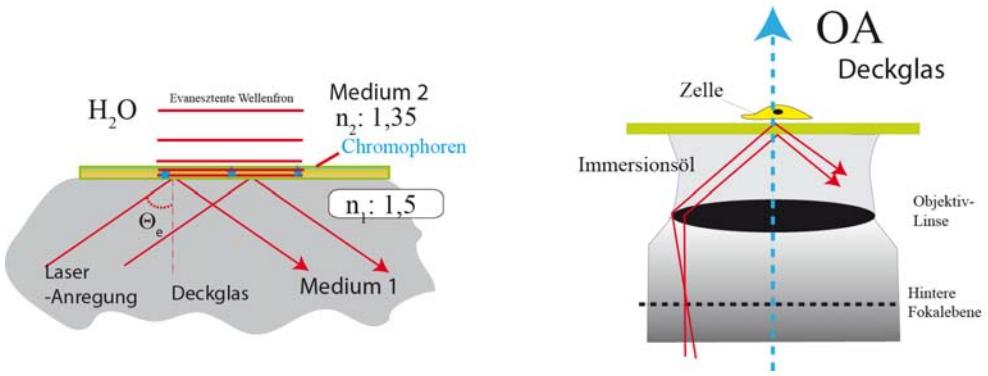


Figure 28: Abb. 19A.5: Links: Prinzip der TIRF Methode. Rechts: Schema eines Objektivs mit hoher numerischer Apparatur.

Für die Anwendung sind zwei Parameter entscheidend. Die laterale Auflösung und die Eindringtiefe der evaneszenten Welle in das optisch dünnere Medium (H_2O). Diese Oberflächenwelle sorgt dafür, dass die Randbedingung des elektrischen Feldes an der Grenzfläche erfüllt werden und klingt exponentiell ab:

$E(z) = E_0 e^{-\frac{z}{\eta}}$

Die Eindringtiefe am Grenzwinkel der Totalreflexion ist:

$\eta = \frac{\lambda}{2\pi} \frac{1}{\sqrt{n_1^2 sin^2(\theta) - n_2^2}}$

Eine umfassende Darstellung der Rolle der evaneszenten Welle bei TIRF: M. Kramer (Fa Zeiss) Photonic 2: p42 (2004)

Nano-Fluoreszenzmikroskopie: In Kapitel 37.3.5 hatten wir die Grundlagen der Methode eingeführt und dargestellt, wie man (unter Verwendung von CCD-Kameras) die Position von (auf einer Ebene fixierten) Fluoreszenzsonden mit nm-Genauigkeit bestimmen kann, indem man über einige tausend Fluoreszenzsignale (typischerweise 10^4) der Sonde aufsummiert. Wie bei spektroskopischen Methoden (z.B. NMR) muss man die Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses der Positionsbestimmung durch Zeitmittelung über einige tausend Signale bezahlen. In den Experimenten von Yildiz et al. [Yildiz et al 2003)] wurden durch Mittelung über 0.5 sec (Registrierung von ca 15000 Signalen) die Position auf 1.5 nm genau bestimmt.

Das Experiment von Yildiz et al.:

Die Motoren wurden an zwei Stellen mit Farbstoff markiert; (i) Rhodamin wurde an die leichte Kette des Motorkopfs angekoppelt; (ii) ein Cyanofabstoff (Cy3) wurde an eines der 6 Calmoduline angedockt, die an die Beine der Motoren binden und für dessen Funktion notwendig sind (s.

Kapitel19.2). Da man nicht a priori sagen kann, wo die Chromophore sitzen, ist eine statistische Analyse der saltatorischen Bewegung der Farbstoffe notwendig.

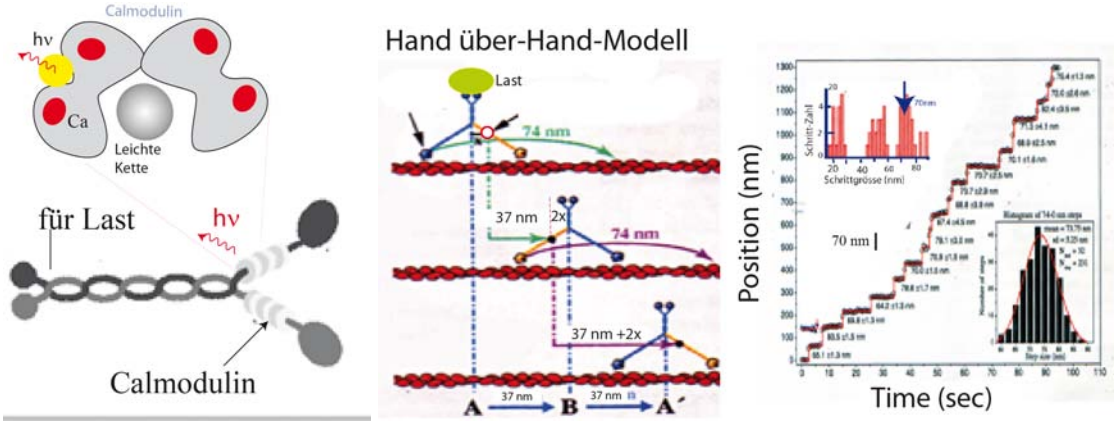


Figure 29: Abb:19.A.5b: Links: Darstellung der Markierung einer der 'leichten Ketten' von MyoV mit einem Cyano-Farbstoff. Bei den leichten Ketten handelt es sich um Proteine mit ähnlicher Struktur wie das Ca-bindende Calmodulin (s.Kapitel 18). Unten: Links im Bild werden die nach dem Hand-über-Hand Modell erwarteten Positionen dargestellt, wenn der Motor um 2x37 nm läuft. Man beachte, dass die Fluoreszenzsonde sich beim ersten Teilschritt um $\Delta l = (37nm - 2x)$ und beim zweiten um $\Delta l = (2 \cdot 37nm + 2x)$ bewegt. Das rechte Bild zeigt die schrittweise Bewegung eines Motors. Die Einsätze zeigen Verteilungen der Schrittweite. Der untere zeigt die Verteilung der im Bild dargestellten Trajektorien eines der analysierten Motoren, in dem nur 72 nm Schritte beobachtet werden. Das obere Histogram zeigt das Ergebnis für eine Sonde die Schritte von $\approx$ 23 nm und $\approx$ 50 nm macht. Dies entspricht einer Position $x \approx 7$ nm von der Längsachse des Motors.

Das rechte Bild in Abb.19A.5b zeigt eine Trajektorie eines mit Rhodamin markierten Motors. Alle Sprünge haben eine Länge von 72 nm, wie man nach dem Hand-über-Hand-(HÜH-) Modell erwartet. Die Verteilung der Schrittweiten gehorcht einer Gaußfunktion und hat ein Maximum bei ca. 72 nm. Die Trajektorien von an Calmodulin markierten Motoren (die wir hier nicht zeigen) zeigen Sprünge von ΔL=72nm, von ΔL=(37-15)nm und von ΔL=(37+15) nm, wie man nach dem HÜH-Modell erwarten würde, wenn der Abstand des Farbstoffs von Längsachse des

Stamms x ≈ 7.5 nm ist. Damit wurde von Yildiz et al. ein sehr schöner und schlüssiger Beweis des HÜH-Modells erbracht.

Das schöne Experiment zeigt eindrucksvoll, wie wichtig statistische Analysen in der Biophysik sind. Man sollte aber auch beachten, dass die hohe Genauigkeit der Ortsbestimmung durch Fixierung des Aktins auf einer Ebene beruht.

Für Fortgeschrittene: Nach dem HÜH-Modell sollte die Häufigkeit der Sprünge (Sprungrate R(T)) um einen Faktor zwei kleiner sein, als die der 23 nm und 52 nm Sprünge, da der rechte Motorkopf nach Abb. 19A.5b beim Übergang A $\longrightarrow$ B einmal aussetzt. Man kann dieses Verhalten indirekt beobachten, wenn man die Verteilung der Schrittweiten wie in Aufgabe 19.4 analysiert. Man betrachte dazu die Schritte A $\longrightarrow$ B und B $\longrightarrow$ A'. Dann ist die Wahrscheinlichkeit der Verweilzeiten T im Zustand A durch die Funktion $f(t) = k_1 e^{-k_1 t}$ und die in B durch $f(t') = k_2 e^{k_2 t'}$ bestimmt. Nun haben wir in der vorherigen Aufgabe gelernt, dass unter diesen Umständen die gesamte Verteilung der Schrittweiten durch Konvolution der beiden Funktionen bestimmt ist. Wir können das Ergebnis aus Aufgabe 19.4 übertragen. Nun sind aber die Übergangswahrscheinlichkeiten gleich $k_1 = k_2 = k$. In diesem Fall ist die Verteilung der Schrittweiten gegeben durch $P(t) = tk^2 e^{-kt}$. Man erhält die Verteilung der Schrittweiten, indem man die Regel von Bernouilli-L'Hospital anwendet. Auch diese Vorhersage wurde in dem Experiment eindeutig bestätigt.

Referenzen:

Yildiz A. et al Science 300, 2061 (2003)

Vogelsang J et al. CHEMPHYSCHEM 11: 2475-2490 (2010)

M. Kramer (Fa Zeiss) Photonic 2: p42 (2004)

Aufgabe 20.1:

Wie sich Skelettmuskel und glatte Muskeln unterscheiden.

Einige Besonderheiten der glatten Muskulatur wurden in Kapitel 20.4.2 beschrieben. Man beachte zur Beantwortung der Frage auch Kapitel 18.6.

Zellen der glatten und der Skelettmuskeln unterscheiden sich hinsichtlich der Struktur, Funktion und Regulation fundamental.

Zur Struktur: Die glatten (engl. smooth) Muskelzellen (GMZ) sind 20-500 μm lang. Das Verhältnis Aktin: Myosin im Skelettmuskel ist 6:1, im Herzmuskel 4:1 und in den GMZ 16:1. Die Aktin Filamente sind an intrazelluläre Protein-Aggregate (sog 'dichte Körper' oder engl 'dense bodies'), sowie an Adhäsionsdomänen fixiert, welche die Zell-Zell Verbindungen vermitteln (s. Abb.20.A.1). Diese supramolekularen Komplexe spielen die die Rolle der Z-Scheiben in Skelettmuskeln. Auf der Außenseite sind diese Domänen mit Netzwerken aus Intermediärfilamenten (z.B. Desmin) verbunden.

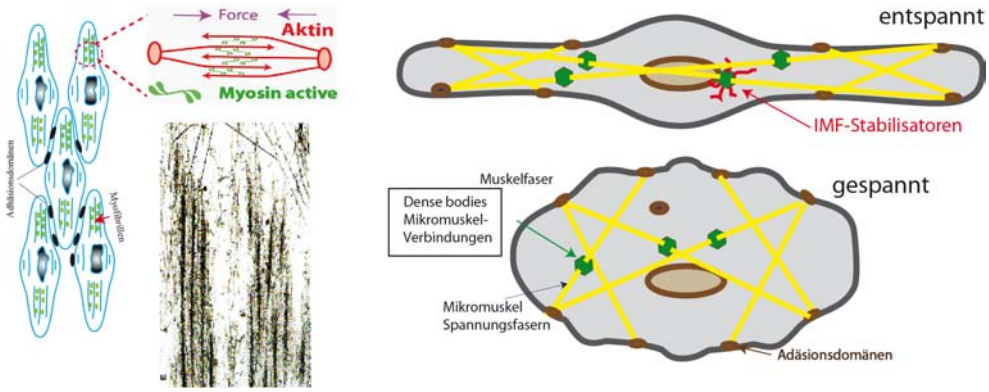


Figure 30: Abb. 20.A.1 Struktur des kontraktilen Apparates der glatten Muskelzellen. Links: Anordnung von SMZ, die durch Adhäsionsdomänen verbunden sind. Die linken Einsätze zeigen schematisch die Struktur der Mikromuskeln und eine EM-Aufnahme, welche die dicken und dünnen Filamente zeigt. Man beachte, dass die dünnen Filamente an supramolekulare Proteinkomplexe (die Dichten Körper) gebunden sind, welche die Rolle der Z-Scheiben im Sarkomeren übernehmen. Das rechte Bild zeigt schematisch die Kopplung dieser intrazellulären Sarkomere (oder Mikromuskeln) und die Kontraktion der Zellen. Die EM-Aufnahme findet man in Bond, M. et al. J Cell Biol.95, 403-423 (1982). Mehr Information zur glatten Muskelzelllen findet man in der Monographie Pollard and Earnshaw 'Cell Biology' (Elseveir Amsterdam).

Zur Funktion:

1) Der Arbeitszyklus der Aktin-Myosin II Motoren in GMZ ist wesentlich langsamer, sie erzeugen aber größere Kräfte.

2) Die Aktivierung der glatten Muskeln erfolgt ebenfalls durch Phosphorylierung der leichten Kette des Myosins (nach dem Schema in Abbildung 28.4). Sie wird zwar ebenfalls durch Erhöhung des intrazellulären Ca-Spiegels ausgelöst. Dabei fungiert jedoch Calmodulin als Aktivator der MLC-Kinase und nicht die Rho-GTPase (s.Kapitel 18.6). Die SMZ- Kontraktion wird durch Hormone und Signalmoleküle (wie das NO-Gas im Fall der die Adern umgebenden

GMZ) ausgelöst.

3) Die Empfindlichkeit der Muskeln kann langfristig über die Rho-GTPasen eingestellt werden, die über die MLC-Phosphatasen die Zahl der phosphorylierten und damit aktiven Myosine festlegt (s. Kapitel 28.7).

Ergänzung zur Rhythmik der GMZ: Die Kontrolle der glatten Muskulatur des Darmes ist ein wenig erforschtes Beispiel rhythmischer Prozess in unserem Körper. Die glatte Muskulatur des Darmes enthält eine Population zwischenräumlicher Zellen, sog. Cajal-Zellen. Dis ist ein komplexes Zellsystem, zwischen den autonomen Nerven und den glatten Muskelzellen des Darmtrakts. Sie dienen als Schrittmacherzellen der Darmkontraktion. Die Frequenzen der Rhythmik liegen bei 3 min^{-1} in Magen und 12 min^{-1} im Zwölffingerdarm.

Aufgabe 20.2:

Die Zytokinese eine Aufgabe des Aktin-Myosin Motors. Wie Tochterzellen sich trennen.

Einleitende Bemerkung: Diese Aufgabe dient dazu, sich mit dem Problem der Zellteilung auseinander zu setzen. Sie soll auch zeigen, wie mutierte Zellen Auswege finden, um mutationsbedingte Defekte auszugleichen. Tierische Zellen teilen sich durch Ausbildung der Teilungsfurche, die am Ende der Anaphase beginnt (s. Abbildung: 2.9 und 20.A.2). Sie besteht aus zwei Stufen [Glotzer (2005)]. Zuerst wird die Position der Furche festgelegt, an der in der zweiten Stufe Aktin und Myosin rekrutiert werden. Es bildet sich in der Ebene der Furche ein komplizierter supramolekularer Komplex aus rund 20 Komponenten. Dort sammeln sich auch Vesikel an, die dazu dienen, die Fläche der Membran für die Bildung der beiden Trennwände zu liefern. Bei der Entwicklung der Embryone werden die Zellen nicht getrennt, sondern sie adhärieren durch Vermittlung von Cadherinen, um die Endothelzellschichten der Embryone

zu bilden (Siehe [Urven et al 2006]). Dictyostelium-Zellen trennen sich nach der Teilung vollständig und dieser Prozess soll hier betrachtet werden.

Die Furche wird durch tangentiale Kontraktion eines ringförmigen Bands aus Aktinfilamenten gebildet, der sich spontan am Aktincortex des Äquator der Mutterzelle anlagern und, zusammen mit bipolaren Bündeln aus Myosin II, einen kontraktiles System bilden. Zahlreiche Experimente zeigen, dass die bipolaren Bündel des Myosin II die Aktinfilamente aktiv kontrahieren. Der Ring kontrahiert bis auf einen Proteinkomplex und sich überlappende Mikrotubuli und man bezeichnet den Komplex oft als Mittelkörper (s. Abb.9A.1b). Dabei handelt es sich um γ-Tubuin, einer Modifikation des α- und β-Tubulins.

Ca spielt eine wesentliche Rolle für die Kontraktion der Furche, wie Experimente mit Ca-Indikatoren zeigen. Eine Ca-Welle dringt senkrecht zur Längsachse der Doppelzelle ein (aber nicht parallel) und läuft zum Zentrum mit $v = 3\frac{\mu m}{s}$. Sie entstehen wahrscheinlich durch sukzessives Öffnen der Ca- Vesikel durch IP3 (s. Aufgabe 9.1 und G. Karp 1999,Ch 14). Wie wir aus der Aufgabe 20.1 und Kapitel 19 wissen, ist Ca zur Aktivierung der Motorköpfe durch Phosphorylierung der leichten Ketten (mittels MLC-Kinase) notwendig.

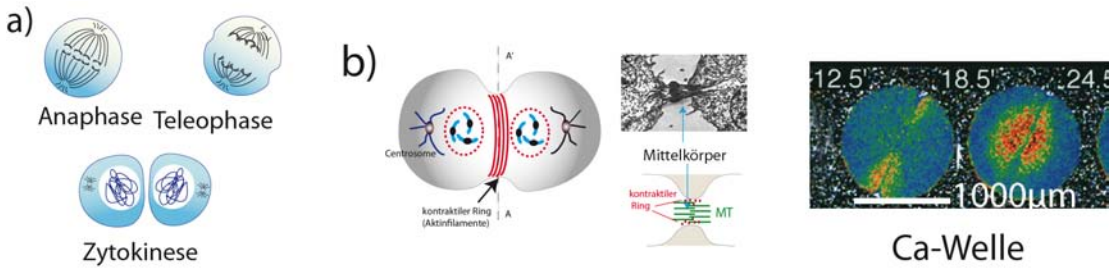


Figure 31: Abb 20.A.2) Zur Erinnerung an die letzten Phasen des Zellzyklus. b) Struktur der Zelle zu Beginn der Mitose; Das Bild zeigt die Stuktur des Mittelkörpers der u. a. aus den Mikrotubuli der Spindel und den Aktin-Myosin Motoren besteht. Das rechte Bild zeigt, dass die Kontraktion des Rings durch eine eindringend solitäre Ca-Welle vermittelt wird.

Die Kontraktion des Ringes: In zahlreichen Experimenten wurde gezeigt, dass die Kontraktion des Ringes durch die bipolaren Myosin-Motoren (oder Myosin Mikrobündel) vermittelt wird. Dies legt auch schon die oben erwähnte, zum Zentrum der Furche laufende solitäre Ca-Welle nahe. Abb. 20.A.2b zeigt ein Modell der Kontraktion. Wie im Skelettmuskel laufen die Motorköpfe zu den plus-Enden des Aktins. Zwei entgegen gerichtete Filamente (wie die im Bild 20.A.2b gezeigten) schieben sich so zusammen, dass sie maximal überlappen, während zwei gleich gerichtete nicht gegeneinander bewegt werden. Daher wird der Ring insgesamt kontrahiert, wenn die dünnen Filamente an den Aktin-Cortex gekoppelt sind.

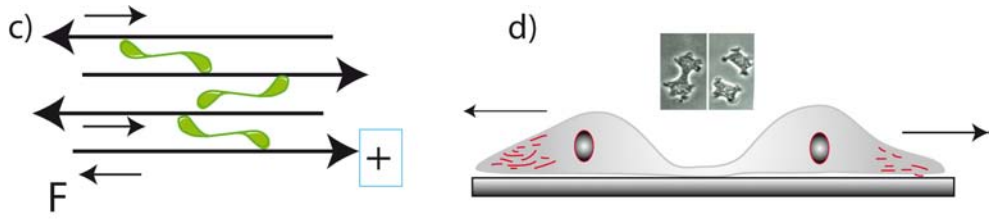


Figure 32: Abb 20.A.2b) c) Modell der Kontraktion einer Ansammlung von Aktinfilamenten, die alternierend orientiert sind. Die grünen Motorköpfe der bipolaren Myosin-Mikrobündel laufen in Richtung der plus-Enden und verschieben daher benachbarte dünnen Filamente so, dass sie versuchen, sich maximal zu überlappen. Dadurch werden die die Bündel verkürzt. d) Trennung von Mutanten der Dictyostelium Zellen ohne Myosin II durch entgegengerichtete Bewegung der Tochterzellen auf Glasssubstrat (Bild nach R. Neujahr et al J. Cell. Sci. 110,123-127 (1997))

Wie Zellen Mutationen überwinden. Inzwischen hat sich aber auch gezeigt, dass die Motorköpfe nicht unbedingt notwendig sind, um den Aktinring zu kontrahieren, sondern allein die Bindung zwischen MyosinII und Aktin ausreicht [Uehara et al 2010]. Zwei auf Oberflächen adhärierende Tochterzellen der Dictyostelien können sich auch trennen, indem sie in entgegen gesetzte Richtung laufen, wie Abb. 20.A.2b zeigt. An dem Beispiel zeigt sich wieder, dass das Verhalten der Zellen durch redundante Regulationsprozesse gesteuert wird. Dies macht die Aufklärung zellulärer Mechanismen sehr kompliziert.

Referenzen:

G. Karp 'Cell and Molecular Biology' Wiley 1999

Uehara, R. et al, Current Biology 20; 1080-1085 (2010)

R. Neujahr et al, J Cell Sci 110;123-127 (1997)

L Urven et al., Journal of Cell Science 119; 4342-4352 (2006)

M. Glotzer, Science 307;1735-1739 (2005)

Aufgabe 21.1:

Ausgangspunkt der Aufgabe ist Gl 21.1,

$\Delta\mu_p = e\Delta\Psi k_B T ln\frac{[H_o^+]}{[H_i^+]}$ (20.1)

wobei $\frac{[H_o^+]}{[H_i^+]}$ das Verhältnis der pH-Werte im Innen- und Außenraum ist. Das Membranpotential im Normalzustand der Bakterien und 25 °C sei $\Delta\Psi \approx -120mV$. Der pH-Wert des Zytoplasmas ist $pH = -log_{10}[H_i] = 7.7$. Mit $k_B T(25°) = 25meV$ wird $log\frac{[H_o^+]}{[H_i^+]} = pH_o - pH_i \approx log(e^{4.8}) = 4.8log(e) \approx 2.1$ oder $pH_o \approx 9.7$. Man beachte, dass man die Protonenkonzentration im Außenraum erniedrigen muss, um die treibende Kraft durch das Membranpotential zu kompensieren.

Aufgabe 21.2:

Einleitung: In Kapitel 21 haben wir gelernt, dass man den Wechsel von der Flagellen-Rotation im Uhrzeigersinn (ZU) zum Gegenzeigersinn (GUZ) als Übergang zwischen zwei thermodynamischen Zuständen verschiedener freien Energien beschreiben kann. Das ist erstaunlich, da wir es ja mit lebenden Systemen außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts zu tun haben. Der erste Schritt der Aufgabe besteht daher darin, die Experimente und deren Interpretation zu beschreiben, die Howard Berg und seine Arbeitsgruppe auf das Zweizustands-Modell

brachten (siehe[1]). Die Experimente wurden mit der in Abb. 21.3a gezeigten Anordnung durchgeführt. Die Bewegung wurde in Gradienten aus attraktiven Aminosäuren (z.B. L-Serin) beobachtet, wobei sich zeigte:

1. In homogenen Gradienten hoher mittlerer Konzentration C(x) bewegen sich die Zellen mit konstanter Migrations-Geschwindigkeit <v> zu hohen Konzentrationen. In Gradienten repulsiver chemotaktische Substanzen verharren die Zellen für lange Zeiten im Zustand der Taumelbewegungen, d. h die Flagellen bewegen sich im UZ. Auf molekularer Ebene bedeutet dies, dass die chemotaktischen Moleküle sehr lange an die Rezeptoren binden.

2. Liegt die mittlere Konzentration in der Nähe des Rezeptor-Liganden-Gleichgewichts, so ändern sich die Zustände zeitlich (mit einer gewissen Verzögerung im Zeitbereich von Sekunden) proportional mit $\frac{d(logC)}{dt}$. Daraus kann man schließen, dass die Zellen das Eingangssignal (=ES; d. h. die Zahl besetzter Rezeptoren) über eine gewisse Zeit integrieren.

3. Andere Beobachtungen zeigen, dass die Zellen die zeitliche Ableitung des ES verarbeiten. Diese Beobachtung weist darauf hin, dass die Zellen die Gradienten der Moleküle erfassen, um ihr Verhalten an die maximale Steigung der Gradienten anzupassen (siehe Abb.12.7a). Diese Fähigkeit zur Adaption wurde wie im Abschnitt 21.5 behandelt.

Um dieses Verhalten aufzuklären, beobachteten Block et al (1) die Rotation der (mit den Flagellen an Oberflächen fixierten) Bakterien. Betrachten wir zunächst, was wir nach der obigen Betrachtung mit einem Zweizustands-Modell erwarten. K_d sei die Dissoziationskonstante der Signalmoleküle ($K_d \approx 10^{-4}$ M). Der Bruchteil besetzter Rezeptoren ist dann:

$P = \frac{P}{C+K_d}$

Man beachte, dass P gleich dem Verhältnis der Zeit im UZ (τ_{UZ}) zur Zeit im GUZ (τ_{GUZ}) ist. Die

zeitliche Änderung der Besetzung ist daher:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{K_d}{(K_D+C)^2}\frac{dC}{dt} = \frac{CK_d}{(K_d+C)^2}\frac{dlnC}{dt}$$

Das ist das oben erwähnte Ergebnis. Der erste Bruch auf der rechten Seite hat die Form einer Glockenkurve. Gl (2) zeigt ein interessantes Ergebnis: Falls die Antwort der Zelle tatsächlich proportional zu $\frac{dP}{dt}$ ist, so folgt sie dem bekannten Weber-Fechnerschen Gesetz. Ändert man nun die Konzentration C exponentiell mit der Zeit nach $C(t) = e^{\alpha t}$, so ist $\frac{dP}{dt} = \frac{dC}{dt}$. Man erwartet also, dass beim Einschalten des Gradienten die Wahrscheinlichkeit des Zustands GUZ einen Sprung macht und dann im neuen Zustand verharrt, bis der Gradient wieder entfernt wird (s. Abb: A.21.3, links). Die Zeit, die das Bakterium braucht, um sich auf den neuen Zustand einzustellen ist ein Maß für diejenige Zeit die das Bakterium braucht, um den Gradienten zu bestimmen. Ein weiteres wichtiges Ergebnis zeigt Abb. A. 21.3 (rechts). Die Wahrscheinlichkeit des Zustands GUZ steigt linear mit der Zeitkonstanten α der Konzentrationsrampe an.

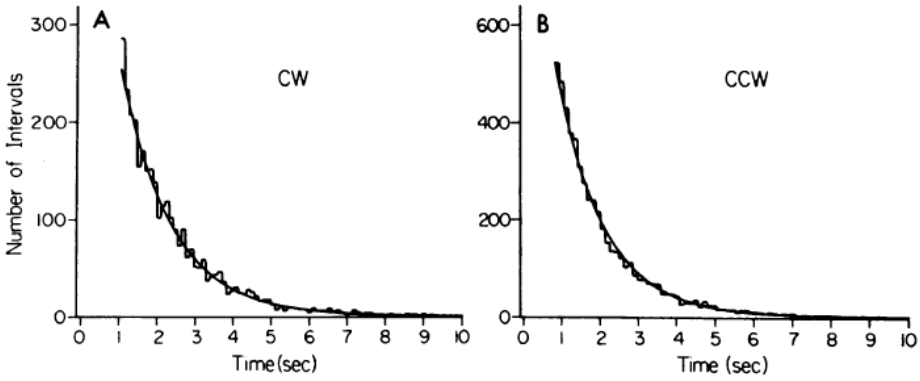


Figure 33: (Abb. 4 in Referenz [1]). Links: Typische Antwort eines E.coli Bakteriums auf eine exponentiell ansteigende Konzentrationsrampe ($\alpha = 0.015s^{-1}$). Die Rampe wurde zur Zeit t_1 ein- und zu t_2 ausgeschaltet. Rechts: Messung der Wahrscheinlichkeit des Motors im GUZ Zustand als Funktion von α

Vor den oben beschriebenen Experimenten mit den Konzentrationsrampen wurden die Verteilung der Verweilzeiten der Bakterien in den Zuständen ZU und GUZ bestimmt. Sie sind in Abb. A

21.2 dargestellt. Man sieht dass τ_{UZ} und τ_{GUZ} wieder exponentielles Verhalten zeigen. Die Verweilzeiten sind von der mittleren Konzentration C unabhängig, wie man es für ein adaptives System erwartet.

Figure 34: Verteilung der Verweilzeiten der Bakterien in den Zuständen UZ und GUZ. Die durchgezogenen Kurven sind reine Exponentialfunktionen.

Ein phänomenologisches Modell der Proportionalitätsreglers zur Adaption.

Ausgangspunkt ist die Beobachtung, dass die Bakterien zeitliche Änderungen der Konzentration und nicht diese selbst registrieren. Wir wollen nun die Frage beantworten, mit welchem Regelkreis Zellen zeitliche Änderungen von P beobachten können. Der Regelkreis muss also die zur Zeit t herrschende Besetzung der Rezeptoren mit der zur Zeit $(t - \Delta t)$ vergleichen. Ein einfacher Regelkreis der dies leistet ist der von Delbrück und Reichardt vorgeschlagene Proportionalitäts-Regler . Er basiert auf der Annahme, dass sich eine interne Variable A, auf welche die Zelle eingestellt werden soll, mit der Rate (P-A) ändert. Man bezeichnet (P-A) als Fehlersignal. In unserem Fall ist A die in Gl (1) definierte Besetzung der Rezeptoren und P die Abweichung (bei der exponentiellen Änderung der Konzentration C der chemotaktischen Moleküle). Formal lässt sich das zeitliche Verhalten des Regelkreises durch die Gleichung:

$$\frac{dA}{dt} = \frac{P-A}{\tau}$$

beschreiben, wobei t die Ansprechzeit der Regelung ist. Ist A=P so wird $\frac{dA}{dt} = 0$, d. h. das

System ist voll adaptiert. Zur Veranschaulichung nehmen wir an, die Besetzung der Rezeptoren werde mit der Rate α geändert. Die Größe A wird nach einiger Zeit auf den Wert $\alpha\tau$ einstellen. Die Zellen stellen sich also auf Änderungen ΔC ein, die in im Zeitbereich τ erfolgen.

Das Modell von Reichardt und Delbrück:

Das Modell beruht auf zwei Annahmen:

1. Die Antwort R des Reglers ist proportional zu Fehlersignal

$R = g(P - A)$ (4)

wobei g die Signalstärke festgelegt. A folgt P zeitlich verzögert gemäß:

$\frac{dA}{dt} = \frac{P-A}{\tau}$ (5)

Man erhält A durch Lösen der inhomogenen Differentialgleichung (5). Danach kann man R(t) mit Hilfe von Gl (4) berechnen. Die Lösung der Gl (5) lautet:

$$A(t) = \frac{e^{-\alpha t}}{\tau} \int_0^t P(t')e^{-\frac{t'}{\tau}} dt'$$

Einsetzen liefert:

$$R(t) = g \cdot (P(t) - \frac{1}{\tau} \int_0^t P(t')e^{-\frac{t-t'}{\tau}} dt')$$

Der erste Term ist die momentane Besetzung der Rezeptoren. Der zweite Term ist der mit einem exponentiell zerfallenden Faktor gemittelte Wert von P und die Antwort des Regelkreises ist gleich der Differenz dieser Terme.

Referenz:

[1] S. Blocket al. (1983). J of Bacteriology 154: 312-323

Die Lösung der Aufgabe:

Nach der Diskussion in der Einleitung ist das Verhältnis der Verweilzeiten im GUZ und UZ durch die freien Energien der Zustände bestimmt. Wir können also die Besetzungszahlen mit Hilfe der Boltzmann Gleichung bestimmen. Die Bruchteile der Zeit im Zustand GUZ seien $r_1 = 0.01$, $r_2 = 0.5$. Daher wird $r_1 \propto exp(-\frac{\Delta G(GUZ)-\Delta G(UZ)}{RT})$ und $r_2 = 0$. Daher erhält man für die Energiedifferenz bei 37 °C(=310 °K):

$$\frac{\Delta G(GUZ)-\Delta G(UZ)}{RT} \approx RT\,ln(50) \approx 3.9RT$$

(Zur Sicherheit berechnet man das Verhältnis $\frac{r_1}{r_2} = e^{-3.9} \approx 0.02$)

Aufgabe 21.3:

Die diffusionsfreie (martensitische) Umwandlung der Flagellen

Vorbemerkung zu difusionsfreien strukurellen Änderungen:

Strukturelle Umwandlungen in Festkörpern nennt man martensitisch, wenn sie durch kooperative Umwandlungen (z.B. Scherung) und diffusionsfrei erfolgen. Sie sind dann besonders schnell. Ein technisch sehr wichtiges Beispiel ist Herstellung von Stählen durch schnelles Abkühlen aus einer Hochtemperaturphase α (Austenit) in eine Phase γ. Die Umwandlung von einem kubisch flächenzentrierten in ein tetragonal raumzentriertes Gitter erfolgt durch eine kooperative Scherung des Gitters. Die Atome verschieben sich dabei nur um einen Bruchteil der Gitterkonstante. Im Fall der Flagellen wird die Umwandlung wahrscheinlich

durch das Umklappen einiger der Filamente der Helix bewirkt. Dabei spielen die zunächst diskutierten besonderen topologischen Eigenschaften der Helix eine wesentliche Rolle. Eine knappe aber übersichtliche Darstellung der Eigenschaften der Schraubenlinie findet man in der Formelsammlung von Bronstein und Semendjajew.

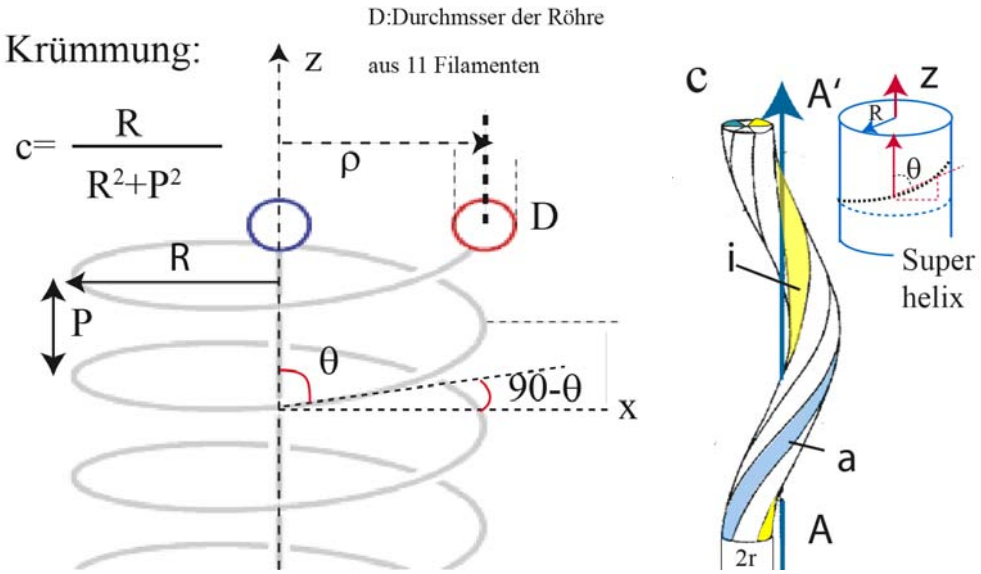


Figure 35:

Die Krümmung der Helix ist konstant (s. Abbildung). Die Konturlänge einer Ganghöhe $P = 2\pi p$ ist:

$S = 2\pi\sqrt{R^2 + p^2}$ (2)

Erinnerung an die Parameterdarstellung der Helix:

$x = R sin(\zeta)$, $y = R cos(\zeta)$, $z = \zeta t$ mit $\zeta = \frac{t}{\sqrt{R^2+P^2}}$ und $ds = dt\sqrt{R^2 + p^2}$

In Abb. 21.7 wurde gezeigt, das eines der Filament an der Innenseite und eines an der

Außenseite der durch die Protofilament gebildeten schraubenförmigen Röhre verläuft. Damit die topologischen Bedingungen der Schraubenlinie erfüllt bleiben, müssen die Konturlängen so eingestellt werden, dass sie dieselbe Ganghöhe besitzen. Um den Unterschied ΔS der Längen zu bestimmen benutzen wir Gl (2). Die Quadrate der Längen des äußeren (L_a) und inneren Filaments (L_i) sind nach Gl (2) :

$S_a^2 = (4\pi R + 2\pi D)^2 + p^2$ $S_i^2 = (4\pi R - 2\pi D)^2 + p^2$

Die Differenz ist:

$\Delta S \approx \sqrt{(2\pi R)^2 + 4\pi^2 RD + p^2} - \sqrt{(\pi R)^2 - 4\pi^2 RD + p^2} \approx \sqrt{(\pi R)^2 + P^2}((1 + 2\frac{\pi^2 RD}{(\pi R)^2 + p^2}) - (1 - 2\frac{\pi^2 RD}{(\pi R)^2 + p^2})) = \sqrt{\pi R^2 + p^2}\frac{4\pi^2 RD}{\pi R^2 + p^2}$

Damit wird die relative Längendifferenz: $\Delta s = \frac{\Delta S}{S_a + S_i} = \frac{4\pi^2 RD}{(2\pi)^2(R^2 + p^2)} = \frac{RD}{R^2 + p^2}$

Das Ergebnis stimmt mit der Gleichung 21.5 überein, mit $p = 2\pi P$ und $D = 2r$.

Aufgabe 21.4:

Messung der Drehmomente der Rotationsmotoren mittels magnetischer Pinzetten.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten zur Messung der Drehmomente: Eingesetzt wurden vor allem zwei Methoden. Erstens, Rotierende elektrischen Felder, wobei die Kraft durch Maxwell-Wagner Polarisation erzeugt [1] wird, und zweitens, rotierende optische Fallen [2]. Der Vorteil der zweiten Methode ist die Möglichkeit, bis zu hohen Frequenzen von einigen 100Hz zu messen. Die Methode wurde von G. Fuhr et al. ausführlich beschrieben.

Grundlagen der Messung: Da die Reynoldszahl der Bakterien sehr klein ist (s. Kapitel 21 und 22) wird das angelegte Drehmoment M(t) durch folgende Faktoren bestimmt: Die Reibung mit dem Reibungskoeffizient ζ_r, das rücktreibende Moment aufgrund der Torsionssteifigkeit k_t der Flagelle und die thermische Kraft $f_{th}(t)$.

$$-\zeta_r\Omega(t) = k_t\theta(t) + f_{th}(t) + M(t)$$

In der Regel kann man die thermische Kraft vernachlässigen. Wenn die Drehmomente nicht zu groß sind, kann man auch die Torsionssteifigkeit ignorieren. Um noch das unbekannte rück treibende Moment durch die Reibung zu eliminieren geht man wie folgt vor [2]: Man beobachte die Rotation des an der Oberfläche befestigten Motors und misst die Rotationsgeschwindigkeit ω_0. Dann misst man die Geschwindigkeit bei eingeschaltetem äußerem Moment M_{ex} (ω_1). Nun erhöht man die Kraft, bis der Motor im Schaft reißt und das Bakterium frei rotiert, d.h. die Geschwindigkeit ω_2 durch den Reibungskoeffizienten ζ_r bestimmt ist. Die Geschwindigkeiten vor und nach dem Brechen der Verbindung zwischen Stator und Rotator sind gegeben durch:

$$\omega_1 = \frac{M_B(\omega_1)}{2\pi\zeta_r} \text{ und } \omega_2 = \frac{M_{ex}+M_B}{2\pi\zeta_r}$$

Nun bestimmt man die Differenz $\omega_2 - \omega_1$ und bildet das Verhältnis:

$$\frac{\omega_2-\omega_1}{\omega_1} = \frac{M_B(\omega_1)}{M_B(\omega_2)}$$

$\omega_2 - \omega_1$ ist proportional zum Moment des Motors bei der Geschwindigkeit ω_2 Durch Division mit ω_1 eliminiert man die unbekannte Reibung [2].

Messung mit magnetischen Pinzetten unter Benutzung super-paramagnetischer Kolloide:

Man benötigt dabei zylindrische Gebilde, um beim Einschalten des Magnetfeldes ein anisotropes

magnetisches Moment zu erzeugen. Im rotierenden Magnetfeld dreht sich der Zylinder.

(1) S. Block et al. Nature 338; 514-518

(2) H. Berg and L. Turner (1993) Biophys, J 65: 2201-2215

(3) G Fuhr, R Glaser, and R Hagedorn (1986) Biophys J. February; 49: 395-402

Aufgabe 24.1:

Das statistische Knäul (engl. freely joined chain).

Die Voraussetzungen zur Bildung des statistische Knäuls (oft auch Gauß'sche Kette genannt) sind: (i) die Segmente der molekularen Kette dürfen sich durchdringen. (ii) Benachbarte Segmente können beliebig zueinander orientiert sein. (iii) In Analogie zum idealen Gas darf die freie Energie der Kette nicht vom Volumen, sondern nur von der Temperatur abhängen. Man kann jede Konfiguration einer idealen Kette der Länge N als einen Irrflug von N Schritten auf einem Gitter der Gitterkonstante a darstellen (s. Abb.24.3). Der quadratische Mittelwert des End-zu-End Abstands $< \vec{L}^2 >$ wird dann:

$$< \vec{L}^2 >=< (\sum_i \vec{l_i}^2)^2 >=< \sum_i \vec{l}^2 > + < \sum_{i \neq j} \vec{l_i}\vec{l_j} >$$

Dabei ist $< \vec{l_i}^2 >$ der Vektor des Segments i und $< ... >$ der Mittelwert über alle Orientierungen. Da zwischen den Orientierungen der Segmente keinerlei Korrelation besteht, wird der zweite Term auf der rechten Seite null und es folgt schließlich das bekannte Gesetz:

$$< \vec{L}^2 >= Nl^2$$

Nach einem klassischen Theorem von Lagrange ist der quadratische Mittelwert des Gyrationsra-

dius:

$R_g^2 = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^{K=N} (\vec{r_k} - < r >)^2$.
Für ein d-dimensionales Gitter wird $R_g^2 = \frac{1}{2d} < \vec{L}^2 >$ und für die Polymere $R_g^2 = \frac{1}{6} < \vec{L}^2 >$

Wie im Text erwähnt, gilt das Gesetz $< \vec{L}^2 >= Nl^2$ auch für den realistischen Fall, dass die gegenseitige Rotation benachbarter Segmente nicht ganz frei ist (obwohl die Segmente sich immer noch durchdringen können. Es gilt das berühmte Gesetz von Kuhn (siehe J. M. Ziman 'Models of Disorder ' Cambridge University Press Cambridge 1979): $< L^2 >= C_\alpha N a^2$. Dies bedeutet, dass man jedes Knäul durch ein äquivalentes Knäul aus $N' = \frac{N}{C_\alpha}$ und $a' = aC_\alpha$ ersetzen kann.

Dabei ist $C_\alpha = \frac{1+<cos(\theta)>}{1-<cos(\theta)>}$

Eine einfache Ableitung dieser Gleichung findet man in der Monographie von Doi und Edwards. Sie basiert auf der Annahme, dass sich die Winkel zwischen benachbarten Segmenten nur zwischen null und einem maximalem Wert Θ frei beweglich sind. Dann gilt für zwei benachbarte Segmente im Mittel $\vec{r_{n-1}} = \vec{r_n} cos(\Theta)$.

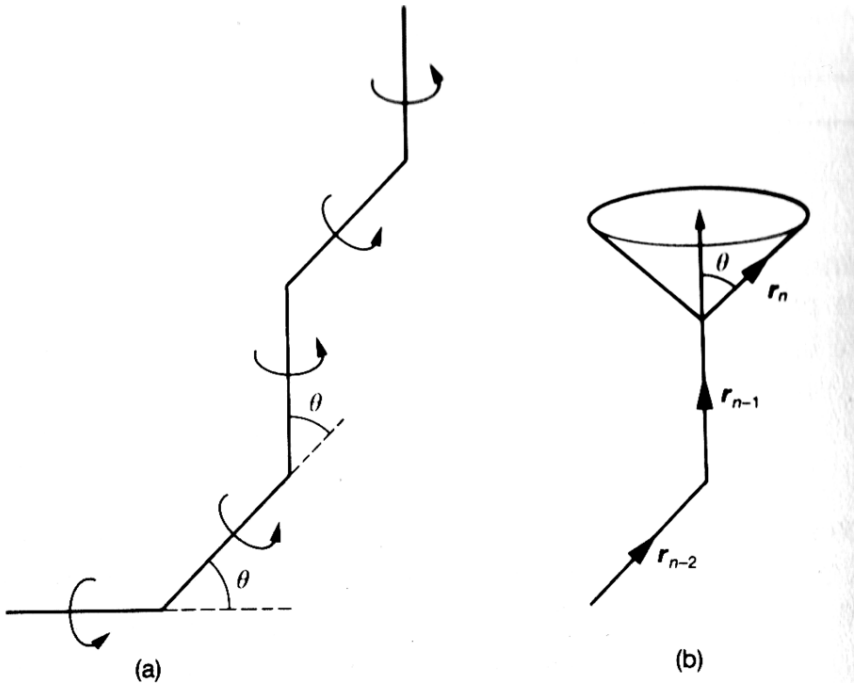


Figure 36: Beispiel von frei rotierbaren (freely rotating) Ketten mit Einschränkung der Winkel zwischen benachbarten Segmenten

Aufgabe 24.2:

Zur Lösung der Aufgabe benutzen wir Gl 24.2 für die Normalverteilung P(L) der Abstände L der Segmente des statistischen Knäuls (in drei Dimensionen):

$P(L) = (\frac{3}{2\pi<L^2>})^{\frac{3}{2}} \cdot e^{-\frac{3}{2}\frac{L^2}{<L^2>}}$ (24.2)

L ($= \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$) ist der Abstand vom Ursprung des Koordinatensystems. Das mittlere Abstandsquadrat vom Ursprung L=0 ist dann $< L^2 >= \int_0^\infty L^2 P(L) dL$. Dies ist die Varianz der dreidimensionalen Verteilung. Die Varianz der eindimensionalen Normalverteilung ist:

$var(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} x^2 e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}} dx = \sigma^2$

In unserem Fall ist $\sigma^2 = \frac{<L^2>}{3}$. Da die Varianz aller drei Variablen x, y, z gebildet werden muss, folgt $\sigma^2 =< L^2 >= na^2$.

Aufgabe 24.3:

Beweis der Beziehung 24.17 zwischen dem Flory Parameter χ und dem Parameter ν des ausgeschlossenen Volumens:

$\nu = \frac{1}{2}a^3(1 - 2\chi)$ (24.17)

Lösung:Nach Gl 24.6 ist die lokale Energiedichte von der Form

$w_{mn} = \nu k_B T c_m^2$ (24. 6)

Für die freie Energie gilt die Virialentwicklung der Polymerlösung:

$\Delta G_{mix} = N_0 k_B T(\frac{\phi_m}{N} ln\phi_m + \frac{\phi_m}{2}(1 - 2\chi))$

Wir müssen nun den zweiten Term der Virialentwicklung mit Gl 24.6 vergleichen, da nur diese durch die Paarwechselwirkung bestimmt sind. Da rechts eine Energiedichte steht, müssen wir die linke Seite durch a^3 dividieren. Dabei gilt nach dem Gittermodell $c_m = \frac{1}{a^3}\frac{N_m}{N_m+N_l} = \frac{\phi_m}{a^3}$.

$N_0\frac{\phi_m^2}{2a^3}(1 - 2\chi) = \nu c_m^2 = \nu N_0\frac{\phi_m}{a^6}$ Damit ist die Beziehung 24.17 bewiesen.

Aufgabe 24.4:

Physik der Spinodalen Entmischung (spinodal decomposition):

Gibbs hat erstmals darauf hingewiesen, dass es zwei Mechanismen der Entmischung gibt. Die erste läuft über die Keimbildung und das Wachstum der kleinen Ausscheidungen (auch Oswald Reifung genannt). Die zweite wird durch Bildung von Konzentrationsfluktuationen eingeleitet, die anwachsen bis die zwei Phasen getrennt sind. Erstere nennt man in der Metallurgie heterogene und letztere homogene oder spinodale Entmischung. Man kann sich leicht vorstellen, dass die homogene Entmischung nur in Systemen mit Mischungslücken (und zwar im Bereich der Spinodalen auftritt, da dann nach Kapitel 12A beide Phasen dieselbe Symmetrie besitzen. Daher beobachtet man die homogene Entmischung vorwiegend in Gläsern, Polymeren und Membranen. Obwohl das Konzept der homogenen Entmischung schon über 100 Jahre alt ist wurde es erst 1968 von J.W Cahn [1] wieder entdeckt und hat die Metallurgie revolutioniert.

Der interessanteste Aspekt der spinodalen Entmischung ist der Zerfall einer homogenen Mischung in Phasen verschiedener Zusammensetzung durch Diffusion entgegen von Konzentrationsgradienten (auch Bergauf-Diffusion genannt). Die Diffusionskoeffizienten D in Mischungen können daher negativ werden. Eine andere wichtige Konsequenz ist die Retardierung (slowing down) der Entmischung durch die damit verbundenen Deformation der Materialien [3]. Auf die Bedeutung der spinodalen Entmischung in Membranen [3] werden wir am Ende kommen.

Um zu sehen, unter welchen Bedingungen D negativ werden kann, erinnern wir uns an die Ableitung der Diffusionsgleichung aus der Kontinuitätsgleichung und an den allgemeinen Zusammenhang zwischen dem Teilchenstrom $\vec{j}$, dem chemischem Potential μ und der Beweglichkeit u eines Moleküls. Wir können dabei Gl 14.4 im Kapitel 14 ausgehen:

$\frac{\partial c}{\partial t} + div\vec{j} = 0$; $\vec{j} = -u_i \cdot grad(\mu)$; $u = \frac{D}{k_B T}$

Wir müssen nur beachten, dass in Kapitel 14 'μ' die freie Energie eines geladenen Teilchen im elektrischen Feld war, während hier 'μ' die Energiedichte der Teilchensorte i ist.

$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{D}{k_B T} div_x \frac{\partial \mu}{\partial x}$.

Wir können nun $\frac{\partial \mu}{\partial x} = \frac{\partial \mu}{\partial c}\frac{\partial c}{\partial x}$ schreiben und erhalten $\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{D}{k_B T}\frac{\partial \mu}{\partial c}\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} = -D^* \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$

Dies ist die bekannte Diffusionsgleichung mit dem effektiven Diffusionskoeffizienten D*. Dieser hängt also über $\frac{\partial \mu}{\partial x}$ von der Konzentration c(x) des chemischen Potentials ab. Betrachten wir nun die Situation einer Mischungslücke (Kapitel 12 A, Abb. 13). Im Bereich der Spinodalen gilt:

$\frac{\partial \mu}{\partial c} = \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}$ (2)

Der Diffusionskoeffizient wird also negativ. Wenn nun im Bereich der Spinodalen eine kleine Fluktuation der Konzentration auftritt, so zerfällt diese nicht durch Diffusion, wie außerhalb der Spinodalen (d.h. im Bereich der Binodalen), sondern sie wächst exponentiell an.

Die spinodale Entmischung hat viele interessante Konsequenzen, die wir hier nur erwähnen wollen. Dazu zerlegen wir die Konzentrationsfluktuationen in Fouriermoden:

$c(x,t) = \sum_q c_q e^{iqx - R(t)}$

Setzt man c(x, t) in Gl.(2) ein, so erhält man für die zeitliche Abhängigkeit der Konzentrationsfluktuation:

$\delta c(x,t) = c(x,t) - c_0 = C_q e^{iqx - D^* q^2}$

1. Man erkennt leicht: für D*>0 zerfallen die Fluktuationen exponential, während sie für D*<0 anwachsen, und zwar umso schneller, je kleiner die Wellenlänge $\Lambda = \frac{2\pi}{q}$ ist.

2. Man kann unter Anwendung der Landau Theorie der Mischungen die Geschwindigkeit des

Wachstums mit deren thermodynamischen Eigenschaften korrelieren. In dem Handbuchartikel [2] wurde dies für Membranen aus Lipid-Legierungen dargestellt.

3. Da die Struktur der bei der Entmischung entstehenden neuen Phasen geändert wird, treten mechanische Spannungen im Material auf. Die Kinetik der Ausscheidung kann dadurch erheblich verlangsamt werden, wie in [2] gezeigt.

4. Spinodale Entmischungen treten besonders in Polymeren und Lipidmembranen (Vesikel und Monoschichten auf Wasser) auf und führen häufig zu wellenartigen Verteilungen der Komponenten. Ein Beispiel sind die in Kapitel 12 erwähnten und in Abb.[1] gezeigten Membranen aus Sphingomyelin, Dioleoylphosphatidylcholine und Cholesterol, die in die fluiden Phasen α und α_c zerfallen. Im Falle der Vesikel sind diese Auscheidungen mit lokalen Variationen der Krümmung verbunden, da jede Komponenten eine eigene spontane Krümmung besitzt. Auch in monomolekularen Filmen aus Phopsholipiden und Cholesterol treten häufig durch spinodale Entmsichung entstandene Muster auf, wie Abb.1c zeigt.

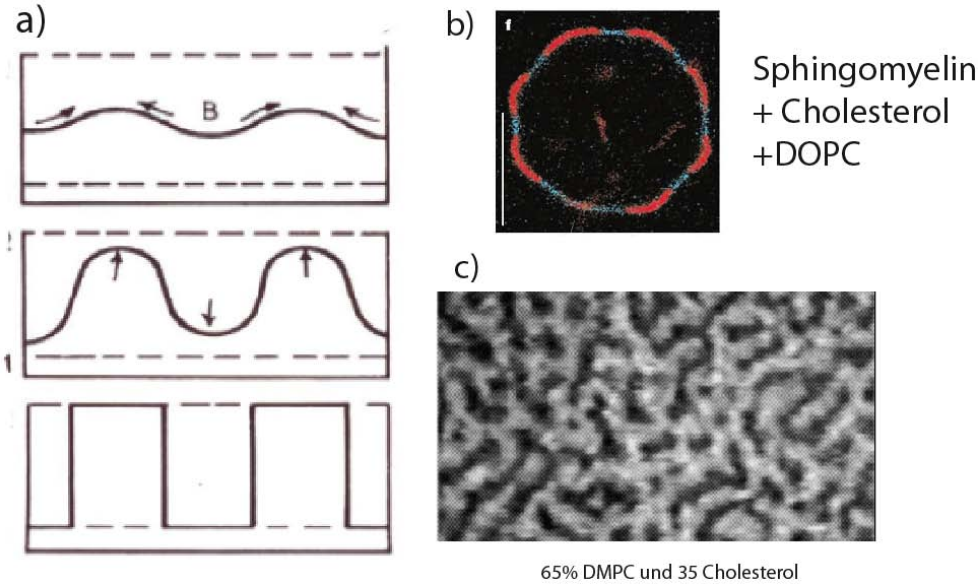


Figure 37: a) Schematische Darstellung der Konzentrationswellen als Funktion der Zeit. Nur die oberste Konzentrationsverteilung kann mit der Theorie der spinodalen Entmischung ohne aufwendige Simulationen berechnet werden. b) Bild eines Vesikels aus Sphingomyelin, Cholesterol und DOPC aus der Arbeit von T. Baumgart et al [3] (s. Erklärung im Text). c) Entstehung von Konzentratisonwellen in Monoschichten aus 65:35 DMPC-Cholesterol-Mischungen. [Die Abb. 1b darf nur in Übungen gezeigt werden]

Zusatzfrage:

Wie wir in Kapitel 12A gesehen haben, geht die zweite Ableitung der freien Enthalpie $\frac{\partial^2 G}{\partial c^2}$ bei Annäherung an den kritischen Punkt gegen null, d. h. die Entmischung wird drastisch verlangsamt.

Praktische Grenzen der Anwendung:

Die Theorie der spinodalen Entmischung kann nur die Anfangsphase des Prozesses beschreiben, solange $\delta c(x,t)$ klein ist und die Übergänge zwischen den Phasen weich sind (s. Abb. 1.c). Man sollte auch beachten, dass es sich um ein Modell handelt. Es ist nicht einfach zwischen Entmis-

chung durch Keimbildung und spinodale Entmischung zu unterscheiden. Die spätere Phase des Prozesses (s. untere zwei Spuren der Abb.1a) kann nur durch das Konzept der Oswald-Reifung beschrieben werden. Diese beruht auf der Reduktion der Grenzflächenspannung zwischen zwei Phasen. Da diese in der Regel positiv ist, wachsen die großen Ausscheidungen auf Kosten der kleinen. Die Situation ist analog zum Verschmelzen von Wassertröpfchen, denn das chemische Potential der Grenzflächenspannung ist durch den Laplace-Druck der (kugelförmigen) Ausscheidungen bestimmt: $\Pi = \frac{2\sigma}{r}$. Kleine Tröpfchen haben also ein höheres chemisches Potential als große und es ist energetisch günstig, wenn die großen Keime auf Kosten der kleinen wachsen. Es gilt das berühmte Gesetz von Lifshitz und Wagner:

$r^3 - r_0^3 = \frac{2\sigma v_{mol}^2 D c_0}{k_B T}$ (4)

wobei v_{mol} das Molvolumen der Moleküle und r_o der Anfangsradius ist. Eine ausführliche Darstellung der komplizierten Theorie findet der interessierte Leser in [4].

Da der Radius der Ausscheidungen mit der dritten Wurzel der Zeit ansteigt, wachsen die Keime sehr langsam. Da in Zellen die Membranen durch Endozytose und Exocytose im Zeitbereich von Minuten erneuert werden, spielen Prozesse der Oswaldreifung wahrscheinlich keine große Rolle.

Referenzen:

(1) J.W. Cahn Trans AIME 242: 166 (1968)

(2) E. Sackmann 'Physics of Vesicles' Handbuch der Biologischen Physik Vol I, Chapter V. Elsevier Amsterdam 1995

(3) Baumgart, T, Hess, ST., Webb, WW. Nature 425 2003

(4) Landau- und Lifshitz, Lehrbuch der Theoretischen Physik Bd. X, S. 462ff

Aufgabe 24.5:

Der osmotische Druck hochverdünnter Polymerlösungen.

Zur Lösung der Aufgabe gehen wir von Gl.(24.19) aus.

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

Wir haben im Haupttext gezeigt, dass der osmotische Druck halbverdünnter Lösungen durch den zweiten Virialterm bestimmt ist. Im Gegensatz dazu bestimmt der erste Term den osmotischen Druck hoch verdünnter Lösungen (s. Abb. 24.2a). Beachten wir nun, dass die Teilchendichte der Monomere n_M (Polymere, n_P) gegeben ist durch:

$n_M \approx \frac{N_m}{N_m+N_l}a^3 = \phi_m a^3$ (und $n_P = \frac{n_M}{N}$)
so folgt (wegen $\rho = \frac{N_A n_P}{MG}$):
$\Pi = \frac{RT}{MG}\rho_P$

, wobei MG das Molekulargewicht und N_A die Avogadrozahl ist.

Die Messung des osmotischen Drucks sehr verdünnter Lösungen ist eine der ältesten und einfachsten Methoden zur Messung der Molekulargewichte der Makromoleküle. Man muss dazu nur die Massendichte der gelösten Substanz kennen.

Eine Ergänzung:

Das klassische Gesetz des osmotischen Drucks wurde auf der Basis der van der Waals Theorie abgeleitet. Diese mittlere Feldtheorie gilt nur, wenn Dichteschwankungen vernachlässigbar sind. Dies gilt nicht für halbverdünnte Lösungen (Abb. 24.2c), die besonders starke Fluktuationen

aufweisen. Durch Anwendung der Skalengesetze der Polymere lässt sich zeigen, dass anstatt Gl. 24.19 der osmotische Druck die Form

$$\Pi = \frac{k_B T}{a^3} \phi_m^{\frac{9}{4}}$$

hat (s. P. de Gennes 'Scaling Concepts of Polymer Physics' Chapter. III.2.2. Cornell University Press Ithaca 1979).

Aufgabe 24.6:

Umrechnung zwischen Volumenbruch und Molenbruch.

Dies ist eine prinzipiell einfache Aufgabe. Sie dient dazu, sich an die verschiedenen Darstellungen der Konzentrationen der Mischungen zu gewöhnen. Der Molenbruch x_i ist ein gutes Maß für den Anteil der gelösten Moleküle, falls deren Molvolumina v_i in etwa gleich dem des Lösungsmittels (v_l) sind. Für große Moleküle, wie Polymere oder Proteine werden die Werte der Molenbrüche der Monomere unhandlich klein. Das Molvolumen eines Makromoleküls aus m Monomeren ist $v_p = Nmv_i$. Mit $x_m = 0.02$

$$\phi_i = \frac{Nm_i v_i}{Nm_i v_i + n_i v_i} = \frac{v_p}{V} \approx \frac{Nx_m}{1+Nx_m} \approx \frac{20}{21}$$

Betrachten wir als weiteres Beispiel ein Polymerknäul mit N=1000 Monomeren und nehmen an, es befinde sich in einem guten Lösungsmittel. Für diese gilt das Flory-Modell. Nach diesem ist das Volumen eines Knäuls. Dann erhält man für der Volumbruch der Monomere im Knäul:

$$\phi_i = \frac{Na^3}{Na^3 + V_{Flory}} \approx \frac{N}{N+N^{\frac{9}{5}}} \approx \frac{1}{24}$$

Zusatzaufgabe: Dampfdruck p_i über polymeren Lösungen. Der Zusammenhang zwischen dem Dampfdruck über einer Lösung und der Konzentration c_i des gelösten Stoffes ist durch das

Gesetz von Henry (Henry's law) bestimmt:

$$p_i = k_H c_i$$

Dabei ist die Henry-Konstante k_H für jedes gelöste Gas verschieden. Für verdünnte Lösungen kann man die Konzentration durch den Molenbruch x_i ersetzen. Für diese Situation benutzt man meist das Gesetz von Raoult (Raoult's law):

$$p_i = p_0 a_i$$

wobei p_0 der Dampfdruck über dem reinen Lösungsmittel ist und a_i der Aktivitätskoeffizient. Aufgrund der Definition der Aktivität gilt allgemein:

$$p_i = p_0 e^{\frac{\mu_1 - \mu_0}{k_B T}}$$

Die relative Luftfeuchtigkeit ist gleich der in Luft enthaltene Wassermenge dividiert durch die Wassermenge bei Sättigung der Luft mit Wasserdampf. Sie wird in Prozent angegeben. Die relative Luftfeuchtigkeit ist auch gleich dem Verhältnis des Partialdrucks über der Lösung zum Partialdruck im Zustand der Sättigung. Sie ist eine Funktion der Temperatur. Das folgt aus dem Gesetz für ideale Gase: $p = \frac{nRT}{V} \approx RTc$

Aufgabe 25.1:

Wie Makromoleküle sich durch Polymernetzwerke schlängeln

Die Idee der Reptation kommt aus der Physik flexibler Polymernetzwerke. Der Begriff charakterisiert die schlangenartige Bewegung einzelner Polymere durch das Netzwerk. Man kann diese Bewegung beobachten, indem man fluoreszierende Filamente einbaut oder kolloidale Goldpartikel an die Filament andockt (z. B. über Biotin-Streptavidin, [1]). Wie Abb. 25.1 zeigt, erlauben die umgebenden Makromoleküle nur eine diffusive Bewegung in Richtung

der lokalen Achse der Filamente. Aus diesem Grund kann man deren Einfluß durch eine Röhre (die sog. Reptationsröhre) beschreiben. Einzelne Filamente bewegen sich in der Röhre durch eindimensionale Diffusion hin und her, wobei sie aus den beiden Enden der Röhren hervorragen und auf diese Weise ihre Richtung ändern können [2]. Die Diffusion wird durch die thermische Bewegung der umgebenden Polymere angetrieben, die fluktuierende Scherkräfte auf das Reporterfilament ausüben [1].

In Abb 25.1 wurde gezeigt, wie man den Diffusionskoeffizienten der Reptation D_r durch Messung des mittleren Verschiebungsquadrats in Richtung der Röhrenachse messen kann, wobei man an ein Segment der Kette ein Goldpartikel mit 800 nm Durchmesser andockt. Der Vorteil der Methode gegenüber der Fluoreszenzmethode besteht darin, dass man Messungen über Stunden durchführen kann. Ein weiterer Vorteil ist, dass man durch Verwendung von super-paramagnetischen Partikel Kräfte in Richtung senkrecht und parallel zur Längsachse anlegen kann, um lokale viskoelastische Module zu messen. Die Methode wurde in [3] beschrieben.

Aufgabe 1: Die Reptationszeit τ_r ist die Zeit, die ein Filament der Länge braucht, um sich aus der momentanen Reptationsröhre zu befreien. Nach der Einsteinbeziehung ist diese: $\tau_r = \frac{L^2}{2D_r}$. D_r ist jedoch von der Länge L abhängig, da der Diffusionskoeffizient vom Reibungskoeffizienten ζ des Filaments abhängt

$D_r = \frac{k_B T}{\zeta}$

Andererseits nimmt ζ mit der Filamentlänge (oder der Zahl N der Segmente flexibler Ketten) zu $\zeta = \alpha L$. Daher wird:

$\tau_r = \frac{\alpha}{k_B T} \frac{L^3}{2}$

Der interessierte Leser findet die genaue Beziehung zwischen ζ und L für semiflexible Polymere in Referenz [3] und der dort angegebenen Literatur. Die Reptationszeit spielt eine wichtige Rolle für die terminale Relaxationszeit der viskoelastischen Impedanz, die im Kapitel 26 eingeführt

wurde.

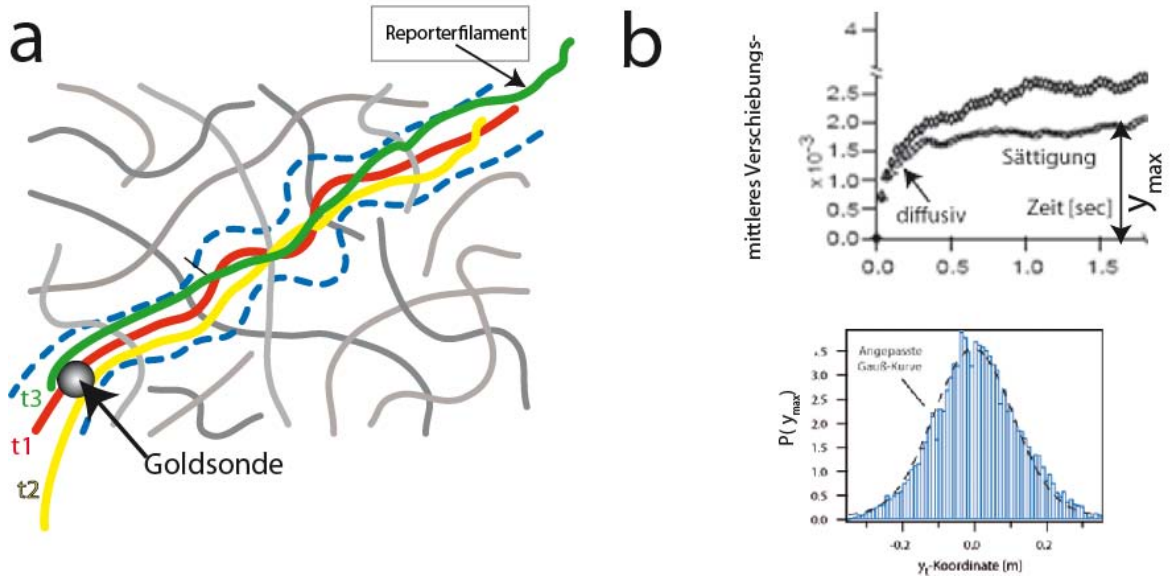


Figure 38: Abb 1: a) Illustration der eindimensionalen Diffusion semiflexibler Makromoleküle in der 'Reptationsröhre', welche die Bewegungsfreiheit des Moleküls in dem verschlungenen Netzwerk charakterisiert. b) Oben: Zwei Messungen des mittleren mittleren Verschiebungsquadrats (engl. mean square displacement =MSD): $< |y(t) - y(0)|^2 >$. Verteilung des Sättigungswerts y_{max} der Auslenkung in Richtung senkrecht zur Längsachse der Röhre

Aufgabe 2: Abb. 1b zeigt, dass das das mittleren Verschiebungsquadrate senkrecht zur lokalen Achse des Filaments sättigt. Aus vielen Messungen des Sättigungswertes y_{max} erhält man die Verteilung $P(y_{max})$. Wie Abb. 1b zeigt, ist $P(y_{max})$ normalverteilt. Da die maximalen Auslenkungen durch die rücktreibende Kraft aufgrund der thermischen Bewegung der Makromoleküle bestimmt ist, können wir mit gutem Gewissen annehmen, dass $P(y_{max})$ durch eine Boltzmann-Verteilung bestimmt ist:

$$P(y_{max}) = exp[-\frac{V(y_0 - y)}{k_B T}]$$

Da $P(y_{max})$ normalverteilt ist, wird das Potential V harmonisch: $V = V_o(y - y_0)^2$, Die Kraft auf das Testfilament ist also gegeben durch $f \approx 2V_0(y - y_0)$. Die Messungen in [1] (für

ein Aktinnetzwerk mit der Maschenweite $\eta = 0.5\mu m$) zeigen, dass die Kraftkonstante des Potentials ($k = 2V_0$) zwischen 10^{-8} und $10^{-7}\frac{J}{m^2}$ variiert. Dies zeigt, dass der Durchmesser der Reptationsröhre entlang des Filaments stark variiert, das Netzwerk also nicht ideal homogen ist. Wir erhalten für die Abstoßungskraft (auf die Kraftsonde) $f \approx 10^{-13}\eta \approx 5 \cdot 10^{-14}N$. Die durch thermische Fluktuationen erzeugte Kräfte sind von derselben Größenordnung $f_{th} \propto \frac{k_B T}{100nm} \approx 4 \cdot 10^{-14}N$.

Referenzen:

1 Dichtl, M., Sackmann, E. (1999) New Journal of Physics 1: 18.1- 18.11.

2 P de Gennes 'Scaling law of polymer physics' Cornell University Press 1979

3 Doi, M., Edwards, SF. The theory of polymer dynamics. Clarendon Press Oxford 1986.

Aufgabe 25.2:

Zum Auflösungsvermögen der Ultramikroskopie mit kolloidalen Gold-Sonden.

Die um 1920 von R.A. Zsigmondy (Nobelpreis 1925) entwickelte Ultramikroskopie war die erste Methode zur Untersuchung von Nanostrukturen und spielte für die Entwicklung der Kolloidforschung eine zentrale Rolle. Die Beobachtung der Nanopartikel (Durchmesser von 10 bis 30 nm) erfolgt durch Registrierung der Beugungsbilder. Im klassischen Ultramikroskop werden die Objekte von der Seite (d.h. senkrecht zur optischen Achse) beleuchtet, während man heute konfokale Mikroskope einsetzt und die Signale mit CCD-Kameras registriert. Dadurch sind Zeitauflösungen von 10 ms möglich.

In der Biophysik benutzt man die Methode der Partikelverfolgung zur Untersuchung des intrazellulären Transports von kolloidalen Sonden oder Endosomen, zur Messung der viskoelastischen Impedanzspektren in Aktinnetzwerken (Kapitel 26 und [10]) und Zellen oder zur

Messung der Lateraldiffusion in Membranen (Kapitel 10).

In Analogie zu der Methode der Nano-Fluoreszenzmikroskopie kann man die Position kolloidaler Sonden in der Bildebene mit einer Genauigkeit von ±2.5 nm bestimmen. Man macht dabei von der Tatsache Gebrauch, dass die Intensitätsverteilung des Beugungsbildes (die Punktverteilungsfunktion) der Sonde durch die bekannte Airy Funktion bestimmt ist und dass diese im Bereich des Hauptmaximums, mit guter Näherung durch eine Gaußfunktion angenähert werden kann. Dadurch kann man die durch die endliche Größe der Pixel der Kamera bestimmte Auflösung erhöhen.

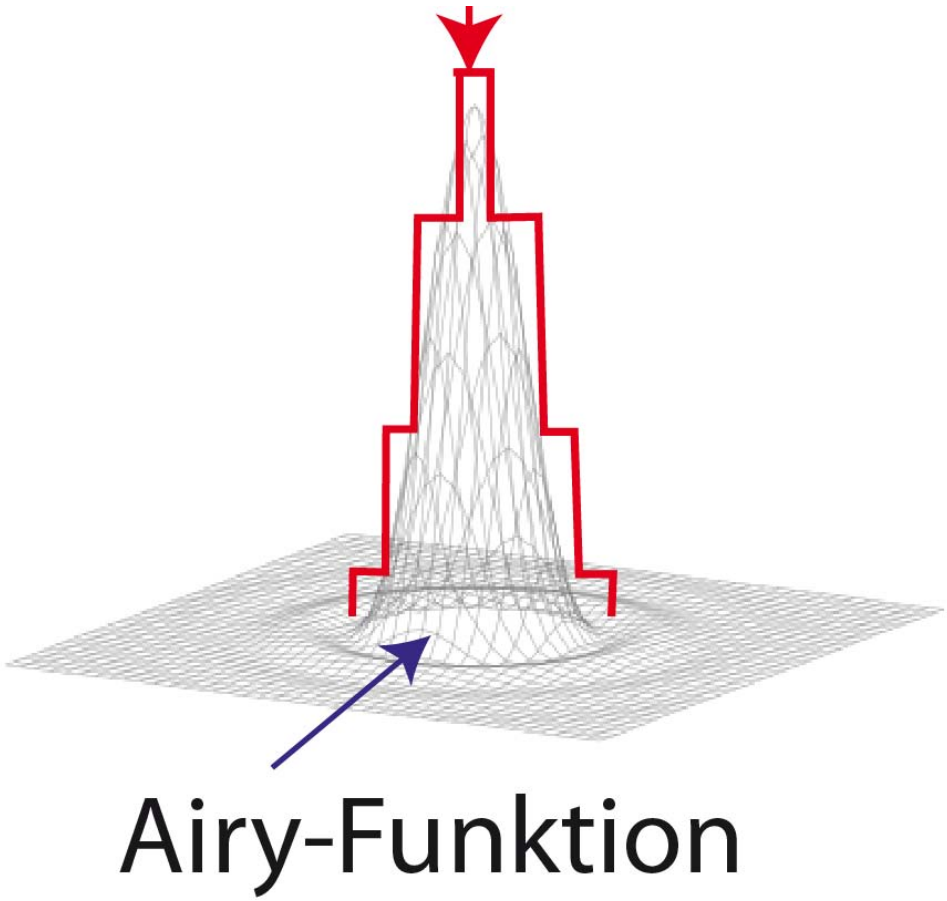


Figure 39: Abb. 1:a) 3D Darstellung des Beugungsbildes eines sphärischen Nanopartikels (oft als Airy-Scheibchen - engl Airy disc- bezeichnet). Die rote Stufenpyramide zeigt symbolisch die mit der CCD-Kamera beobachtete Intensitäts-Verteilung aufgrund der endlichen Pixel-Größe.

Man kann die stufenförmige Verteilung glätten; beispielsweise durch Integration und Anpassung der entstehenden Kurve an das entstehende Fehlerintegral. Der Vorteil der kolloidalen Sondentechnik ist eine hohe Zeitauflösung.

Zusatzfrage: Weshalb benutzt man Goldpartikel als Sonden?

Der Grund liegt in dem hohen Streuquerschnitt der Partikel. Falls der Durchmesser d klein gegen die Wellenlänge λ ist ($d << \lambda$) kann ist die gestreute Intensität durch die Rayleigh-Theorie bestimmt. Der Streuquerschnitt der Partikel ist von der Form:

$I \propto (\frac{2\pi}{\lambda})^4(\frac{n^2-1}{n^2+2})^2 d^3 \propto (\frac{2\pi}{\lambda})^4(\frac{\alpha}{\epsilon_0})^2$

Dabei ist ϵ die Polarisiserbarkeit nach der Clausius Masotti Gleichung $\alpha \propto d^3 \frac{\epsilon-\epsilon_m}{\epsilon+2\epsilon_m}$, ϵ die Dielektrizitätskonstante von Gold und ϵ_m die von Wasser ($\epsilon_m = n^2$). Der Brechungsindex von Gold ist komplex $n = n + i\kappa$ und die Werte sind (für 600 nm) $n \approx 0.2$ und $\kappa \approx 3.7$, d.h. $n \approx 2$. Für Glaskugeln wäre $n \approx 1.4$.

Bei Durchmessern $d \approx \lambda$ wird die Situation sehr kompliziert. Da die elektromagnetische Welle Oberflächen-Plasmonen der elektrisch leitenden Kugel anregt werden, werden die Amplitudemverteilungender gestreuten Welle sehr kompliziert und man muss die Mie-Streuung betrachten.

Referenzen:

1 D. Arcizet, et al. (2008) Temporal Analysis of Active and Passive Transport in Living CellsPhys. Rev. Lett. 101, 248103.

2 J.C. Crockeret al. (2000) Two -point microrheology of inhomogeneous soft material. Phys. Rev. Letters 85: 888-892.

3 F. Ziemann, J. Rädler and E. Sackmann (1994) Local measurements of viscoelastic moduli of

entagled actin networks using an oscillating magnetic bead micro-rheometer. Biophys. J. 66: 2210-2216.
4 Bergmann Schaefer 'Lehrbuch der Experimentalphysik', de Gruyter 1978

Aufgabe 25.3:

Anwendung von Polymerfilmen. Schutzfunktion der Glykokalix der Zellen. Reibungsminderung durch Polymerfilme: ein Trick der Delphine

Einleitung in Physik von Polymerfilmen.

Die Natur benutzt Polymere in vielfältiger Weise. Die Glykoproteine und Glykolipide der Glykokalix schützen Zellen vor dem Eindringen von Viren oder anderen pathogenen Substanzen (s. Kapitel 9). Konzentrierte Lösungen aus Polyelektrolyten wie Hyaluronsäure (HA) und Proteoglykane (s. Kapitel 23) dienen zur Minderung der Reibung zwischen Gelenken, (s. Abb. 4a). Die Knochen der Gelenke sind mit Knorpelgewebe bedeckt, das aus Zellen (vor allem Chondrozyten) und dem diese umgebenden Stützgewebe aufgebaut ist. Diese sind aber durch die viskose Synvial-Flüssigkeit (Gelenkschmiere genannt) getrennt, ohne die die Gelenke schnell durch Reibungskräfte zerstört würden.

Die Biopolymere der extrazellulären Matrix sind in der Regel Polyelektrolyten, wie Hyaluronsäure, und die physikalischen Eigenschaften unterscheiden sich daher bei niedrigen Ionenstärken häufig von denen neutraler flexibler Polymere. Wie wir in Kapitel 24 sahen, erhöht sich die Kuhn-Länge und die Makromoleküle verhalten sich häufig semiflexibel. Andererseits werden bei den physiologischen Salzstärken von 400 mM die Ladungen weitgehend abgeschirmt (Debey-Länge $\kappa^{-1} \approx 0.5nm$) und die Polyelektrolyten verhalten sich in erster Näherung wie neutrale Polymere. Daher beschränken wir uns in dieser Einleitung auf die Beschreibung der

physikalischen Eigenschaften oberflächenverankerter neutraler Makromolküle, deren Grundlagen in mehreren Pionierarbeiten von P. de Gennes entwickelt wurden [1], [2]. Die Struktur der Polymere hängt entscheidend von der lateralen Dichte ρ ab (s. Abb. 1). Bei sehr kleinen Dichten spreiten die Polymere vollständig. Aufgrund der Entropie bilden die Ketten jedoch Falten und sind nur partiell adsorbiert. Sie bilden eine pfannkuchenartige Struktur der Dicke d. Solche Zustände bilden flexible Proteine oder Segmente integrale Proteine, die an Membranoberflächen adsorbieren (s. Abb. 9.4 und Abb. 1). Erhöht man die Konzentration, so entweichen die Filamente in die dritte Dimension und bilden pilzartige Strukturen. Deren Höhe ist durch den Flory-Radius bestimmt ist. Erhöht man die Konzentration weiter, so strecken sich die Ketten weiter und bilden eine Bürste. In diesem Zustand besteht die Filamente aus perlschnurartigen Anordnungen von $n = \frac{N}{g}$ Knäueln aus g Monomeren (englisch Blobs genannt). Diese verhalten sich wie ideale Ketten mit Radien $R^2 \approx ga^2$. Nur in diesem Zustand kann die Glykokalix das Eindringen von Viren oder makromolekulare Schadstoffe behindern. Wir wollen die folgende Diskussion auf diesen Zustand konzentrieren.

Wie wir in Kapitel 24 gelernt haben, beschreiben wir das Verhalten der Einfachheit halber durch Skalengesetze, die wir auch nicht näher begründen. Wir haben gelernt, dass der osmotische Druck einer verdünnten Lösung durch die Virialentwicklung der freien Energie nach dem Volumenbruch ϕ_m bestimmt ist: $\Pi = \frac{k_B T}{a^3}[\frac{\phi_m}{N} + \frac{1}{2}(1 - \xi)\phi_m^2]$ und dass in der Regel der zweite Virialkoeffizient größer ist als der erste. Diese Gleichung gilt nicht exakt für halbverdünnte Lösungen. Da deren Verhalten auch durch Fluktuationen der Monomerendichte bestimmt ist, wird der Ausdruck für Π leicht modifiziert:

$\Pi = \frac{k_B T}{a^3}\phi_m^{\frac{9}{4}}$ (1)

Wenn wir annehmen, dass sich die Makomoleküle wie Flory-Ketten benehmen, so ist die Zahl der Monomere pro Blob durch die Bedingung $r_B = (\frac{\rho^{-\frac{1}{2}}}{a})^{\frac{5}{3}}$gegeben, wie man mit Hilfe von Gl 24.8 leicht nachvollziehen kann. Die Konzentration der Monomere ist $c = \frac{r_B}{\rho^{-\frac{3}{2}}} = \frac{\rho^{-\frac{2}{3}}}{a^{\frac{4}{3}}}$ und damit wird $\phi_m = \rho^{\frac{2}{3}} a^{\frac{4}{3}}$ und $\Pi \approx \rho^{\frac{3}{2}}$. Die Schutzfunktion der Glykokalix hängt daher empfindlich von

der Packungsdichte der Oberflächenproteine der Membranen ab.

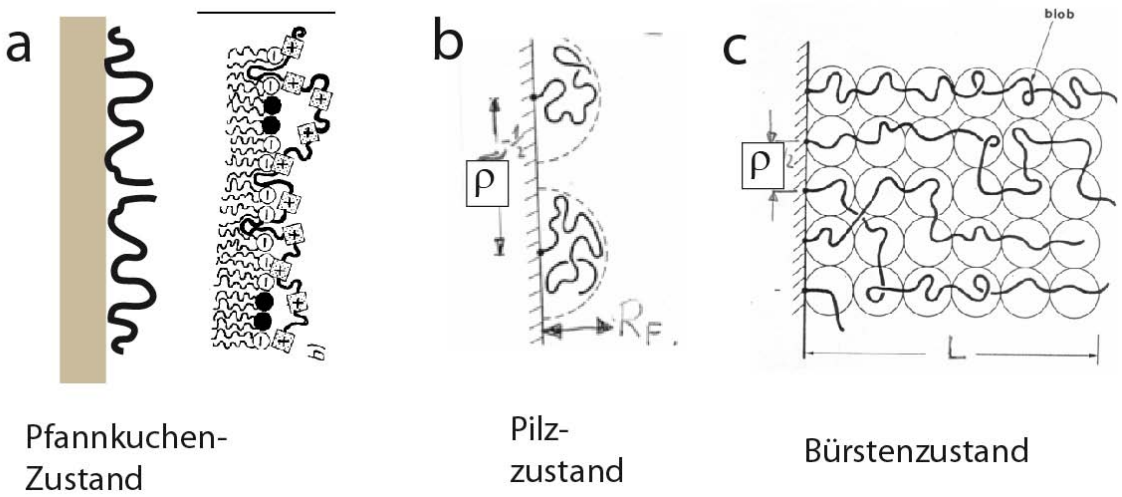


Figure 40: Abb.1: Die drei Zustände oberflächenverankerter Polymere.

Wechselwirkungspotentiale:

a) *Zwischen zwei ebenen, mit Bürsten bedeckten Flächen:*

Das repulsive Potential zwischen zwei ebenen Flächen ist durch die Zunahme des osmotischen Drucks aufgrund der Verdichtung der Monomere bestimmt. Ist L_0 die Länge der Bürste im Gleichgewicht und wird der Abstand auf 2 L verkürzt, so ist die Abstoßungskraft:

$\Pi_d = k_B T \rho^{\frac{3}{2}} [(\frac{2L_0}{L})^{\frac{9}{4}} - (\frac{L}{2L_0})^{\frac{3}{4}}]$ (2)

Dieser Zusammenhang zwischen dem osmotischen Druck und der Polymerdichte wurde von der Gruppe von Jacob Klein mit Hilfe der 'surface force apparatus' geprüft [4]. Bei dieser Technik werden zwei zylinderförmige Oberflächen, die um 90 °gegeneinander verdreht sind, aufeinander gepresst und der Abstand als Funktion der Kraft gemessen. Der Abstand wird mittels Interferometrie mit nm-Genauigkeit bestimmt. Abb. 2 zeigt ein Kraft-Abstandsdiagramm das für

Bürsten aus Polystyrol gemessen wurde. Die ausgezogene Kurve entspricht der Gl. (2) und zeigt, dass Modell und Experimentrecht gut überein stimmen, wenn auch nur über einen kleinen Bereich des Volumenbruchs.

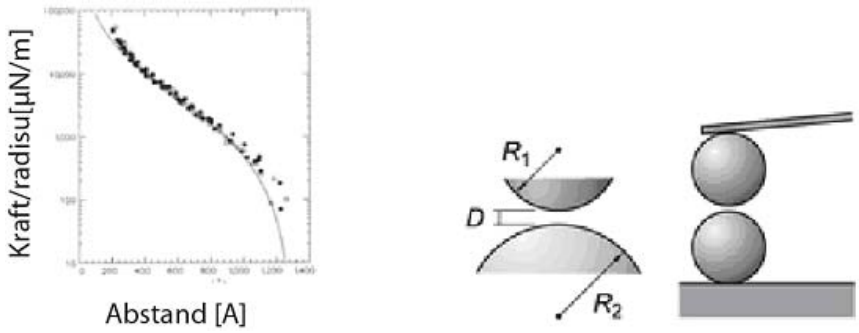


Figure 41: Abb 2: Links: Messung der Kraft-Abstandkurven zwischen zwei mit Polymer-Bürsten bedeckten Glimmerplättchen nach [4]. Die ausgezogene Kurve zeigt die theoretische Kurve nach Gl. (2).Rechts: Messung der Van der Waals Wechselwirkung zwischen zwei Kugeln mittels AFM nach [5].

b) *Van der Waals Kräfte zwischen gekrümmten Flächen:*

Für biologische Anwendungen interessieren vor allem die Van der Waals Kräfte zwischen kugelförmigen Objekten und flachen oder gekrümmten Oberflächen. Diese kann man auf mehrere Weisen messen. Die effektivste Methode ist AFM, wobei man eine Kugeln auf die Spitze des AFM-Candilevers fixiert und die andere auf einer flachen Oberfläche (s. Abb. 2 und [5]). Eine Methode zur Messung sehr schwacher Kräfte beruht auf der Analyse der Brownschen Bewegung einer Testkugel auf einer Oberfläche (z. B von Zellen) mittels Mikrointerferometrie (RICM), die wir weiter unten zur Messung der Oberflächenreibung benutzen.

Theoretische Grundlagen der Messung: Wie mehrfach erwähnt, ist das Wechselwirkungspotential zwischen zwei Ebenen im Abstand D von der Form:

$V(D) = \frac{H}{12\pi D^2}$. (3)

wobei H die Hamaker-Konstante ist (s. Kapitel 11.3). Für die schwierigere Situation gekrümmter Objekte (mit Krümmungsradien R_1 und R_2) hat B. Derjaguin die Beziehung für die Kraft (in N) abgeleitet:

$F(D) = 2\pi(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2})^{-1} V(D)$ (4)

Diese geht für den Fall $R_2 \rightarrow \infty$ in die Gleichung $F(D) = 2\pi R_1 V(D)$ über. Das zugehörige Potential hat dann die Form:

$V(D)' = \frac{H}{6}\frac{R}{D}$ (5)

Die Derjaguin-Näherung der Repulsionskraft wurde mit der AFM Technik einigermaßen befriedigend bestätigt[5]. Eine andere Methode zur Messung des Potenials V(h) ist die in Kapitel 8.3 und Aufgabe 19.3 beschriebene Analyse der Brownschschen Bewegung im harmonischen Potential.

Hydrodynamik polymerer Filme.

Zur Messung der Oberflächenreibung von Polymerfilmen gibt es zahlreiche Methoden. Zur Untersuchung weicher hydratisierter Filme, wie der Glykokalix (auch Hydrogele genannt), kann man die schon in Aufgabe 19.3 eingeführte kolloidale Sondentechnik einsetzen. Für dicht gepackte Polymerbürsten benutzt man den 'surface force' Apparat [4]. Wir betrachten hier die erste Methode, da wir dabei etwas über die wichtigen hydrodynamischen Eigenschaften von Oberflächen lernen [7]. Als Beispiel betrachten wir oberflächenverankerte Filme aus Hyaluronsäure [8]. Im Experiment beobachtet man die durch die Schwerkraft getriebene Sedimentation einer kolloidalen Sonde auf die Oberfläche und misst die Höhe h der Kugel über der Oberfläche als Funktion der Zeit mittels Mikro-Interferometrie (mittels Zweifarben-RICM

[8]). Die Methode wird ausführlich in [8] beschreiben und wir geben hier nur das Ergebnis an. Weit oberhalb der Oberfläche ist die Reibungskraft durch die klassische Stokes-Gleichung bestimmt: $F_R = 6\pi\eta R$, wobei η die Viskosität des Lösungsmittels ist. Bei Annäherung an die Oberfläche (in vertikaler Richtung) ändert sich die Viskosität gemäß $\eta_S = \eta\Lambda(\frac{R}{h})$, wobei Λ eine komplizierte Funktion ist. Für kleine Werte von $\frac{h}{R}$ wird [7]:

$\eta_S \approx \eta\frac{h}{R}$ (6)

Beobachtet man nun die Brownsche Bewegung im Gleichgewichtsabstand <h>, so ist diese nach der Einsteinbeziehung $D = \frac{k_B T}{\zeta}$ (ζ ist der Reibungskoeffizient) ebenfalls von der Viskosität abhängig. Man kann die Viskosität dann mit der Methode der in Kapitel 26 beschriebenen Nano-Rheologie bestimmen, indem man die Brownsche Bewegung in horizontaler und vertikale Richtung analysiert. Für die horizontale Bewegung wurde von Brenner [7b] die Näherungsformel:

$\eta_p \approx \eta\frac{16R}{16-9\frac{R}{h}}$ (7)

Die Näherungsformeln wurden von Pralle et al.[9] experimentell bestätigt. Zur Messung der beiden Viskositäten als Funktion der Höhe h wurde der Abstand von der Oberfläche mit Hilfe der Laserfalle eingestellt. Mit der RICM-Methode ist der Gleichgewichtsabstand durch das Oberflächenpotential V(h) bestimmt. In letzteren Experimenten wurden folgende Werte an der Oberfläche ein er 150 nm Abstand von h=150 nm gemessen:

Reine Glasoberflächen: $\eta_p \approx 30mPas$ $\quad \eta_p \approx 3Pas$
Ha-beschichtetes Glas : $\eta_p \approx 50mPas$

Der Polymerfilm erhöht die Reibungskraft um etwa einen Faktor 2. Die dadurch bedingte Verminderung der Reibung schwimmender Körper diskutieren wir weiter unten.

Der Widerstand Die Rolle der Grenzschicht:

Der Strömungswiderstand (oder die Reibungskraft F_R) von Fischen ist durch zwei Faktoren bestimmt:

Erstens durch die Energiedissipation aufgrund der Ablösung von Wirbeln an den Rändern des Schwanzes und der Flossen, den man auch als induzierten Widerstand bezeichnet. Zweitens durch die Ausbildung der Grenzschicht an der Oberfläche. Es gibt zwei Arten von Grenzschichten: laminare und turbulente. Beide sind die Folge der Randbedingung, dass die tangentiale Geschwindigkeit (v_x in Abb.3) an Oberflächen null ist (engl. no slip condition) und die senkrechte verschwindet. In der Grenzschicht fällt die Geschwindigkeit schnell auf null ab d.h. die Reibungskraft ($F_R \approx \frac{dv_x}{dz}$) ist sehr groß.

Die Dicke δ der Grenzschicht ist umgekehrt proportional zur Wurzel aus der Reynoldszahl Re: $\delta = \frac{L}{\sqrt{Re}}$. Die Reynoldszahl ist gleich dem Verhältnis der Beschleunigungskraft zur Reibungskraft (s. Kapitel 36): $Re = \frac{\rho U l}{\eta}$, wobei U die mittlere Geschwindigkeit der Körper ist. Die gesamte Reibungskraft pro Länge senkrecht zur Strömungsrichtung (y-Achse) ist gegeben durch (s [10] §39) :

$$F_R = 1.328\sqrt{\frac{\rho l U^3}{\eta}} = 1.382\sqrt{Re}U \text{ (8a)}$$

Man führt in der Technik anstatt F_R oft die Widerstandszahl (oder Widerstandsbeiwert) C ein, gemäß:

$$C = \rho\frac{2F_R}{\eta\rho U^2 l} = 1.382Re^{-\frac{1}{2}} \text{ (8b)}$$

Der Widerstandsbeiwert der laminaren Grenzschicht steigt also mit der effektiven Viskosität der Oberfläche.

Worin besteht dann der Vorteil der Filme aus hydrophilen Polymeren? Zur Beantwortung der Frage müssen wir die turbulente Grenzschicht betrachten (deren Theorie ausführlich in [10] §40 und 41 beschrieben wurde). Diese entsteht graduell mit zunehmendem Abstand von der Vorderkante der Köper (z. B. einer sehr langen Platte). Ursache ist die eigenartige Zunahme der Reynoldszahl der Grenzschicht (d.h. des Einflusses der Trägheitskräfte) mit dem Abstand x von der Vorderkante(s. Abb. 3b). Daher wird ab einem gewissen Abstand x die laminare Strömung instabil und wird turbulent. Der Widerstands-Beiwert nimmt schlagartig zu (um etwa einen Faktor 5) und hängt nun logarithmisch von Re ab:

$C = \frac{0.445}{(logRe)^{2.58}}$ (9)

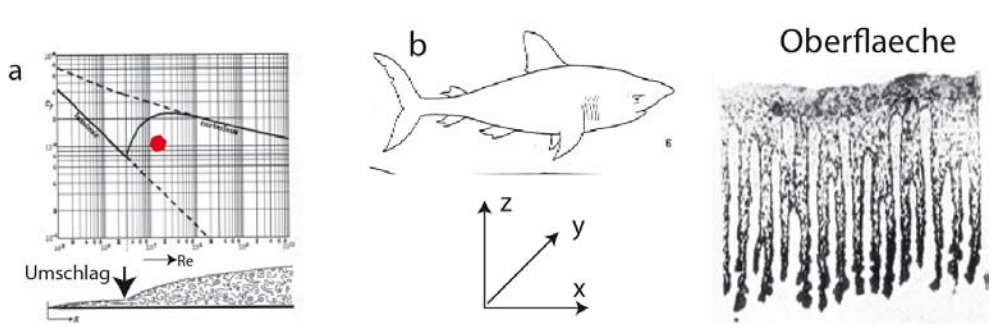


Figure 42: Abb. 3. Zu den hydrodynamischen Eigenschaften von Oberflächen. (a) Universelles Gesetz der Reibungskraft als Funktion der Reynoldszahl Re(η, U,x). Aufgetragen ist der Widerstandsbeiwert C gegen Re. Oberhalb des Umschlagpunktes wird die Grenzschicht turbulent und die Widerstandskraft steigt um fast eine Größenordnung an nach Rechenberg [11]. (b) Zwei Tricks der Reibungsminderung durch Delphine. Der erste besteht in der Beschleunigung der Grenzschicht aufgrund der Wölbung der Oberfläche, der zweite in der besonderen Konstruktion der Haut (s. rechtes Bild). Diese besteht aus einer glatten und weichen viskoelastischen Schicht, von der Noppen in das weiche Gewebe ragen. Diese dämpfen die Erregung der Wirbel und damit die Ausbildung einer turbulenten Grenzschicht. Der deutsche Aerodybnamiker Max Kramer hat Modelle der Delphinhaut aus Gummi aufgebaut und gezeigt, dass der Umschlag laminar -> turbulent um einen Faktor 5 zu höheren Reynoldszahlen verschoben wird.

Abb.3a zeigt, dass oberhalb eines kritischen Werts von Re ein Umschlag von der laminaren in die turbulente Grenzschicht erfolgt. Deren Entstehung erkennt man an dem plötzlichen Auftreten von wellenartigen Erregungen der Flüssigkeit, die sich entlang der Oberfläche nach hinten ausbreitet. Diese ist mit einer abrupten Zunahme des Verhältnisses der vertikalen zur horizontalen Komponente der Geschwindigkeit verbunden, das in der laminaren Grenzschicht proportional zu $\frac{1}{\sqrt{Re}}$ und damit sehr klein ist [10]. Der zusätzliche Widerstand der turbulenten Strömung beruht auf den sehr großen Geschwindigkeits- Gradienten innerhalb der Wirbel, wodurch schnelle Teilchen von Bereichen hoher in solche niedrigerer Werte getrieben werden. Dadurch können große lokale Kräfte entstehen, weshalb Moskitos turbulente Strömungen meiden. Bei noch größerem Abstand x löst sich (aufgrund der Zunahme von Re) die Grenzschicht von der Oberfläche ab und die turbulente Strömung dringt in das Volumen ein. Hinter den schwimmenden Objekten entsteht daher ein Schweif turbulenter Strömung, Die Natur hat im Verlauf der Evolution mehrere Lösungen zur Reduktion der Reibung unter Ausnutzung der oben beschriebenen hydrodynamischen Eigenschaften der Grenzschichten gefunden:

1) Um den Widerstand zu reduzieren muss man dafür sorgen, dass die Ablösung am Ende des Körpers erfolgt und dass der turbulente Bereich möglichst eng ist. Dies wird durch die Stromlinienform der Fische (oder der Pinguine) und spitz zulaufende Enden realisiert.

2) Um die Wirbelbildung zu behindern oder möglichst weit an das hintere Ende der Körpers zu verlagern (wodurch der Durchmesser des turbulenten Schweifs erniedrigt wird) wird die Reibung der laminaren Schicht erhöht. Dies erfolgt bei Fischen durch den so genannten Fisschleim.

Biologische Anwendungen.

Abbildung 4 zeigt zwei wichtige Beispiele der Anwendnung von Polymerfilmen in der Biologie. Abb. 4a zeigt die Unterdrückung der Reibung zwischen den Knochen der Kniegelenke durch einen dünnen Film aus Hyaluronsäure. Abb 4b zeigt schematisch, dass Viren oft lange

Brownsche Bewegungen auf der Oberfläche der Zellen ausführen müssen, ehe sie die Glykokalix durchdringen können [Bräuchle].

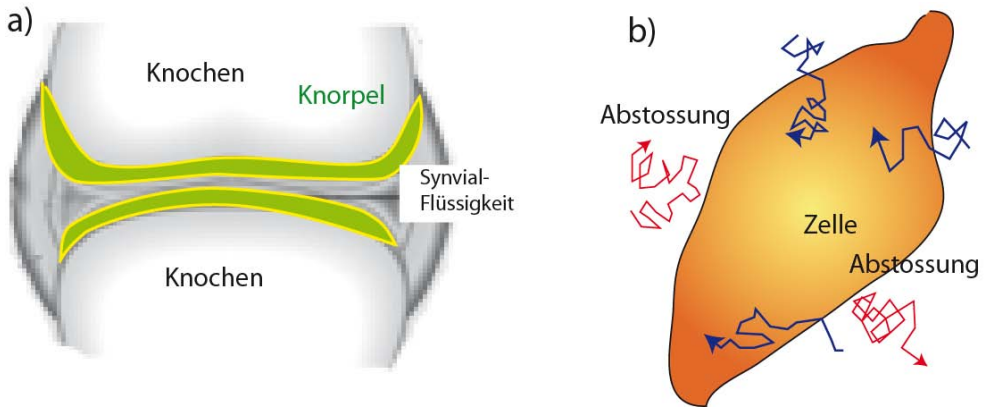


Figure 43: Abb. 4: Zwei Beispiele der biologischen Anwendung makromolekularer Schichten als Schmiermittel und Schutzschild für Zellen. Links: Schematische Darstellung der Reduktion der Reibung zwischen den Knochen des Kniegelenks durch Knorpel und Synvialflüssigkeit (Gelenkschmiere). Rechts. Angriff einer Zelle durch Viren

Referenzen:

1 De Gennes, P. (1981), (1982) Polymers at an Interface 1 und 2. Macromolecules 14, 1637.und 15, 492.

2 Scaling concepts in polymer physics. Cornell University Press 1979

3 Alexander, S.(1987) Journal de Physique 38,839

4 Taunton, H., et al. (1988) Forces between surfaces bearing terminally anchored polyme chains in good solvents. Nature 323:, 712.

5 Rentsch, S., et al. (2006) Probing the validity of the Derjaguin approximation for heterogeneous colloidal particles. Phys. Chem. Chem. Phys. 8: 2531-2538

6 Israelachvili, J. Intermolecular and surface forces. Academic Press, New York 1985

7 (a) Brenner, H. The slow motion of a sphere through a viscous fluid towards a solid surface. (b) Happel, J., Brenner H. Low Reynolds Number hydrodynamics. Kluwer Academic Publishers Dordrecht 1997

8 Schilling, J. et al. (2004) Phys. Rev E 69 021901.

9 Pralle, A et al. (1998) Applied Physics A 66: 71-73

10 Landau L.und Lifshitz E.Theoretische Physik Hydrodynamik § 39.

11 Rechenberg, I. Vorlesung Bionik WS 2000/2001,erhältlich über Wikipedia.

12 Kurrle A. et al.(1990) Biochemistry 29: 8274-8282

Aufgabe 26.1:

Beweis der Gleichung 26.8b: $J(t) = \sum_i j_{0i}(1 - e^{t\frac{t}{\tau_i}})$

Man erinnere sich: J(t) ist die Kriechfunktion (oder Retardationsfunktion) der linearen Anordnung einer Parallelschaltung aus Feder und Dämpfung, die man auch Voigt Körper nennt. Jeder Voigt Körper der Anordnung in der Abbildung wird durch eine Kriechfunktion $J_i(t)$ bestimmt, die man mit der inhomogenen Differentialgleichung (DGl) der Form $\zeta_i \frac{dx_i}{dt} + k_i x = f_i$ bestimmen kann.

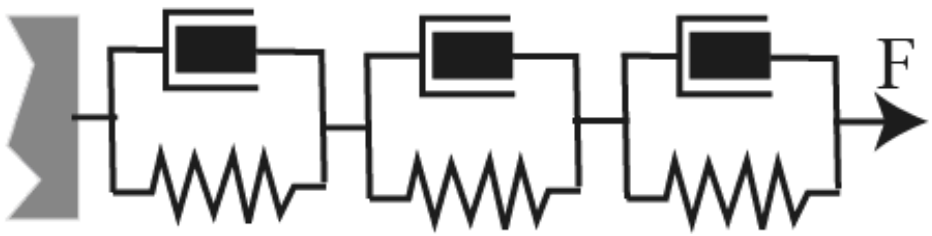


Figure 44: Schemazeichnung eines Voigt Körpers

Man löst zunächst die homogene Gleichung, welche offenbar die Form

$x_h(t) = Ce^{-\frac{k_i}{\zeta_i}t}$ (1)

hat. Nun wendet man die Variation der Konstante an, die darin besteht, C(t) zu einer zeitabhängigen Funktion zu machen. Setzt man $x_h(t) = C(t)e^{-\frac{k_i}{\zeta_i}t}$ in die DGL ein, so folgt $\zeta_i \frac{dC}{dt} - C(t)k_1 + k_i C(t) = f_i e^{\frac{k_i}{\zeta_i}t}$. Eine Lösung dieser Gleichung ist:

$C(t) = \frac{\zeta_i}{k_i}\frac{f_i}{\zeta_i}\int_0^t dte^{\frac{k_i}{\zeta_i}t} = \frac{f_i}{k_i}(e^{\frac{k_i}{\zeta_i}t} - 1)$ (2)

Die gesamte Lösung der inhomogenen DGL erhält man durch Einsetzen der singulären Lösung für C(t) in Gl. 1. Mit der Definition $j_i = \frac{f_i}{k_i}$ folgt die zu beweisende Gleichung.

Zusatzaufgabe für Interessierte: Model von Festkörpern (engl: standard solid model von Zener und Kelvin).

Dieses lineare viskoelastische Modell wurde von Zener zur Beschreibung des Verhaltens von Festkörpern eingeführt, insbesondere, um deren Kriechverhalten und die Spannungsrelaxation zu beschreiben. Das Kriechen spielt eine wichtige Rolle bei der plastischen Verformung von Metallen und Holz, sowie bei Knochenbrüchen und die Messung und quantitative Charakterisierung ihrer viskoelastischen Eigenschaften ist von großem technischen Interesse. In Metallen ist das Kriechen durch das gegenseitige Gleiten des Materials entlang von Kristallebenen bestimmt, während in Holz die Fasern aneinander gleiten.

Das Zener Modell besteht aus einer parallelen Anordnung eines Maxwell Modells und einer zweiten Feder (s. Abbildung 1). Das Modell wurde tatsächlich erstmals von Kelvin zur Beschreibung des mechanischen Verhaltens des Äthers eingeführt. In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass das Kelvin Modell die einfachste Beschreibung der viskoelastischen Deformation

von Zellmembranen und Zellen durch Punktkräfte [1],[2] ermöglicht. Schließlich haben wir in Kapitel 32 gesehen, dass das Modell eine wichtige Rolle zur Beschreibung der Mechanik der Haarzellen (OHZ) spielt. Wir wollen in dieser Zusatzaufgabe die Lösung der viskoelastischen Antwort des Zener/Kelvin-Modells auf einen Kraftimpuls beschreiben.

Die Bewegungsgleichung für eine Parallelschaltung aus einem Maxwell-Körper (μ_i, ζ_1) und einer zweiten Feder mit dem Modul μ_2 kann man leicht ableiten, wenn man berücksichtigt, dass die gesamte äußere Kraft F_0 gleich der Summe der Kräfte in den beiden Zweigen ist, und dass die Dehnung des Maxwellkörpers aus zwei Beiträgen besteht:

$u = u_1 + u_1'$ (1a)

$F = F_0 + F_1$ (1b)

Die Kraft im Zweig 1 kann auf zwei Weisen ausgedrückt werden:

$\zeta_1 \frac{du_1}{dt}$ oder $\zeta_1 \frac{du_1}{dt} - \mu_1 u_1' = 0$ (1c)

Die gesamte statische Kraft ist gegeben durch:

$F = (\mu_0 u + \mu_1 u_1') = (\mu_0 + \mu_1)u - \mu_1 u_1$ (1)

Die aus dem statischen und dynamischen Anteil bestehende Gleichgewichtsbedingung hat dann die Form (s. auch Kapitel 26.1):

$F + \frac{\zeta_1}{\mu_1}\frac{d}{dt}F = (\mu_1 + \mu_2)u - \mu_1 u_1 + \frac{\zeta_1}{\mu_1}((\mu_1 + \mu_2)\frac{du}{dt})$(2)

Wir können nun den letzten Term ersetzen durch: $\zeta_1 \frac{du_1}{dt} = \mu_1 u_1'$ und u_1' durch $u - u'$ und erhalten:
$F + \frac{\zeta_1}{\mu_1}\frac{d}{dt}F = \mu_2 u + \frac{\zeta_1}{\mu_1}((\mu_1 + \mu_2)\frac{du}{dt})$ (3)

Unmittelbar nach dem Kraftstoß dominieren die Terme der zeitlichen Ableitung und es wird:

$u(0) = \frac{F}{\mu_1 + \mu_2}$ (4)

Der Körper verhält sich elastisch und die Amplitude der Auslenkung liefert die den gesamten elastischen Modul des Kelvin Körpers. Für $t \to \infty$ wird die Auslenkung durch die maximale Amplitude bestimmt: $u_{max} = \frac{F}{\mu_2}$

Das zeitliche Verhalten für lange Zeiten wird durch die

$u_{ij}(t) = \frac{1}{\mu_2}(1 - (1 - \frac{\tau_1}{\tau_2})e^{-\frac{t}{\tau_1}})\sigma_{ij}$

, wobei

$\tau_1 = \frac{\zeta_1}{\mu_1}$; $\tau_2 = (\frac{1}{\mu_1} + \frac{1}{\mu_2})\zeta_1$

ist, gegeben.

Aufgabe 26.2:

Welche Form hat die viskoelastische Kriechfunktion (Antwort auf einen Kraftsprung) eines Maxwell Modells und eines Voigt Modells?

Denken Sie daran, dass beim Maxwell Modell die Deformation gleich der Summe der Deformationen der Einzelkomponenten ist.

Für Hilfe siehe Y. C. Fung: 'Biomechanik', Springer Verlag

Ein Wort zur Vorsicht bei Impulsexperimenten. Ein Vorteil der viskoelastischen Impedanzspektroskopie ist die Möglichkeit Impulsfolgen anzulegen, um die Meßgenauigkeit zu verbessern oder um die Wirkung von Wirkstoffen oder Hormonen als Funktion der Zeit zu untersuchen (wie im Fall der Experimente von Feneberg et al.[1]). Dabei muss man jedoch darauf achten, dass die Zeiten zwischen den Kraftimpulsen lang genug sind, da sonst nichtlineare Effekte auftreten können.

Um diese zu sehen, betrachten wir ein typisches Dehnungs-Relaxations-experiment. Der Kraftsprung der Amplitude F_0 am Beginn des Impulses beschreiben wir als Heavyside Funktion $\theta(t - t_0)$ mit folgenden Werten: $\theta(t - t_0) = 0$ für $t < t_0$ und $\theta(t - t_0) = 1$ für $t \leq 0$. Die Auslenkung u(t) hat die Form:

$$u(t) = F_0 \int_{-\infty}^{t} j(t - t')\delta(t - t_0)dt' = F_0 j(t - t_0) \quad (1)$$

Dabei ist $\delta(t - t')$ die Kronecker Deltafunktion, die gleich der ersten zeitlichen Ableitung der Heavyside Funktion ist.

Betrachten wir nun eine Folge von Kraftimpulsen $F_0, F_1 ... F_N$: Man kann diese als Serie von Heavyside-Funktionen darstellen, welche die Kräfte ein und ausschalten. Betrachten wir einen Impuls der zur Zeit t_0 angelegt und zur Zeit $t_0 + T$ abgeschaltet wird. Das Abschalten erfolgt mathematisch durch Anlegen eines Stufenfunktion mit negativer Amplitude: $-F_0$. Und die gesamte Deformation des Körpers hat dann für den Impuls der zur Zeit t=0 angelegt wird die Form:

$u(t) = F_0(j(t-0) - j(t-T))$ (2)

Offenbar ist die Deformation nur reversibel (u(t) =0), wenn T größer ist als die längste Relaxationszeit des Prozesses.

Wir betrachten im Folgenden ein Beispiel aus der Doktorarbeit von Wofgang Feneberg [1]. (Abb: 7 in [1]). Die graue Kurve zeigt die durch einen Kraftimpuls von 2.5 sec induziert Kriechfunktion. Die schwarze Kurve wurde mit Hilfe der linearen Antwortfunktion Gl(2) berechnet. Die Kurven stimmen hervorragend überein. Sie gehen jedoch nicht auf null zurück, da die Impulsdauer kleiner ist, als die Relaxationszeit ($T < t_R$) des Prozesses. Wäre $T > t_R$, so würde die Relaxation durch die gestrichelte Kurve realisiert.

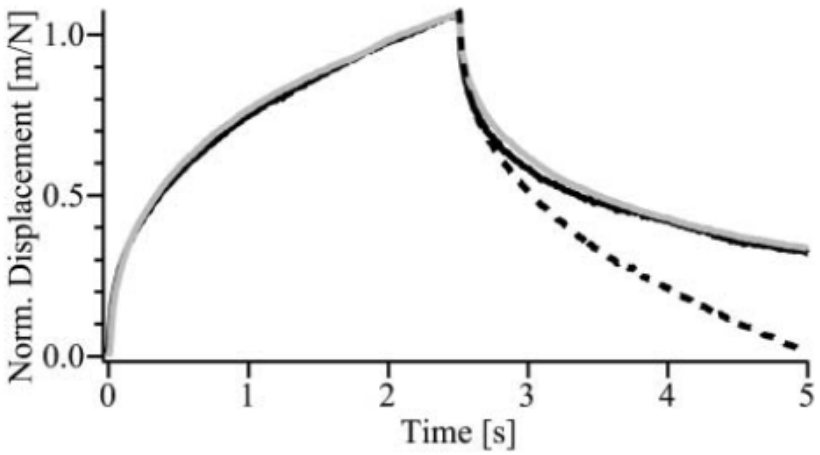


FIGURE 7 Shaded curve is creep response and creep recovery curve induced by a rectangular force pulse of $T = 2.5$ s duration. The black line is calculated from a measured creep compliance by application of the linear response principle Eq. 3. The dotted line is the negative creep compliance $-J(t–T)$ to indicate the difference between the recovery curve and the displacement curve.

Figure 45:

Die wichtigste Botschaft der obigen Betrachtung ist, dass man bei der Interpretation der Kriechfunktionen vorsichtig sein muß. Bei einer naiven Betrachtung würde man aus den experimentellen Kurve in Abb. 7 schließen, dass die viskoelastische Antwort nichtlinear ist und die Relaxation der Deformation durch andere dissipative Prozesse bestimmt als die der Deformation.

Referenzen:

1 Feneberg, W., Aepfelbacher ,M., Sackmann, E.(2004) Microviscoelasticity of the Apical Cell Surface of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) within Confluent Monolayers. Biophys, J 87: 1338-1350.

2 Bausch, A., Moeller, W. Sackmann, E. (1999). Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers. Biophys. J. 76:573 - 579.

Aufgabe 26.3:

Die Charakteristischen Formen der viskoelastischen Antwort des Maxwell-, Voigt- und Kelvin-Modells.

Jedes der spezifischen Modelle hat einen charakteristischen Verlauf der Kriechfunktion, den man sich bei Betrachtung des mechanischen Äquivalenzkreises leicht selbst überlegen kann:

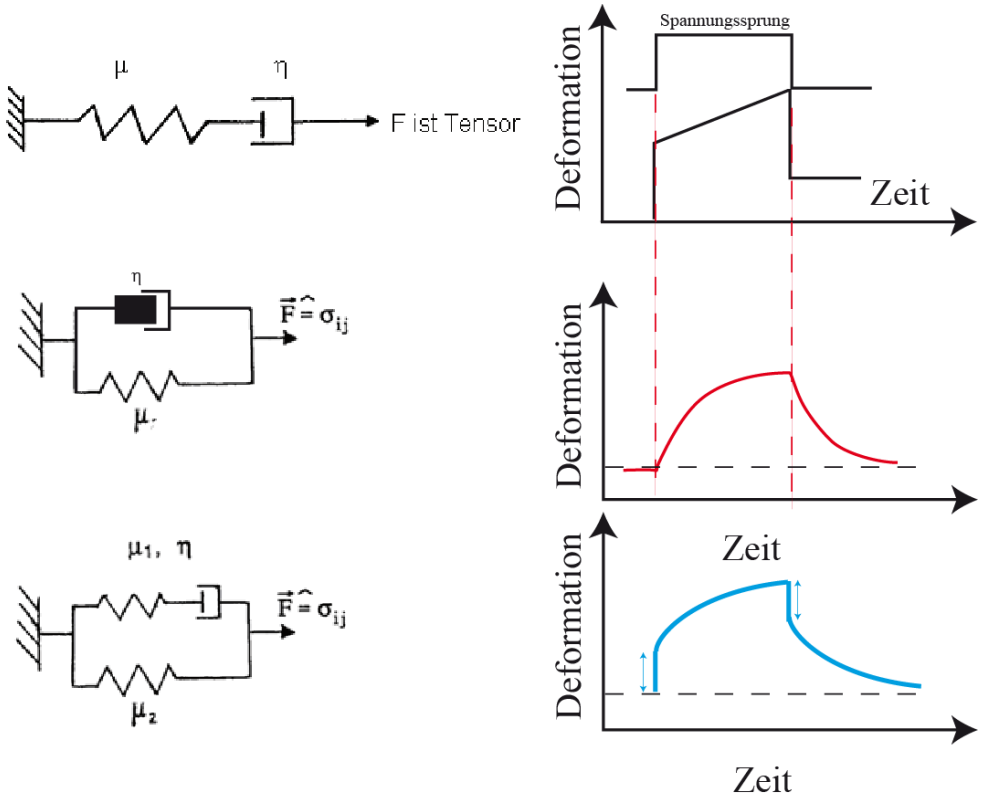


Figure 46:

Maxwellmodell:

Da im Maxwellmodell die Feder und das Dämpfungsglied unabhängig voneinander deformiert

werden, entsteht erst ein elastischer Deformationssprung. Danach dehnt sich der Körper kontinuierlich mit konstanter Geschwindigkeit.

Voigtmodell:
In diesem Fall kann sich die Feder nur retardiert dehnen. Ein Beispiel wäre ein vernetztes Polymer (Gel) oberhalb des Glaspunktes. Bei Anlegen eines Kraftimpulses fängt das Gel an zu fließen, indem die gefalteten Polymermoleküle gestreckt werden. Diese Entfaltung der Polymerketten erfolgt mit einer Folge von Ansprechzeiten, z. B. den Rouse-Relaxationszeiten im Fall synthetischer Polymere oder den in Kapitel 25.5 abgeleiteten Relaxationszeiten im Fall der Aktinfilamente.

Kelvin/Zener Modell:
In diesem Fall können sich die beiden Federn gleichzeitig unendlich schnell dehnen und zwar um den Betrag $\delta u = \frac{f}{\mu_1+\mu_2}$. Danach erfolgt die weitere Dehnung verzögert mit einer effektiven Relaxationzeit von:

$$\tau = \eta(\frac{1}{\mu_1} + \frac{1}{\mu_2})$$

Das Modell beschreibt das Deformationsverhalten der Polymere unterhalb des Glasübergangs.

Aufgabe 27.1:

Warum rollen die weißen Blutzellen auf den Wänden der Adern?

Im klassischen Bild des Blutflusses nimmt man an, dass dieser dem Hagen-Poisseulle Gesetz für Newtonsche Flüssigkeiten gehorcht. Dieses beschreibt den hydrodynamischen Fluß durch

ein Rohr. Das Strömungsprofil hat eine parabolische Form $u(r) = \frac{1}{4\eta}(a^2 - r^2)\frac{dp}{dx}$, wobei $\frac{dp}{dx}$ der Druckgradient ist. Das pro sec durch das Rohr fließende Volumen ist $\frac{dV}{dt} = 2\pi \int_0^a urdr = \frac{\pi a^4}{8\eta}\frac{dp}{dx}$.

Die Untersuchung des Blutflusses hat eine lange Tradition und zahlreiche Experimente führten zum folgenden Schluss. Bei sehr hohen Scherraten verhält sich Blut tatsächlich wie eine Newtonsche Flüssigkeit. Für sehr geringe Scherraten fließt Blut jedoch überhaupt nicht. Wahrscheinlich weil die Zellen geldrollenartige Aggregate (sog. Rouleaux) bildet. Daher besitzt Blut eine kritische Scherspannung oberhalb der es fließt und verhält sich bei kleinen Scherraten nicht mehr wie eine Newtonflüssigkeit. Aus diesem Grund wird das Geschwindigkeitsprofil in Abb. 1a im Bereich des Zentrums abgeflacht. Eine ausführliche Darstellung findet man in der Monographie von Y. C. Fung [1].

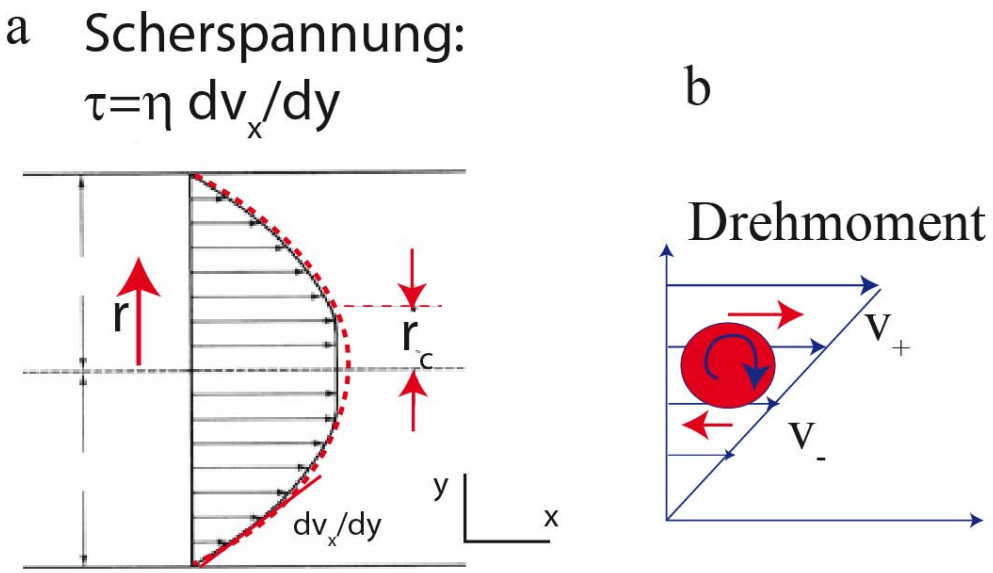


Figure 47:

Wenn die Zellen in die Nähe der Oberfläche kommen, wo $\frac{dv_x}{dy}$ hoch ist, so unterliegen Sie einem Drehmoment und beginnen zu rotieren (s. Abb1b). Dadurch wird die Geschwindigkeit an der zum Zentrum zeigenden Seite erhöht und an der zur Oberfläche zeigenden erniedrigt. Nach der Bernoulli-Gleichung ist die Summe aus statischem Druck p und dem dynamischen Druck

konstant:

$$\frac{v^2}{2} + \frac{p}{\rho} = const$$

Aus diesem Grund entsteht an der Unterseite der Zellen ein Überdruck der diese zum Zentrum (r=0) treibt. Man nennt dieses Phänomen Magnuseffekt. Dieser hat physiologisch wichtige Konsequenzen. Alle Zellen (auch die weißen Blutzellen) werden zum Zentrum der Adern getrieben. Dies ist im Falle der Erythrozyten von Vorteil, da dadurch der Kontakt mit den Endothelzellen vermieden wird. Dadurch wird die Bildung von Clustern aus denaturierten roten Blutzellen vermieden, welche durch Bildung von Blutpropfen zu lebensgefährlichen Thrombosen führen können.

Im Gegensatz dazu müssen die an der Immunantwort beteiligten Lymphozyten dicht an der Oberfläche des Endotheliums entlang laufen, um die von aktivierten Zellen ausgesandten Zytokine schnell zu erkennen. Diese werden über die Zelladhäsionsmoleküle (ZAM) der Selektin-Familie an die Endothelzellen angeheftet. Die Selektine binden selektiv an Glykoproteine mit Lewis-X-Oligosacchariden. Die nahezu kugelfömigen Lymphozyten bilden zahlreiche Ausstülpungen an deren Spitze sich die Selektine ansammeln: Dies kann man durch Markierung der Selektine mit Antikörpern und der Beobachtung von Dünnschnitten mittels Elekronenmikroskopie feststellen (s. Abb. 2 links). Man kann die Ausstülpungen der Blutzelle durch Federn ersetzen und die rollende Bewegung berechnen wie von Hammer und Apte [2] gezeigt wurde. Der interessierte Leser wird auf die Orginalliteratur verwiesen.

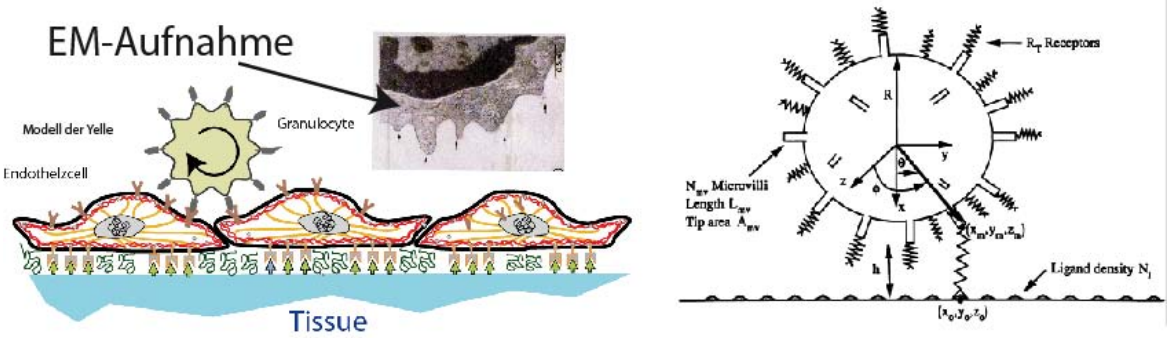


Figure 48: Abb. 2: Links: Oberflächenprofil der auf Oberfläche der Endothelzellen rollenden Granulozyten. Rechts Modell der Zelle nach Hammer und Apte [2].

Referenzen:

1 Y.C. Fung. Biomechanics Springer Verlag New York 2004

2 Hammer, DA. and Apte, SM.(1992) Simulation of cell rolling and adhesion on surfaces in shear flow:general results and analysis of selectin-mediated neutrophil adhesion. Biophysical J. 63: 35-57

Aufgabe 30.1:

Zur Entstehung des Pyruvats.

Pyruvat (Struktur siehe Abb. 1a und Kapitel 30.1 und 30.A.1.) ist das (wasserstoffarme) Endprodukt der Glykolyse und entsteht z. B. durch Abbau der (wasserstoffreichen) Glukose (s. Schema 30.2).

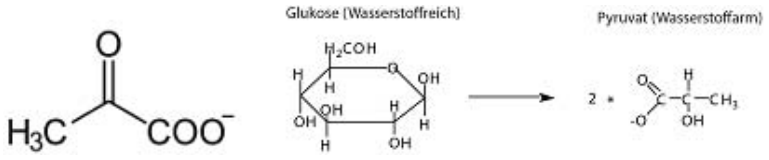


Figure 49: Abb. 1 Links: Struktur des Pyruvats. Rechts Umwandlung von Glukose in Pyruvat.

Erinnerung an die Glykolyse [1]: Die Glykolyse ist ein universeller Weg zur Energieerzeugung ohne O_2 in allen Zellen. In Erythrozyten ist sie der zentrale Weg zur Energieerzeugung. Im Muskel liefert dieser metabolische Prozess schnell Energie in Form von ATP. Der Abbau der Glukose erfolgt in einer Kaskade enzymatischer Reaktionen, wobei insgesamt zwei Moleküle ATP und zwei Pyruvatmoleküle entstehen [1]. Der Prozess besteht aus drei Schritten (s. Schema):

1. Die Umwandlung von Glukose in Fruktose-1,6 Biphosphat (F-1,6-BP). Bei diesem Schritt wird das Molekül vierfach negativ geladen und kann nicht mehr durch Membranen diffundieren. Außerdem wir es destabilisiert, was die weiteren Reaktionen erleichtert.

2. Spaltung der F-1,6-BP (mit 6 C-Atomen) in zwei C3-Fragmente, die durch Isomerisierung leicht ineinander umgewandelt werden können, und zwar durch das Enzym Triosephosphat Isomerase.

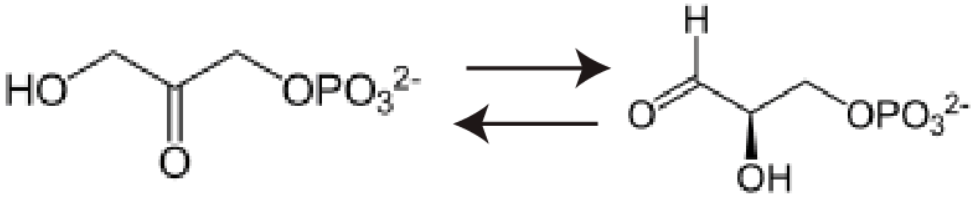


Figure 50:

3. Oxidation der C3- Fragmente in Pyruvat, wobei zwei ATP entstehen. An der Glykolyse sind

insgesamt 10 Enzyme beteiligt, deren Funktion im folgenden Schema dargestellt sind. Eine übersichtliche Darstellung der Strukturformeln findet man in [1]Kapitel 16, Abb. 16.3.

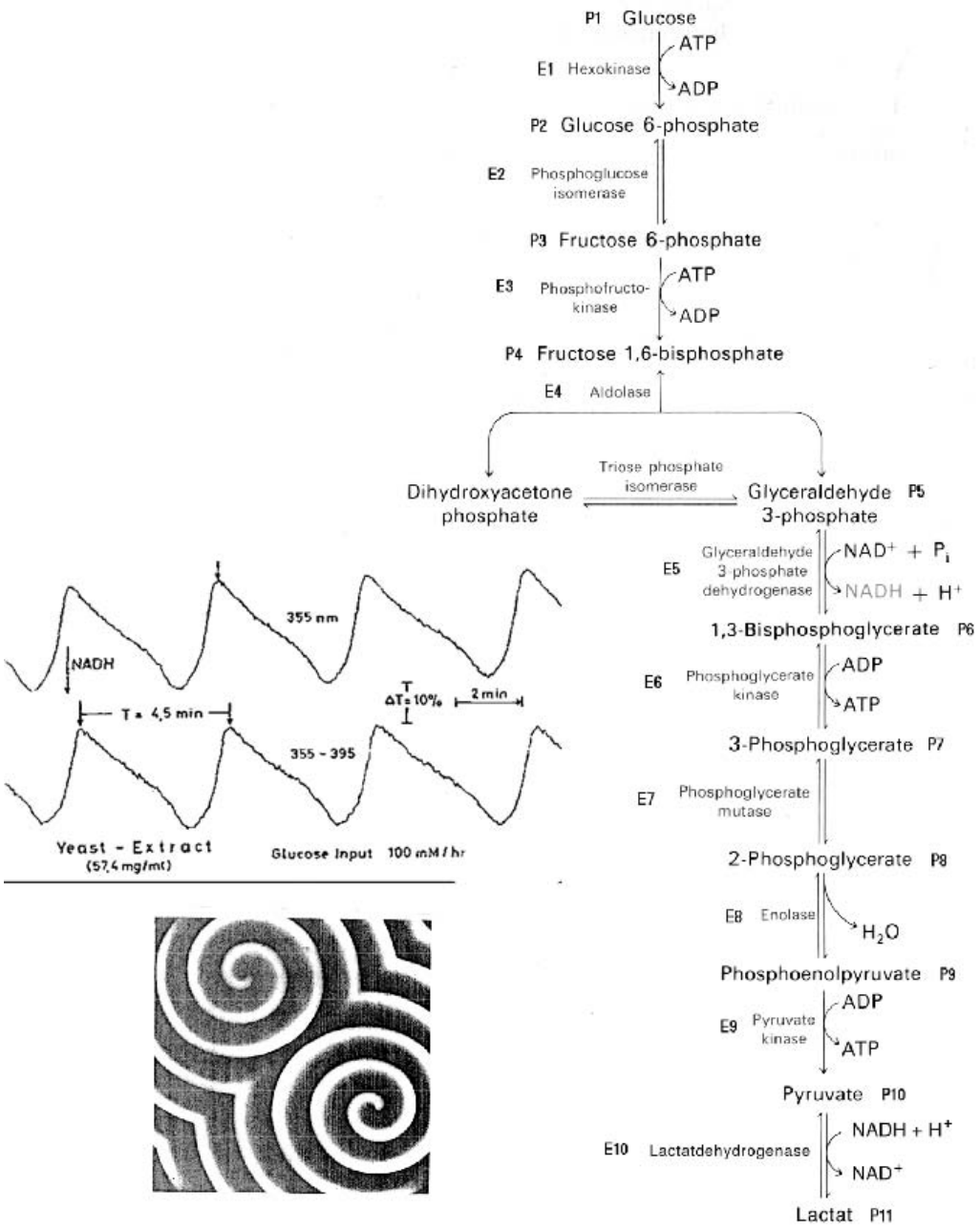


Figure 51: Abb.2: Reaktionsfolge der Glykolyse in vereinfachter Darstellung. An der Enzymkaskade sind 10 Enzyme beteiligt. In der ersten Phase fungiert ATP als Substrat. Es kann aber auch als Inhibitor fungieren und so die Überproduktion von ATP verhindern. Der Einsatz oben zeigt das zeitliche Verhalten des Absorptionsspektrum eines Extrakts aus Hefezellen bei 355-395 nm. Es ensteht bei ständigem Rühren des Extrakts. Der untere Einsatz zeigt ein raum-zeitliches Muster der Verteilung des NADP+, das sich dann ausbildet, wenn nicht gerührt wird.

Zur Beobachtung der Glykolyse-Aktivität mittels Fluoreszenz-Spektroskopie [2]

Zur Bestimmung der Effektivität der Glykolyse (z.B. als Funktion der ATP-Konzentration) benutzt man die Fluoreszenz- oder Absorptionsspektroskopie. Im Fall der Glykolyse beobachtet man die Fluoreszenz (oder Absorption) des NADH. NADH absorbiert Licht mit Wellenlängen von 300 - 380 nm, während NAD+ und die überwiegende Mehrheit aller Proteine erst unterhalb von 300 nm nennenswert Licht absorbieren.

Abb. 5.8a zeigt die Absorption des NADH in einem Extrakt aus Hefezellen [2]. Überraschenderweise beobachtet man eine periodisch variierende Absorption. In anderen Worten: die Glykolyse in der Hefe erfolgt periodisch. Die Periode von 4.5 min ist eine intrinsische Eigenschaft der Zellen. Die Glykolyse ist daher ein mögliches Modell einer biologischen Uhr. Zeitliche Oszillationen beobachtet man bei ständigem Durchmischen des Hefe-Extraktes. Wenn dies unterbleibt, so wird die Reaktion von der Diffusion der Substanzen abhängig. Dies führt zur Ausbildung raum-zeitlicher Muster der NAD+ Verteilung. Die Glykolyse ist daher auch ein interessantes Beispiel für die raum-zeitliche Strukturbildung in der Biologie [1].

Referenzen:

1 Berg J. et al. Biochemie Spektrum Verlag Berlin 2003

2 Hess, B. und Boiteux, A., (1971) Annual Review Biochemistry 40 237 ff

Aufgabe 30.2:

Der Protonen- und Elektronen-Umsatz bei organischen Reaktionen.

Die Aufgabe dient dazu, sich mit dem Umsatz von Elektronen und Protonen bei photobiologischen Prozessen vertraut zu machen.

Die Dunkelreaktion wird durch die pauschale Reaktion beschrieben. Es dürfen keine freien H^+ oder e^- übrig bleiben.

Teilaufgabe A: Abbildung 1 zeigt die Aufteilung der Dunkelreaktion (die Bildung der Glukose)in einzelne Unterreaktionen.

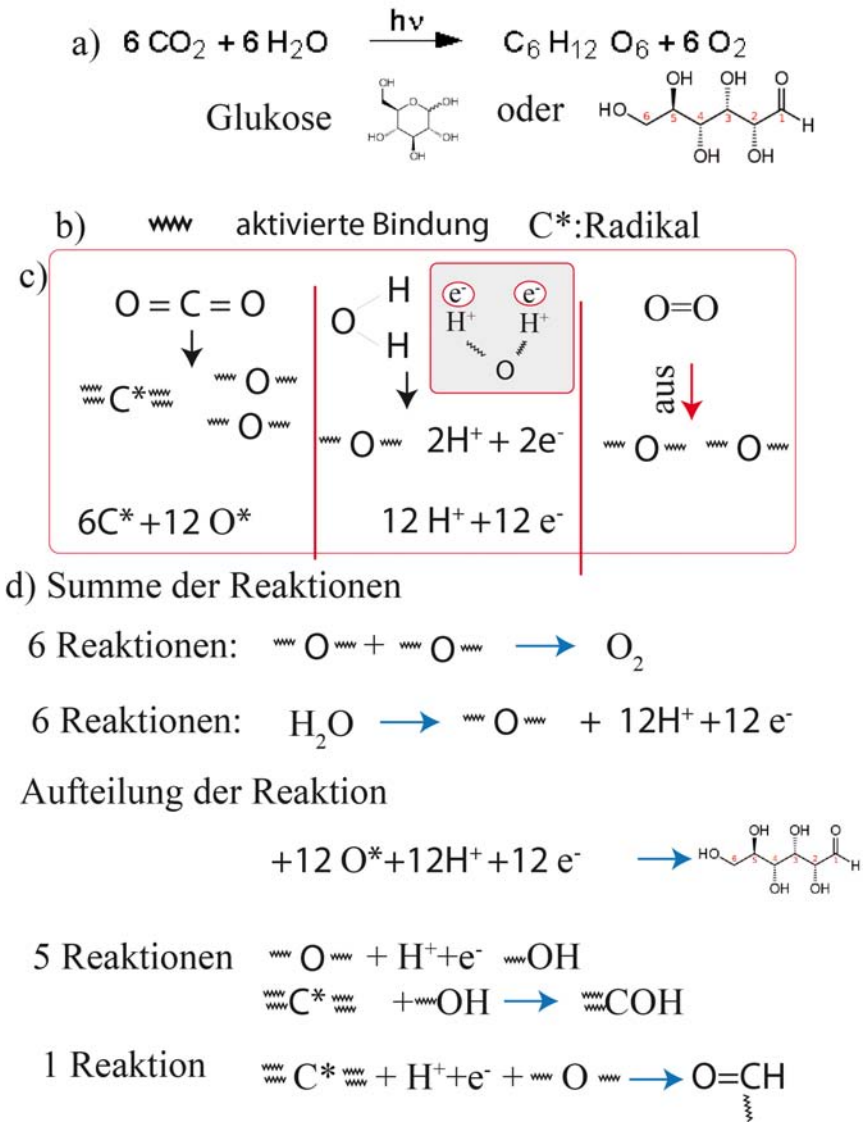


Figure 52:

Die Bilanz: Von den durch die Wasserspaltung freigesetzten 12 Elektronen und Protonen dienen 5 Paare zur Bildung von OH Seitengruppen der Glukose. Das sechste Paar dient zur Bildung der Endgruppe -C-C (H)=O.

Aufgabe 30.3:

Beweis der Kopplung zwischen der Rotation der F_1-F_0-Proteinkomplexe und der ATP-Synthese bzw Hydrolyse

Es wird empfohlen vor der Bearbeitung der Aufgabe Kapitel 30.7 zu lesen und sich die Struktur und Funktion der ATP-Synthase einzuprägen. Ein molekularer Mechanismus der ATP-Synthase wurde erstmals in den 1980er Jahren durch P. Boyer vorgeschlagen und das Modell wurde mittels Röntgenstrukturanalyse durch die Gruppe von J. E. Walker teilweise bestätigt. Es gab auch einige direkte Hinweise, dass die ATP-Synthese auf der gegenseitigen Rotation der F1 und F0 Komplexe beruht [1], [4]. In einem berühmten Experiment wurde die F1-Einheit auf einer Oberfläche fixiert und an der (in die Lösung ragenden) γ-Untereinheit ein fluoreszierendes Aktin-Filament befestigt. Mittels Videomikroskopie wurde gezeigt, dass das Aktinfilament rotiert, wenn die ATP-Synthase aktiv ist [4]. Ein direkter Beweis des Zusammenhangs zwischen ATP-Synthese und der schrittweisen Rotation der F1-Einheit (in 120 °Schritten) wurde jedoch erstmals durch die Arbeiten von Dietz et al, erbracht [2]. Es handelt sich um ein besonders schönes Beispiel der Anwendung der FRET-Methode zur dynamischen Messung der Abstände zwischen zwei Komponenten einer biologischen Nano-Maschine. Die Experimente in [2] wurden mit ATP-Synthase von E.coli-Bakterien durchgeführt. Diese wurde in kleine Lipidvesikel eingebaut. Dadurch konnten die biologischen Bedingungen durch Aufbau eines pH-Gradienten über der Membran hergestellt werden. Das Prinzip des Experiments zeigt Abb. 1. Die räumlich fixierte Spange b und der Zapfen γ (s. Abb. 30.11 und Abbildung A).wurden mit einem Donor bzw. einem Akzeptor markiert.

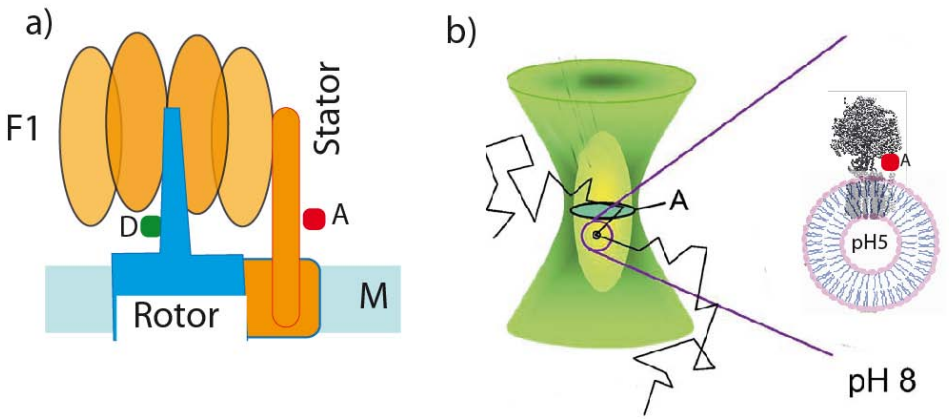


Figure 53: Abb 1: Zum Aufbau des Experiments von Dietz et al.[2]. (a) Schemtische Struktur der ATP Synthase. Die Spange (die dem Stator des Rotationsmotors entspricht) wurde mit dem Akzeptor Farbstoff Cyanin Cy5 und der Zapfen mit dem Donor Rhodamin markiert. Die komplizierten molekularbiologischen und chemischen Tricks zur Ankopplung der Chromophoren findet man in Referenzen [2] und [3]. Cy5 ist ein wasserlösliches Molekül. Es absorbiert maximal bei 650nm und fluoresziert im Roten bei 650-670 nm. Rhodamin Farbstoffe absorbieren bei etwa 500nm und fluoreszieren bei 600 nm. In dem Experiment wurde der Donor mit Lichtpulsen von 496 nm angeregt. Die Aufenthaltsdauer der Vesikel im Beobachtungs-Volumen des konfokalen Mikroskops (ca 6 Femtoliter) betrug rund 30 msec. Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren sowie eine detaillierte Darstellung der Experimente findet man in [3].

Im Experiment beobachtet man das von den Chromophoren A und D emittierte Fluoreszenzlicht, während des Aufenthalts der Vesikel in dem Beobachtungsvolumen des konfokalen Mikroskops. Dabei wird über Filter die Emission einzelner Donatoren und Akzeptoren separat registriert, zum hochempfindlichen Nachweis der Emission einzelner Moleküle dienen Lawinen-Photodioden (engl. avalanche photodiodes).

Abbildung 2b zeigt typische Zeitverläufe der Emission der Chromophoren D und A unter drei Bedingungen. Im ersten Experiment (das hier nicht gezeigt wird, aber in Figur 3 der Referenz [2] zu finden ist) wurde die Rotation der ATPase mittels Inhibitoren unterdrückt. Im zweiten

Experiment Abb. 2.b1 wurde ein pH-Gradient (von $\Delta pH \approx 3$) zwischen Innen- und Außenraum des Vesikels angelegt und ATP erzeugt. Im dritten Experiment Abb. 2b2 wurde der pH-Gradient entfernt und das Verhalten der ATPase während der Hydrolyse beobachtet.

Gemessen wurde der zeitliche Verlauf der Fluoreszenz von D (grüne Spur) und A (rote Spur), während des Durchtritts der Vesikel durch das beobachtete Volumen. Aus dem Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten F_A und F_D wurde das Verhältnis $\eta = \frac{F_D}{F_A}$ bestimmt, das ein Maß für die Effizienz des Energietransfers ist.

Wie wir in Kapitel 30.7 wissen, rotiert die F1-Domäne während der ATP Synthese und Hydrolyse in entgegen gesetzte Richtungen (s. Abb2a). Schauen wir von F0 in Richtung des F1-Komplexes, so rotiert der Donor während der Synthese im Uhrzeigersinn (UZ) und während der Hydrolyse im Gegenzeigersinn (GUZ). Es gibt drei metastabile Positionen des Zapfens mit dem exzentrisch angeordneten Donor L, M, H, die einen niedrigen (L), einen mittleren (M) und einen hohen Wert der Effizienz η liefern (s. Abb.2a). Wie Abb. 2b1 (obere Spur) zeigt, durchläuft im Fall der Hydrolyse die Effizienz η die Folge L,H,M,L usw. Im Fall der Synthese (Abb.2b2) beobachtet man eine umgekehrte Reihenfolge H,L,M,H usw.

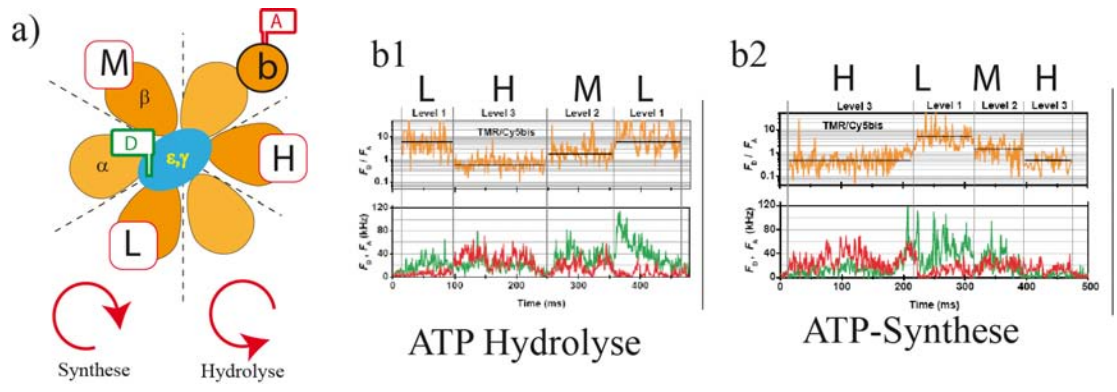


Figure 54: Abb.2a: Querschnitt durch die ATP-Synthase mit symbolischer Darstellung des Zapfens (ϵ, γ) und der Spange b (dem Stator des Motors). Die exzentrisch zur Rotationsachse gelegene γ-Domäne wurde mit dem Donor (D) und die Spange mit dem Akzeptor (A) markiert. (b) Darstellung der Zeitabhängigkeit der Fluoreszenzintensitäten F_D und F_A , sowie des Verhältnisses $\frac{F_D}{F_A}$ nach [2]. Man erkennt, dass im Fall der Hydrolyse (Abb.2.b1) die Effizienz des Transfers zuerst sehr klein ist (L) dann maximal groß wird (H, da D dem Akzeptor am nächsten kommt) und schließlich eine mittleren Wert annimmt (M). Erzeugt man nun einen pH-Gradienten, so dreht sich die Richtung der Rotation um (s. Text) .

Man kann aus den Experimenten noch viele andere Dinge über die molekularen Mechanismen der ATP-Synthase lernen, wie folgende zwei Beispiele zeigen:

1. Aus der Verteilung der Dauer der Zustände H,M,L erhält man die mittleren Verweilzeiten t_V in den metastabilen Zuständen während der Hydrolyse und Synthese. Abb. 3 zeigt das Ergebnis. Man beobachtet exponentielle Verteilungen aus denen die Verweilzeiten in den Zuständen während der Hydrolyse ($t_V = 19ms$) und Synthese ($t_V = 51ms$) bestimmt werden können.

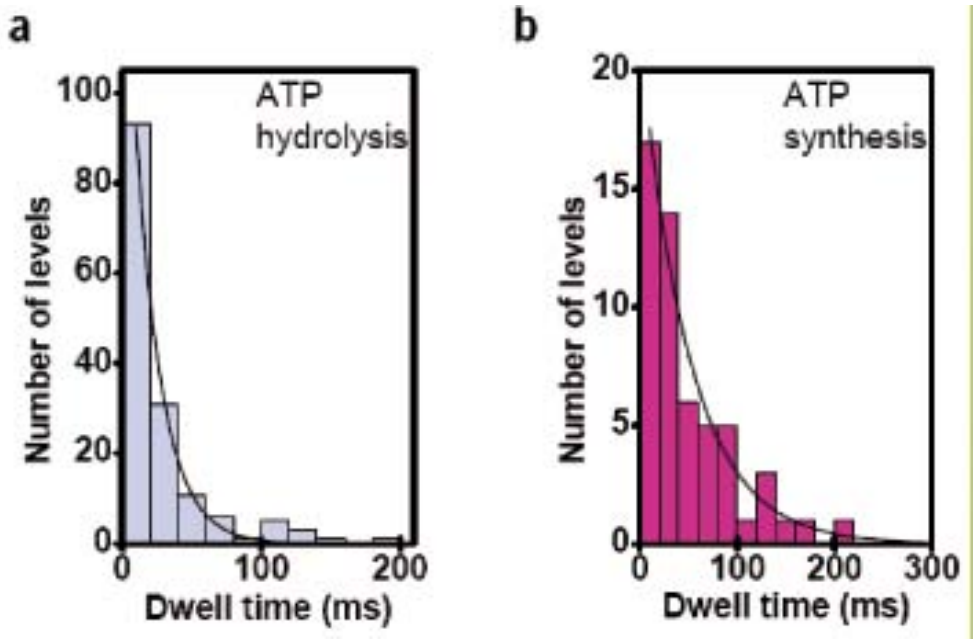


Figure 55: Abb.3: Verteilung der Verweilzeiten in den metastabilen Zuständen L,M,H während der Synthese ($t_V = 51ms$) und der Hydrolyse ($t_V = 19ms$) . Die Verteilungen sind exponentiell, d.h. die Verweilzeiten sind durch Poisson-Verteilungen bestimmt.

2. Der Abstand r_{AD} zwischen D und A in den drei Zuständen kann mit der Förster Theorie unter Anwendung der Gleichung 31.34:

$$w_{DA} = \frac{W_A}{W_D + W_A} = \frac{1}{1+(\frac{r_{AD}}{R_0})^6}$$

bestimmt werden, indem man separate Messungen des Förster Radius in Lösung durchführt. Für das in [2] benutzte AD-Paar ist $R_F \approx 64nm$. Der interessierte Leser findet Information darüber in [5].

Referenzen:

1 Junge, W. et al. (2001) Inter-subunit rotation and elastic power transmission in F0F1-ATPase.

FEBS Lett. 504: 152 - 160
2 Dietz, M., et al. (2004) Proton-powered subunit rotation in single membrane-bound F0F1-ATP synthase. Nature Struct. Mol. Biol.11 135 - 141.
3 Zimmermann, B., Diez, M., Börsch, M., Gräber, P.(2006) Subunit movements in membrane-integrated EF0F1 during ATP synthesisdetected by single-molecule spectroscopyBiochim. Biophys. Acta 1757 311 - 319
4 Noji, H., Yasuda, R., Yoshida, M., Kinosita, K. Direct observation of the rotation of F1-ATPase. Nature 386: 299 - 302 (1997).
5 Zimmermann, B., (2005) Movements of the γ-subunit during catalysis and activation in single membrane-bound H+-ATP synthase. The EMBO Journal 24: 2053 - 2063.

Aufgabe 30.4:

Zur quantitativen Messung der pro Rotation der ATP-Synthase erzeugten ATP.

Das in Aufgabe 30.3 gezeigte Experiment liefert keine quantitative Information über die pro Rotation erzeugte Anzahl von ATP- Molekülen, oder darüber wie viel ATP notwendig sind, um den Motor um 180 Grad zu drehen. Dazu muss man Messungen in sehr kleinen abgeschlossenen Volumina durchführen, um die pro Elementarprozess umgesetzten Zahl an ATP zu bestimmen. In dem Experiment von Rondelez et al. [1] wurde das Problem durch Herstellung sehr kleiner zylinderförmigen Reaktionsräume in Polymermatrizen gelöst (s. Abb. 1a). Die verwendete mikromechanische Methode zur Herstellung findet man in der Orginalarbeit. Genetisch exprimiertes F1 wird mit dem integrierten Zapfen so auf einem transparenten Festkörper fixiert, dass der Zapfen nach oben (d.h. in Richtung des Beobachters) zeigt. An dessen Spitze wird eine magnetische Pinzette fixiert. Belädt man die Mikrokammer mit 500nM ATP so enthält sie etwa 1800 Moleküle, d.h. eine abzählbare Menge. Wir beschreiben unten zwei Experimente.

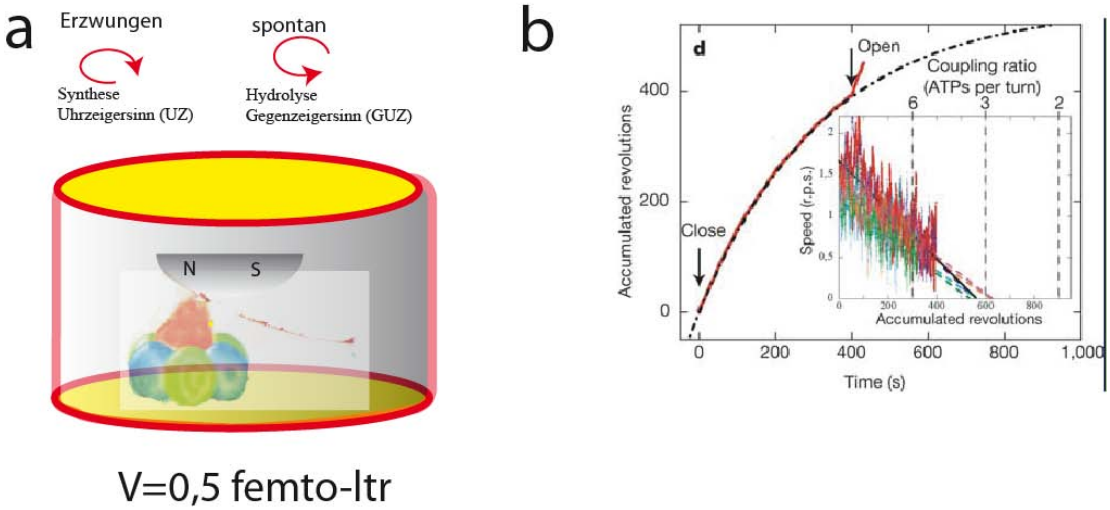


Figure 56: Abb1: a) Schematische Darstellung des Aufbaus der Messkammer. Diese besteht aus zylindrischen Messkammern (Radius $1.5\mu m$, Höhe $1.1\mu m$, $V \approx 5fL$) und ist mit gentechnisch hergestellten F1-Komplexe (d.h. ohne den in der Membran integrierten F_0-Teil) gefüllt. Der Motor wurde mit den α, β-Komplexen auf der Oberfläche befestigt. Auf dem nach oben ragenden Zapfen aus den γ und ϵ Fragmenten wurde ein magnetische Pinzette befestigt. Dabei kann es sich um ein superparamgnetische Kolloide handeln. b) Zahl der Rotationen als Funktion der Zeit nach Beladen der Kammer mit 500 nM ATP.

Experiment 1. ATP-Synthase als Motor:

Die Kammer wurde mit 500nM ATP gefüllt (ca 1800 Moleküle) und oben abgeschlossen. Abb. 1b zeigt was beobachtet wird. Die Rotationsgeschwindigkeit nimmt mit der Zeit ab (und zwar exponentiell wie der Einsatz in Abb-1c zeigt). Extrapoliert man die Rotationsgeschwindigkeit gegen $v_{rot} = 0$, so erhält man die maximale Zahl der mit den vorhandenen ATP möglichen Drehungen. Da ursprünglich 1800 ATP vorhanden waren und maximal 500 ± 100 Drehungen möglich sind werden 3.15 ± 0.5 ATP pro Umdrehung hydrolysiert. Dies stimmt mit dem Modell gut überein.

Experiment 2: ATP Synthase als ATP-Produzent.

In diesem Experiment ging es darum herauszufinden, wieviel ATP bei der aktiven Drehung der F_0-Domäne erzeugt wird. Dazu wurden die Nanoküvetten mit ca 200 nM ATP gefüllt und deren Drehung im UZ beobachtet. Dann wurde F_0 drei mal mit 10 Hz für 1 min im GUZ gedreht und danach die Geschwindigkeit (bei abgeschaltetem Magnetfeld) während der Hydrolyse bestimmt (s. Einsatz in Abb. 3b). Dabei zeigt sich wieder, dass die Rotationsgeschwindigkeit mit abnehmender ATP abnimmt. Aus diesen Messungen erhielten die Autoren die Zahl der pro Umdrehung erzeugten ATP. In dem Experiment wurde auch gezeigt, dass die Fraktion ϵ für die Funktion der ATP-Synthese sehr wichtig ist. In Mutanten ohne ϵ wurden pro erzwungener Umdrehung nur 0,5 ATP erzeugt. Baut man ϵ wieder, so erhöht sich der Umsatz auf 2.3 ATP pro Umdrehung. Dies zeigt die Bedeutung der ϵ-Komponente für die Funktion der ATP-Synthase.

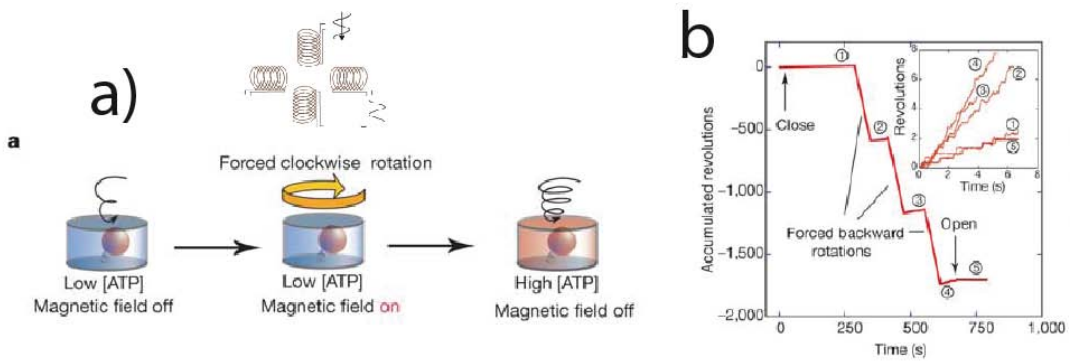


Figure 57: Abb. 3: a) Darstellung der drei Stufen des Experiments. b)Messung der Zahl der mit dem rotierenden Magnetfeld erzeugten ATP (Erklärung s. Text).

Referenz:

1 Y. Rondelez et al. (2005) Highly coupled ATP-Synthesis by F1-ATPase single molecules Nature 433: 773-777.

Aufgabe 31.1:

π-Elektronenverteilung im $H_3C - C = C - CH_3$.

Wir betrachten in Abb. 1a zunächst die π-Elektronenverteilung in der σ- und π-Bindung. Die Radiale Elektronenverteilungsfunktion ist: $\Psi = \sqrt{\frac{1}{\pi a_0^3}}^{-1} exp(-\frac{r}{a_0})$. Dabei ist a_0 ein effektiver Atomradius, der von der effektiven Kernladungszahl abhängt, Abb. 1b zeigt die radiale Verteilung der Elektronen in dem bindenden und dem anti-bindenden (oder ersten angeregten) Zustand nach dem 'Molecular Orbital' (MO-)-Modell.

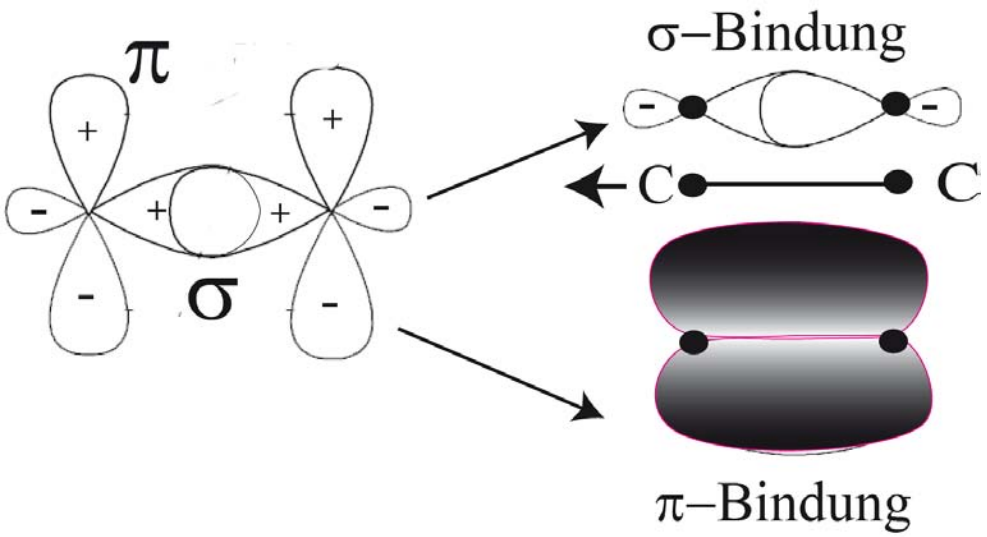


Figure 58: Abb. 1.a) Schematische Darstellung der σ- und π-Orbitale und der Bildung von σ- und π-Bindungen.

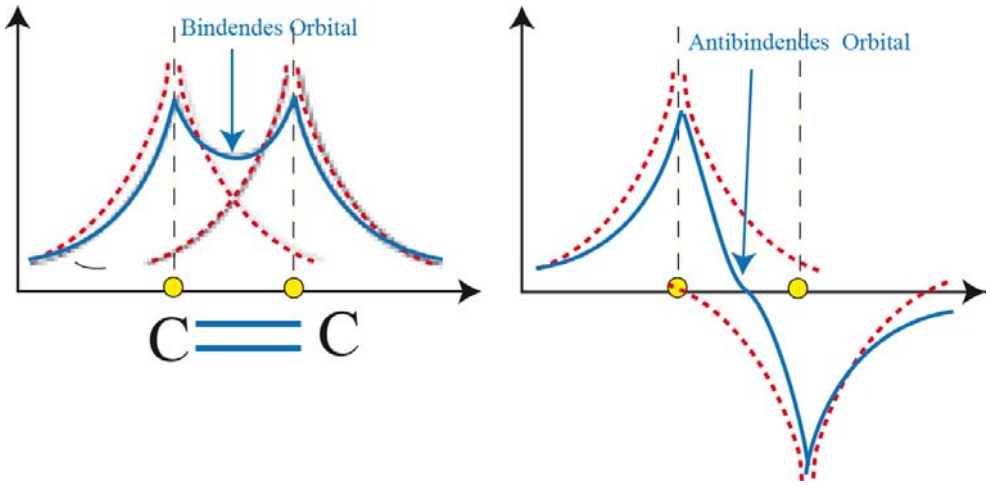


Figure 59: Abb. 2. a) Qualitative Darstellung der Elektronenverteilung in der -C=C- Bindung für die σ- und π-Bindung.

Eigenfunktion im Freien Elektronengas Modells:

Die Eigenfunktionen des primitiven Modells des kleinsten Polyens hat die Form:

$$\Psi(r) = \sqrt{\frac{2}{3d}} sin(\frac{\pi x}{3d})$$

(ohne alternierenden Bindungslängen), siehe Gl 31.5 . Einfache Beispiele für Moleküle mit 2 Elektronen sind Äthylen (oder Ethen) Abb.1a unten) Propylen (oder Propen), wenn ein H-Atom durch eine CH_3-Gruppe ersetzt und das in Abb. 1a unten gezeigte trans-2-Buten. Man nennt diese Klasse von Molekülen auch Diene.

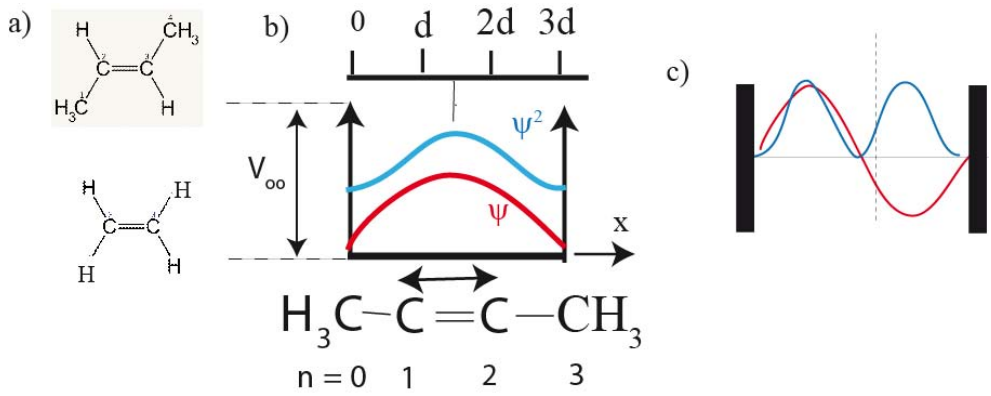


Figure 60:

Aufgabe 31.2:

Beweis der Gl 31.5 (Anwendung des Bloch Modells des Elektronengases).

Vernachlässigt man die Alternierung der Bindungslängen der Einfach- und Doppelbindungen, so lassen sich die Energiezustände der Polyene mit dem primitiven Modell eines Teilchens in einer abgeschlossenen Kasten oder dem Bloch-Modell der freien Elektronen in einem Metallblock der Länge L berechnen. Die Schrödingergleichung hat die Form:

$\frac{\partial^2\psi}{\partial x^2} + 2\frac{m}{\hbar^2}(E - V)$

wobei E für die Energiezustände und V für die Tiefe des Potentialtopfes der Länge L steht. Für lineare Polymere hat die Wellenfunktion die Form: $\psi_n = A_n sin(k_n x + a_n)$, d.h. ψ ist periodisch: $\psi(r) = \psi(r + L)$. Setzt man die Wellenfunktion in die Schrödingergleichung ein, so erhält man für die Energiezustände: $E_n = \frac{\hbar^2 k_n^2}{2m}$. Zur Bestimmung der Konstanten k_n, a_n und A_n benutzt man die Randbedingung, dass die Wellenfunktion an den Wänden (x=0 und x=L) verschwindet. Dies liefert sofort die Werte $a_n = 0$ und $k_n = \frac{\pi n}{L}$. Die normierten Wellenfunktionen Ψ_n und die Energiezustände haben die Form: $\psi_n = \sqrt{\frac{2}{L}} sin(\frac{\pi n x}{L})$ und $E_n = \frac{n^2 h^2}{8mL^2}$

Bei der konkreten Anwendung auf Polyene in Kapitel 31 haben wir die Länge L des Potentialtopfs durch die Gleichung $L = (2n + 1)d$ ersetzt, um der Alternierung der Doppel und Einfachbindungen Rechnung zu tragen.

Aufgabe 31.3:

Die Termschemata der Porphyrine mit und ohne Metallion. Zur Ursache der Soret-Bande der Metall-Porphyrine.

Zur Lösung des Problems gehen wir von den Gleichungen in Kapitel 31.2.1 aus. Die Anwendung des Blochmodells auf diese Situation lieferte die Wellenfunktion ψ_l und die Energie E_l:

$\psi_\lambda = \sqrt{\frac{1}{2\pi}} e^{\pm i\lambda\theta}$ mit $E_\lambda = \frac{h^2\lambda^2}{8m\pi^2R^2}$ (31.7)

Da für stationäre Zustände der Elektronen die Funktionen $\psi(\theta)$ bezüglich θ periodisch sein müssen, wird $\lambda = \pm n$. Die umlaufenden Elektronen haben den Bahndrehimpuls $B = \lambda\hbar$. Mit Ausnahme des Zustandes $\lambda = 0$ sind alle anderen zweifach entartet (d.h. $B = \pm|\lambda|\hbar$). Aufgrund dieser Entartung ist die Klasse der Ringsysteme mit $n = 4r + 2$ dadurch ausgezeichnet, dass alle bindenden Orbitale (mit $\lambda = 0, \pm 1, \pm 2$ genau mit zwei Elektronen besetzt sind. Die Moleküle besitzen abgeschlossene Elektronenschalen. Für alle anderen Moleküle sind auch nicht-bindende Zustände besetzt. Abb. 1a zeigt, dass Porphyrine mit H-Atomen im Zentrum 22 während die Moleküle mit Metallionen 18 π-Elektronen besitzen. Ersteres gehört zur Gruppe mit r=5 und letzter mit r=4. Beide haben also abgeschlossene Schalen, Letzteres hat eine höhere Symmetrie. Ein wichtiger Unterschied besteht jedoch darin, dass die p-Elektronen des Metallions mit den π-Elektronen des Rings wechselwirken können.

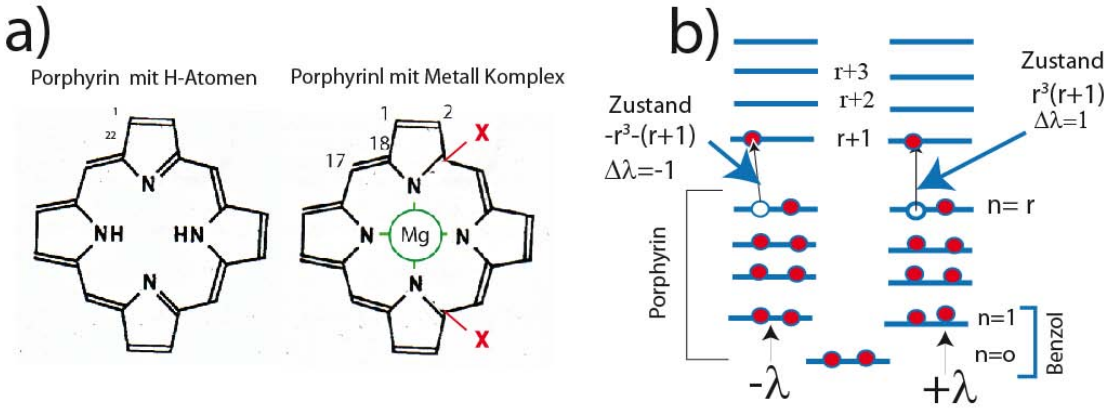


Figure 61: Abb. 1:a. Die Struktur der Porphyrine mit H-Atomen (links) und Metallionen (rechts) im Zentrum. Die Nummern 1,2 usw. kennzeichnen die C-Atome mit π Elektronen. b) Darstellung der Elektronenzustände und zweier möglicher angeregter Zustände. Rechts sind zwei Anregungszustände niedrigster Energie $r^3(r+1)$ und $-r^3-(r+1)$ dargestellt bei denen die Drehimplusänderung $\Delta\lambda = 1$ ist. Alle Übergänge mit $\Delta\lambda = 0, \pm 1, \pm 2$ sind möglich. Höhere Anregungszustände sind beispielsweise $r^3(r+2)$ mit $\Delta\lambda = 2$.

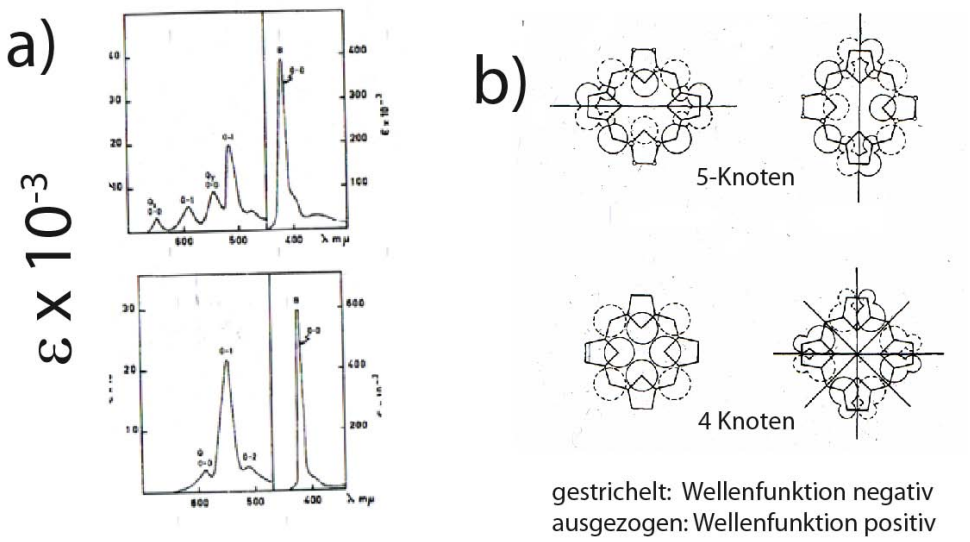


Figure 62: Abb.2. (a) Vergleich der Absorptionsspektren des Porphyrins ohne (oben) und mit einem Zn-Metallion (unten). Beide Spezies besitzen zwei Absorptionsbanden, eine starke Soret-Bande im UV($\approx$ 400nm) und eine schwächere Bande im Sichtbaren. In Gegenwart des Metallions verschmelzen die vier getrennten Banden im Sichtbaren. Dadurch wird die Farbe der Moleküle bestimmt. (b) Die gestrichelten und durchgezogenen Kurven markieren die Wellenfunktionen (bzw. Elektronenverteilungen) nach der MO-Theorie und definieren die Knoten des obersten besetzten und des untersten unbesetzten Zustandes. Nach M. Gouterman (1961) J. of Molecular Spectrocopy 6: 138-163)

Zur Zahl der Knoten und den Absorptionsspektren:

Man sieht anhand von Abb. 1b leicht ein, dass der oberste besetzte Zustand des 18-Elektronensystrems vier Knoten und der niedrigste Anregungszustand 5 Knoten besitzt. Das Metallion wechselwirkt besonders stark mit dem Zustand mit 4 Knoten, da dann maximale Überlappung der p- und der π-Elektronen stattfindet. Die vier Banden des sichtbaren Spektrums verschmelzen und die Farbe wird intensiver. Die Position der sichtbaren Absorptionsbande hängt von der Elektronenstruktur der Metalle ab. Sie liegt für Mg-Porphyrine bei etwa 650 nm und für

Fe oder Co bei etwa 550 nm. Die sichtbare Bande des Hämoglobins liegt bei 550 nm (s. auch Aufgabe 31.4).

Aufgabe 31.4:

Warum ist Chlorophyll grün und Hämoglobin rot?

Die sichtbare Farbe ist primär durch die Wellenlängenabhängigkeit der Reflektivität R bestimmt. Für senkrechten Einfall ist die Reflektivität durch den komplexen Brechungsindex $n* = n - i\kappa$ bestimmt, wobe n der Real- und κ der Imaginärteil ist. Letzterer ist ein Maß für den Absorptionskoeffizienten ϵ. Es gilt $\epsilon = \frac{4\kappa}{\lambda}$. Die Reflektivität für senkrechten Einfall des Lichts ist eigentlich durch die Fresnel-Gleichung gegeben:

$R = \frac{(n-1)+\kappa^2}{(n+1)+\kappa^2}$ (1)

Für kleine Brechungsindizes des Materials hat das Reflektionsspektrum eine ähnliche Form wie das Absorptionsspektrum. Allerdings wird das Spektrum durch die Absorption des Lichts und die Streuung durch das Material verfälscht.

In Abb1 zeigen wir die Überlagerung der Absorptionsspektren des Chlorophylls, des Hämoglobins (mit und ohne Sauerstoff) sowie von Carotenoiden. Chlorophyll besitzt zwischen der Soret-Bande und der langwelligen Absortion einen Bereich schwacher Absorption und daher zeigt es ein Licht grüner Farbe. Die Soret-Bande des Hämoglobins reicht bis in den grünen Bereich. Daher erscheint Blut rot. Das Absorptionsvermögen des oxidierten Blutes ist im roten Bereich wesentlich keiner als das von Hb. Aus diesem Grund erscheint das O_2-haltige Blut heller. Diese Verhalten nutzte Robert Mayer bei der Entdeckung des Energiesatzes (s. Kapitel 1)

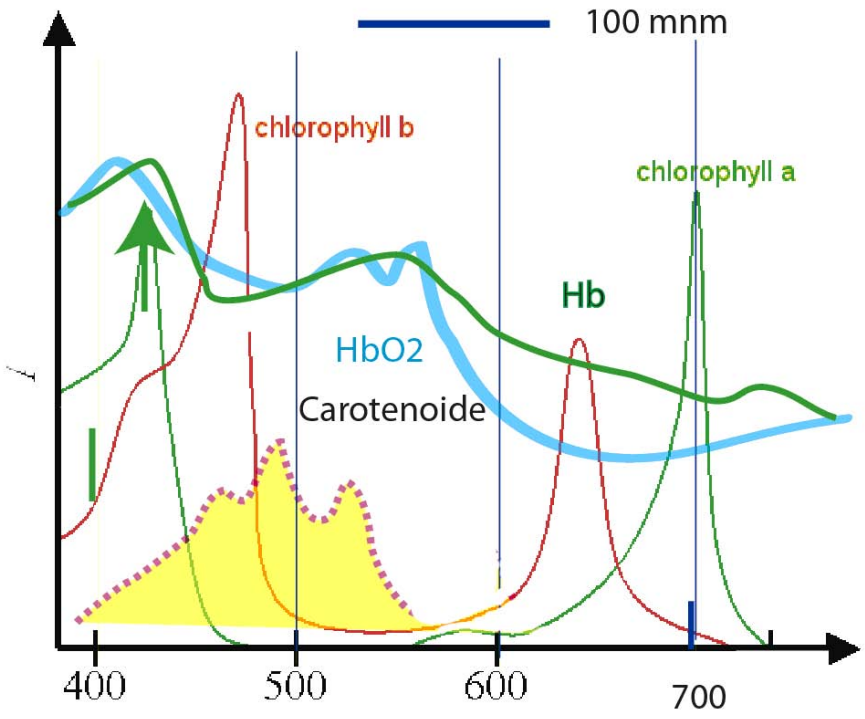


Figure 63: Abb1: Vergleich der Absorptionsspektren von Chlorophyll,Chlorophyll b und Hämoglobin mit (HbO_2) und ohne (Hb) Sauerstoff.

Aufgabe 31.5:

Der langwelligste Übergang des Benzols im FEG-Modell.

Die Wellenfunktionen des obersten besetzten und des untersten unbesetzten Zustands haben die Form:

$\psi_1 = const \cdot e^{\pm i\frac{\Theta}{6}}$ mit $E_\lambda = \frac{\hbar^2}{2mU^2}$; $\psi_2 = const \cdot e^{\pm i\frac{\Theta}{3}}$ mit $E_\lambda = \frac{4\hbar^2}{2mU^2}$

Der Energieunterschied ist $\Delta E = \frac{3\hbar^2}{2mU^2}$. U ist der Umfang des π-Elektronensystems. Für Benzol

ist U=6 mal $0.14nm = 0.84nm$.

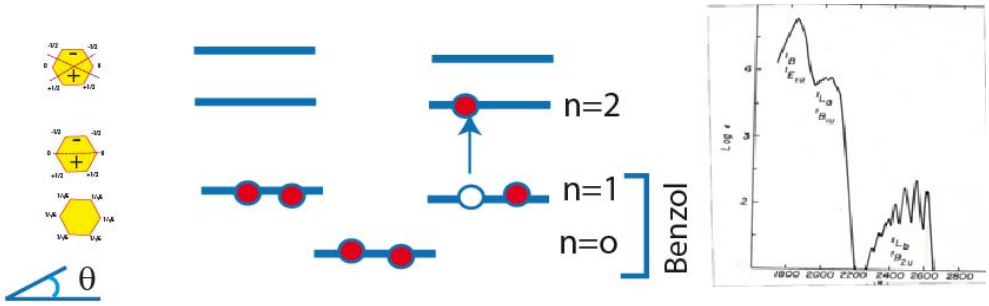


Figure 64: Abb. 1: Zum Energieschema im FEG- Modell. Nur jeweils eine Elektronenverteilung in den Zuständen $\lambda = 1$ und $\lambda = 2$ werden gezeigt. Die anderen erhält man durch Rotation um $\Theta = 30\,°$. Rechts: Absorptionsspektum des Benzols.

Mit der Elektronenmasse m=$9 \cdot 10^{-31}$ kg und h =$6.6 \cdot 10^{-34} Js$ erhält man für die Anregungsenergie $2 \cdot 10^{-19}$ J. Das entspricht $250 k_B T$ oder $\frac{240}{40} eV = 6eV$ oder einer Absorptionswellenlänge von 200 nm. Die langwelligste Bande des Benzols liegt bei 240 nm. In Anbetracht der groben Näherung ist die Übereinstimmung befriedigend. Allerdings berechnet man die Energiezustände der Aromaten in der Regel mit der LCAO Methode von Hückel, die in der Monogarphie von Murrell [1] gut dargestellt ist.

Aufgabe 31.6:

Zur Oszillatorenstärke

Die Aufgabe dient dazu sich mit dem etwas sperrigen Thema der Oszillatorenstärke vertraut zu machen. Erinnerung an einige Definitionen:

1. Das Übergangsmoment: $< \psi_k | e\vec{r} | \psi_l >= \vec{M}_{kl} = \int \psi_k(r) e\vec{r} \psi_l^*(r) dV$.

M_{kl} hat im SI-System die Dimension $[M_{kl}]$ =1$Debye$ = 3.3410^{-30}Cbm.

2. Der Molaren Extinktions-Koeffizienten ϵ ($[\epsilon]$= $1\frac{L}{M \cdot cm}$) wird mit Hilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes bestimmt.

$\frac{I}{I_0} = 10^{-\epsilon cd} = e^{-\epsilon cdln(10)}$ (2)

3. Da ϵ von der Wellenlänge λ abhängt, benutzt man die Oszillatorenstärke f als Maß für die Stärke eines elektronischen Übergangs der aus mehreren Schwingungsbanden besteht $f_{kl} = const \cdot \int \epsilon_{kl}(\lambda) d\lambda$. Der Vorfaktor const wird so gewählt, dass f dimensionslos ist. Zwischen f und M_{kl} besteht folgender theoretischer Zusammenhang:

$f_{kl} = \frac{8\pi^2 mv}{3he^2} |M_{kl}^2|$ (3)

Man benutzt zur Umrechnung als Einheit der Ladung [e]= $1cm\, dyn^{\frac{1}{2}}$ oder 1 esu $\approx 3.3 \cdot 10^{-10}C$. Im SI-System erhält man mit Gl.(3) den numerischen Zusammenhang: $f_{kl} = 14.8 \cdot 10^{41} < v_{kl} > \cdot |M_{kl}^2|$

Frage 1: $\lambda = 500nm$ entspricht $\lambda = 0.6 \cdot 10^{15} Hz$. Die Oszillatorenstärke f =0.25 liefert ein Übergangs-Dipolmoment von $M_{kl} = 0.16 \cdot 10^{-28}$ Cbm oder 0.2 Debye.

Frage 2: Der Vorfaktor im esu-System wird mit Gl.(3) berechnet. Bei der Berechnung ist zu beachten, dass das Planck'sche Wirkungsquantum h und die Elektronenmasse m in cgs Einheiten und nicht in mkgs-Einheiten eingesetzt wird. Im cgs/esu-System ist $f_{kl} = 4.7 \cdot 10^{29} < v_{kl} > \cdot |M_{kl}^2|$
.

Aufgabe 31.7:

Eigenschaften des Dipolstrahlers und das Konzept der optischen Nahfeld-Mikroskopie (SNOM).

Zur Behandlung dieser Aufgabe ist es hilfreich, sich mit den Grundlagen der Strahlung eines Hertzschen Dipols (Dipolmoment $\mu(t) = \mu_0 sin(\omega(t - \frac{r}{c}))$ vertraut zu machen. Eine einfache Darstellung findet man z.B. in 'Theorie der Elektrizität' von Becker und Sauer. Das zeitabhängige elektrische Potential ist durch das retardierte Potential ϕ bestimmt, das man nach Potenzen des Abstands r entwickelt. Das Potential hat im SI-System die Form:

$$\phi = \frac{2\pi\mu_0\vec{r}}{\lambda 4\pi\epsilon_0 r^2} cos(\omega(t - \frac{r}{c})) + \frac{\mu_0\vec{r}}{4\pi\epsilon_0 r^3} sin(\omega(t - \frac{r}{c}))\epsilon \ (1)$$

Aufgabe 1:

Das Fernfeld: Dieses ist durch den ersten Term in Gl(1) gegeben, der durch das retardierte elektrische Potential des Dipols bestimmt ist. Für die erste Aufgabe interessiert nur der Poyntingvektor. Dieser ist gleich der in die drei Raumrichtungen abgestrahlte Energie und hat die Dimension Energie pro Fläche und Zeit (und wird oft in $\frac{Watt}{s \cdot m^2}$ gemessen). Der Energiefluss eines Dipolstrahlers der in eine feste Richtung schwingt hat die Form:

$$\vec{S} = \frac{\omega^4 \mu_{el}^2}{(4\pi)^2 \epsilon_0 c^3} \frac{\vec{r}}{r^3} = \frac{\omega^4 \mu_{el}^2}{4\pi\epsilon_0 c^3} sin^2\theta \ \frac{Watt}{m^2 s}$$

Zur Berechnung der gesamten abgestrahlten Energie integriert man den Vektor S über den Raumwinkel $d\Omega = sin\theta d\theta d\phi$ und erhält $< S >= \frac{\omega^4 \mu_{el}^2}{12\pi\epsilon_0 c^3}$. Dies ist das berühmte Gesetz von Rayleigh, nach dem die von den Molekülen eines Gases gestreute Energie mit der 4ten Potenz der Frequenz zunimmt und beispielsweise für das Blau des Himmellichts verantwortlich ist. Man beachte noch, dass wir in dieser Aufgabe den Brechungsindex des Vakuums benutzten.

Das Nahfeld: Offenbar fällt der erste Term wesentlich langsamer mit dem Abstand r ab als der zweite und kann für kleine r (d.h. im Nahfeld) vernachlässigt werden. Das elektrische Feld hat dann dieselbe Form, wie das statischen Potential und das magnetische Feld hat dieselbe Form wie ein Stromelement der Länge Δl des Dipols: $\frac{dp}{dt}$. Die Felder sind (im SI System) gegeben durch:

$\vec{E} = -\frac{\vec{\mu}}{4\pi\epsilon_0 r^3} + \frac{3(\vec{p}\vec{r})\vec{p}}{4\pi\epsilon_0 r^5}$ und $\vec{H} = \frac{(\vec{r}\frac{d\vec{\mu}}{dt})}{r^3}$ (2)

E hat die Dimension $\frac{V}{m}$ und H $\frac{A}{m}$. Das Produkt S=EH ist ein Maß für den Energieinhalt und hat die Form $S \propto \frac{\omega p^2}{4\pi\epsilon_0 r^5}$ (Dimension: $\frac{Watt}{s \cdot m^2}$). Die Energie des Nahfeldes breitet sich nicht aus, sondern bleibt an dem Dipol lokalisiert.

Das Dipolmoment sei 1 Debye (= $3.34 \cdot 10^{-30} Cbm$), $\epsilon_0 = 8.8 \cdot 10^{-12} \frac{As}{Vm}$, $\lambda = 500nm$ entspricht $\approx 10^{15} Hz$. Es wird $S \approx 10^{-34} r^{-5}$. Erhöht man den Abstand von 1nm (was etwa der Dimension des Dipols entspricht) auf 5 nm (was etwa dem Försterradius entspricht) so wird die Energie um den Faktor 3000 abgeschwächt. Man kann sich ausrechnen, dass die Intensität des Nahfeldes in 1 nm Abstand etwa so groß ist wie die des Fernfeldes in 1 μm Abstand.

Aufgabe 3: Das Nahfeldmikroskop funktioniert (grob gesagt) ähnlich, wie das Stethoskop mit dem der Arzt Herzgeräuche lokal analysiert. Man bringt den Empfänger so nah an den Sender (der ein Dipolstrahler sei), dass nur die Nahfeldkomponente des Poynting-Vektors registriert wird. Als Empfänger dient z-B. eine ausgezogenen Pipette mit eine sehr kleinen Öffnung, die meist außen verspiegelt ist und das Licht zum Detektor leitet. Das Bild entsteht durch Rastern des Objekt. Daher ist die Methode derzeit nur zur Untersuchung von Oberflächen geeignet. Die Pipette muß dabei im Abstand von 1-10 nm über das Objekt bewegt werden.

Aufgabe 31.8:

Lichteinfang durch eine Thylakoidvesikel.

Wie Abb. 30.3 am Beispiel der bakteriellen Reaktionszentrums zeigt, umgeben die Lichtsammlerkomplexe die Reaktionszentren. Die Situation bei Thylakoid-Membranen ist komplizierter und weniger bekannt. Sie enthalten drei Gruppen von Proteinkomplexen mit hohem Anteil an Chromophoren: Photosystem I, Photosystem II und Cytochromes b/f (s. Abb 31.7). Wir nehmen an, daß die Lichtsammlerkomplexe hauptsächlich das Photosystem II umgeben und etwa 300 Chlorophylle enthalten. Diese absorbieren bei 680 nm und der molare Extinktionskoeffizient sei 70.000 $\frac{L}{Mol \cdot cm}$. Reaktionszentren RZ II bedecken etwa 50 % der Membranfläche und sind im Abstand von 25 nm angeordnet (s. Abb.1 und [1, 2]).

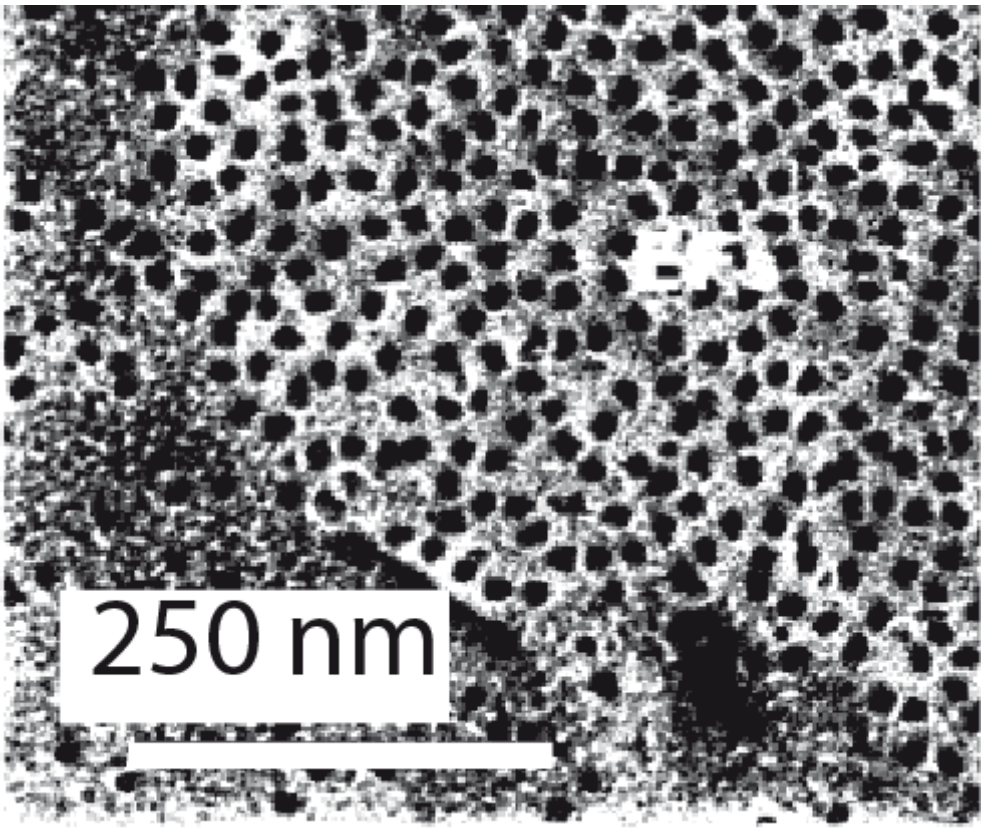


Figure 65: Abb. 1. Anordnung der Photosysteme in Thylakoidmembranen.

Unter der Annahme, dass das Lambert Beersche Gesetz gilt, können wir mit den obigen Angaben die mittlere Konzentration in $\frac{Mol}{L}$ wie folgt abschätzen: Die mittlere Flächendichte der RZ ist $\rho \approx 3 \cdot 10^{17}$ Chlorophylle pro m^2. Das entspricht einer Konzentration in Lösung von $3 \cdot 10^{14}$ Chlorophylle pro Liter, oder $c \approx 5 \cdot 10^{-10} \frac{Mol}{L}$. Mit Gl 38.19 folgt: $\frac{I}{I_0} = e^{-\epsilon c d ln 10} \approx exp{-}0.0001$; oder $\frac{\Delta I}{I} \approx 10^{-4}$. Unter Einsatz von Lasern kann man relative Absorption $\frac{\Delta I}{I} = 10^{-5}$ gerade noch nachzuweisen.

Referenzen:

1 Glick, RE. (1986)Freeze fracture analysis of thylakoid membrane and Photoisystem I and II Enriched fractions of Phormidium laminosum, J. Cell Sd. 80, 57-73 (1986) 57

2 Simpson, DJ.(1984) Freeze-fracture ultrastructure of thylakoid membranes in chloroplasts from

manganese-deficient plants. Plant Physiol. 74: 735 - 741.

Aufgabe 31.9:

Zum photophysikalische Zusammenspiel von Chlorophyll und Carotin.

Antworten zu den Fragen:

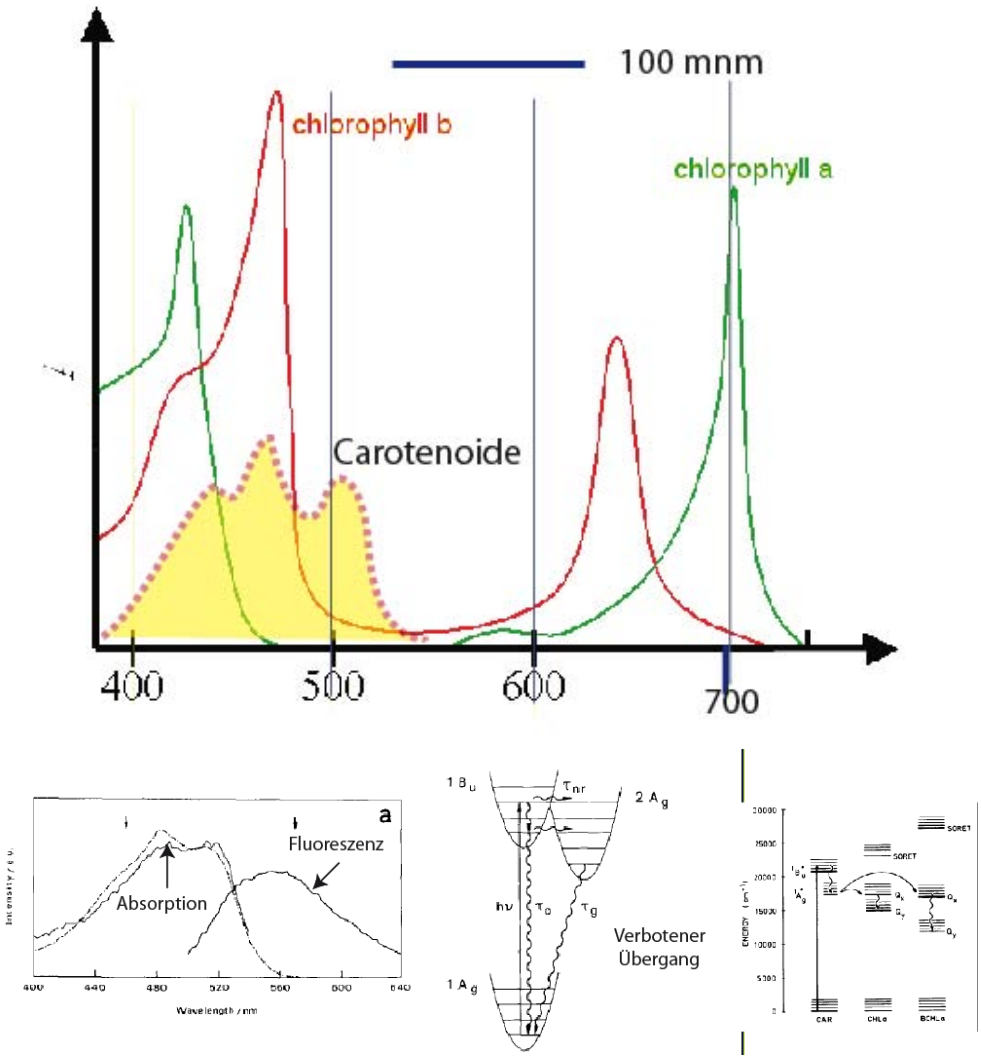


Figure 66: Abb 1: Oben: Vergleich der Absorptionsspektren der Chlorophylle und des β-Carotins. Abb 31.2 zeigt die Spektren bei größerer Empfindlichkeit, so dass man die Schwingungsbanden erkennt. Unten: Vergleich des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums von β-Carotin (nach Gillbro und Gogdell (1989) Carotin fluorescence Chem. Phys. Letters 158: 312-316). Vergleich der Energiezustände von Carotin und Chlorophyllen und des Energietransfers (nach [1] . Ein direkter Nachweis des Energietransfers vom Zustand S2 (1Bu+) des β-Carotins zu Chlorophyll in Photosystem I von Cyanobakterien wurde durch Messung der Lebensdauer das Carotins mit Femtosekunden-Spektroskopie beobachtet. Die Lebensdauer wird durch den Transfer von 150 auf 60 fs, reduziert. [2]

1. Die linke Abbildung zeigt, dass sich die Absorption der Carotine vom Bereich der Soretbande der Chlorophylle bis in das Sichtbare erstreckt. Der langwelligste Übergang ist verboten, wie das mittlere Bild rechts zeigt. Durch die Anordnung der elektronischen Übergänge hilft Carotin beim Einsammeln von Licht und kann die Energie direkt an die Chlorophylle weiter geben. 2. Die Spektren der Carotine und der Chlorophylle zeigen eine ausgeprägte Schwingungsstruktur, wie vor allem Abb. 31.2 zeigt. Zum Vergleich der Energien beachten wir die Umrechnungsfaktoren zwischen der Wellenzahl $\hat{\nu} = \frac{1}{\lambda}$ (die in cm^{-1} angegeben wird) und der Wellenlänge, die in μm angegeben wird:

$$\lambda(nm) = \frac{10^7}{\hat{\nu}} \; ; \; \nu(Hz) = 3 \cdot 10^{10}\hat{\nu} \; ; \; h\nu(eV) = \frac{1}{8065}\hat{\nu}.$$

Die Energien der elektronischen Übergänge liegen bei 2 eV ($\approx$ 600nm), 2.5 eV (500 nm) und 3.3 eV (450 nm). Die Energiedifferenzen der Übergänge zwischen den Schwingungszuständen liegen bei $\Delta\nu \approx 25nm$ oder $\frac{1}{4}eV$.

3. Da die Emissions- und Absorptionsspektren des Carotins symmetrisch angeordnet sind verschiebt sich die Gleichgewichtslage nicht (s. Abb1. Mitte).

Referenzen:

1 Schieferman-Harms D. (1985) Carotenoids in photosynthesis. I. Location in photosynthetic membranes and light-harvesting function. Biochim. Biophys. Acta 811: 327- 355.
2 Weerd et al. (2003) ß-Carotene to chlorophyll singlet energy transfer in the photosystem I core of Synechococcus elongatus proceeds via the ß-carotene S2 and S1 states. J. of Phys. Chem. 107: 5995-6002.

Aufgabe 31.10:

Hybridisierung der C-Atome für Acethylen.

Die Aufgabe lässt sich mit dem in Kapitel 31.A beschriebenen Grundlagen leicht lösen. Im Falle der Dreifachverbindung steht nur ein σ-Elektron für die C-C-Bindung zur Verfügung, während die 2p-Elektronen zwei senkrecht aufeinander stehende π - π-Bindungen bilden können. Die Wellenfunktionen der σ-Elektronen haben die Form:

$$\sigma_{1,2} = \frac{1}{\sqrt{2}}(\psi(2s) \pm \psi(2p_{x,y}))$$

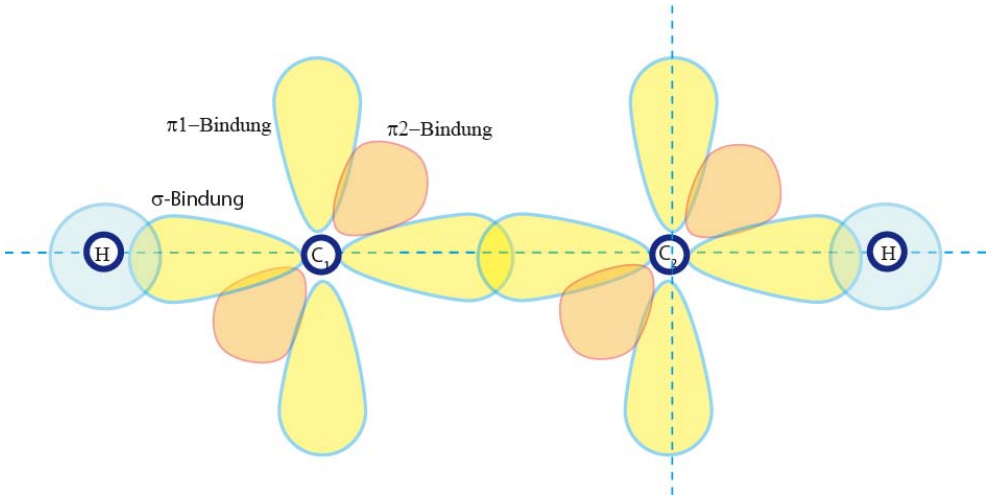


Figure 67: Abb.1 Die Elektronenverteilung der sp-Hybride und der p-Elektronen der C-C-Dreifachbindung.

Es soll aber nochmals erwähnt werden, dass das Konzept der Hybridisierung nur ein Hilfsmittel ist, um Eigenschaften der Moleküle mit Hilfe der einfachen quantenchemischen Modelle, (d.h. der MO-Theorie und dem LCAO-Modell) zu berechnen. In modernen quantenchemischen Methoden wendet man auch häufig die LCAO-Näherung an. Man berechnet die Wellenfunktionen nach der Hartree-Fock Methode, indem man die Wechselwirkung eines Elektrons mit der

mittleren Elektronenverteilung der anderen Elektronen betrachtet. Die Orbitale werden so variiert, dass der Erwartungswert der Energie des Elektronenzustandes einen Minimalwert annimmt. Man benutzt dabei nicht mehr die klassischen Atom-Wellenfunktionen (wie in Aufgabe 31.1) sondern beschreibt die Verteilung Elektronendichte mit Gaußfunktionen. Die Übereinstimmung der berechneten Energiezustände mit den experimentellen Daten wird dabei verbessert. Die in Kapitel 31 beschrieben einfachen Konzepte bleiben jedoch erhalten.

Aufgabe 32.1:

Zum Mittelohr als Signalverstärker.

Man erinnere sich: Die mechanische Erregung wird vom Trommelfell durch die Gehörknöchelchen (Hammer, Amboss, Steigbügelchen) über das ovale Fenster auf die Flüssigkeit des Innenohres übertragen und kehrt durch das runde Fenster in die Eustachische Röhre zurück.

Die Impedanzanpassung erfolgt auf zwei Weisen:

Erstens, durch Erhöhung des Schalldruckes am ovalen Fenster, und zwar aufgrund der Reduktion der Fläche von $F_{TF} \approx 55mm^2$ am Trommelfell auf $F_{OF} = 3.2mm^2$ am ovalen Fenster. Unter der Annahme der Inkompressebilität der Luft in der Eustachischen Röhre und der Endolymphe entspricht dies einer Druckerhöhung um den Faktor 17.

Zweitens durch die Hebelwirkung des Knöchelsystems: Hammer-Amboss-Steigbügel, was einer Druckerhöhung um den Faktor 1.3 entspricht.

Insgesamt resultiert so eine Druckerhöhung um den Faktor 22. Dies entspricht einer wirksamen

Impedanz der Cochlea von Z = 200. Das Reflexionsvermögen wird auf 40% reduziert. Die Impedanzanpassung ist bei tiefen und hohen Frequenzen wesentlich schlechter und dieser Faktor bestimmt teilweise die Hörgrenzen.

Eine wichtige Rolle bei der Unterdrückung großen Lärms spielen die Muskeln im Mittelohr [1]. Die Abschwächung setzt bei einem Schallpegel von 75 dB ein. Ein Muskel (musculus tensor tympani) steht mit dem Hammer in Verbindung und spannt das Trommelfell. Man nimmt an , dass dies der kleinste Muskel des Menschen ist. Der zweite Muskel (musculus stapedius) kann die Platte des Steigbügels im ovalen Fenster verkannten. Vor allem der letzte Muskel schwächt die Ankopplung des Schalls an das Trommelfell ab, und zwar bis zu 40dB. Ein weiterer Zweck der Mittelohrmuskels ist die Unterdrückung der Gehörempfindlichkeit während des Sprechens. Die Reduktion der Schallankopplung an das Trommelfell erfolgt mit einer Verzögerung von 40-80 ms. Sehr schnelle Lärmbelastungen (z.B. Explosionen) können aufgrund der Verzögerung nicht unterdrückt werden und so zur Schädigung der Basilarmembran führen.

Referenz:

Borg, E. und Coun ter, SA. (1989) Die Muskeln des Mittelohrs als Schalldämpfer. Spektrum der Wissenschaft October1989 128-134.

Aufgabe 32.2:

Wie Bekesy auf die Idee mit den Wanderwellen kam.

Man lernt in der Einführung in die Physik der Schwingungen einer Feder, dass die Phasenverschiebung zwischen $\Phi = 0$ und $\Phi = 2\pi$ ändern kann. Die Auslenkung der Feder durch eine periodische Kraft $F = F_0 cos\omega t$ folgt mit einer Phasenverschiebung gemäß $x = Acos\omega t + \Phi$. Die

Phasenverschiebung gehorcht der Gleichung $tan(\Phi) = \frac{2\omega\Gamma}{\omega_0^2-\omega^2}$, d.h. Φ variiert von 0 (für $\omega \to \infty$) bis ∞ für $\omega = \omega_0$ und folgt einer universellen monoton verlaufenden Kurve: $tan(\Phi)\ \omega$.

Nehmen wir an, die Phasenverschiebung sei durch die Viskoelastizität der Basilarmembran (BM) bestimmt, dann ist die Phasenverschiebung gegeben durch $tan(\Phi) = \frac{G''}{G'}$, wobei G' der elastische Modul und G" die Verlustmodul ist, die beide in komplizierter Weise von der Frequenz abhängen können, wie wir im Kapitel 26 sahen. Mit der in Abb.1 gezeigten, genial einfachen Experiment fand Bekesy zwei besondere Verhaltensweisen, die zeigten, dass das Helmholtz-Resonatormodell falsch sein muss.

1) Die Phasenverschiebung der Erregung der BM gegenüber der Stapes-Anregung ist für hohe Frequenzen (d.h. nahe am Stapes) sehr klein und steigt oberhalb der Frequenz maximaler Erregung (der Bestfrequenz) sehr stark an. Das ist mit dem Resonatormodell nicht zu erklären.

2) Das zweite Argument war die Beobachtung. dass die Erregung wie eine Seilwelle vom Stapes zum Helicotrema läuft, wobei die Position der maximalen Auslenkung der BM mit abnehmender Frequenz vom Stapes zum Helicotrema zunimmt.

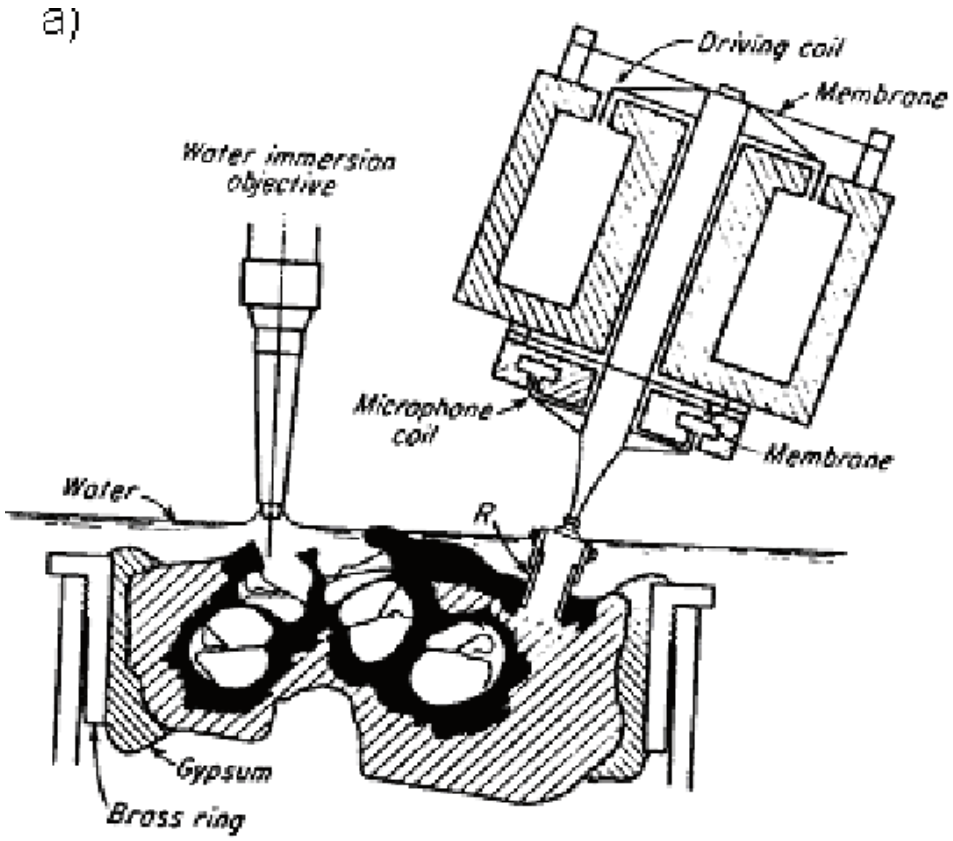


Figure 68: Abb.1: (a) Das klassische Experiment von Bekesy. Die Erregung erfolgte über das runde Fenster mit einem Mikrophon. Beobachtet wurde die Schwingung der Reissnerschen Membran und nicht der Basilarmembran. Glücklicherweise zeigte sich später, dass dies trotzdem zuverlässige Daten liefert.

Aufgabe 32.3:

Anwendung einer kernphysikalischen Methode in der Physiologie.

Wie im Kapitel 32.5 ausführlich beschrieben wurde, hat die Physik des Hörens durch die Messung der Erregung der Basilarmenbran durch den Mössbauereffekt, die W.S. Rhode 1971 gelang (s. [1] und [2]) die moderne Physik des Hörens eingeleitet. Es ist lohnenswert, sich dieses

historische Experiment genauer anzusehen, zumal es zeigt, wie man mit kernphysikalische Methoden Probleme der Biologischen Physik lösen kann.

Unter dem Mössbauereffekt versteht man die rückstoßfreie Emission von γ-Quanten durch angeregte Kernzustände, so dass die Linienbreite der emittierten Photonen allein durch die Lebensdauer τ des angeregten Zustandes (typischerweise $10^{-7}s$) bestimmt ist. Die Linienverbreiterung aufgrund des Dopplereffekts frei diffundierender Kerne ist um fast zwei Größenordnungen größer, als die natürliche Linienbreite. Mössbauer entdeckte, dass man die Dopplerverbreiterung durch Einbau der Kerne in Kristallgitter unterdrücken kann, da dann der ganze Kristall den Impuls aufgrund des Rückstoßes des Kerns aufnimmt. Dadurch können die von einem Kern ausgesandten γ-Quanten von einem zweiten absorbiert werden. Diese Resonanzabsorption kann man ausnutzen, um sehr kleine Geschwindigkeiten zu messen (s. Abb.1). Ein Beispiel ist die Messung der Rotverschiebung des Lichts im Gravitationsfeld, ein anderes die Messung der Dynamik der Proteine [1]. Die von A absorbierte Energie hat die Form einer Lorentzlinie mit der Breite f_0, falls A und E ruhen und f, falls sie sich gegenseitig mit der Winkelgeschwindigkeit Ω bewegen.

$f_0 \propto \frac{1}{\omega^2+\frac{2\pi}{\tau}}$ $\qquad$ $f \propto \frac{1}{\omega^2+\Omega^2}$ (1)

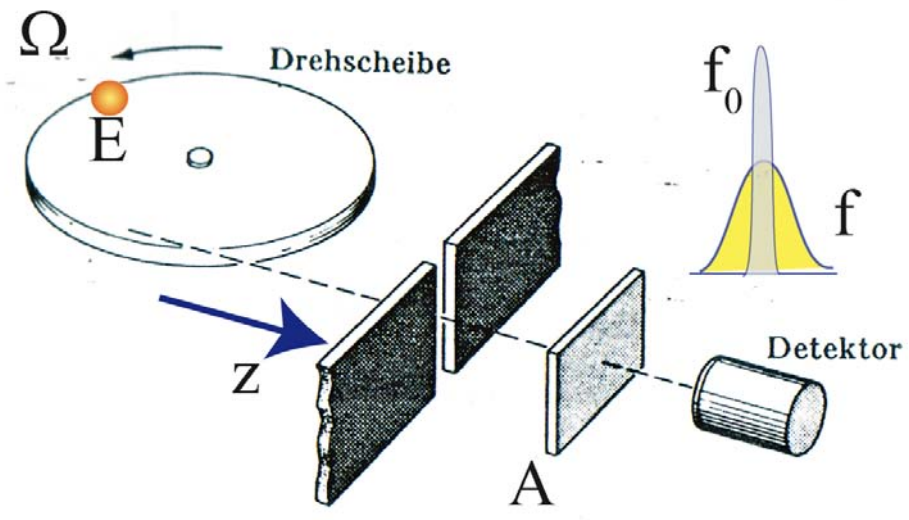


Figure 69: Abb.1: Zur Messung der Geschwindigkeit mit dem Mößbauereffekt. Der Emitter E (z. B. ^{57}Fe) rotiert mit der Drehscheibe. Der ruhende Absorber kann daher nur maximal absorbieren, wenn $\vec{U_E}$ senkrecht zur z-Achse steht. Die Absorption durch den Absorber hat die Form einer Lorentzlinie.

Das Experiment von Rhode: Für die benutzte Quelle/Absorber-Kombination ergibt sich eine negative Lorentz-Linie, wenn man die Zählrate g(v) (d.h. die nicht von A absorbierte Strahlung) als Funktion der Geschwindigkeit v aufträgt:

$g(v) = 1 - \frac{1-f}{1+(\frac{2v}{\Gamma})^2}$ (2)

Dabei ist f ein Maß für den relativen Mößbauereffekt (s. [2] Appendix A). Es wird $g(v) = f$ für $v = 0$ und $g(v) = 1$ für $v \to \infty$. Die für das Quelle/Absorber-Paar charakteristischen Konstanten g und f können in einem separaten Experiment bestimmt werden.

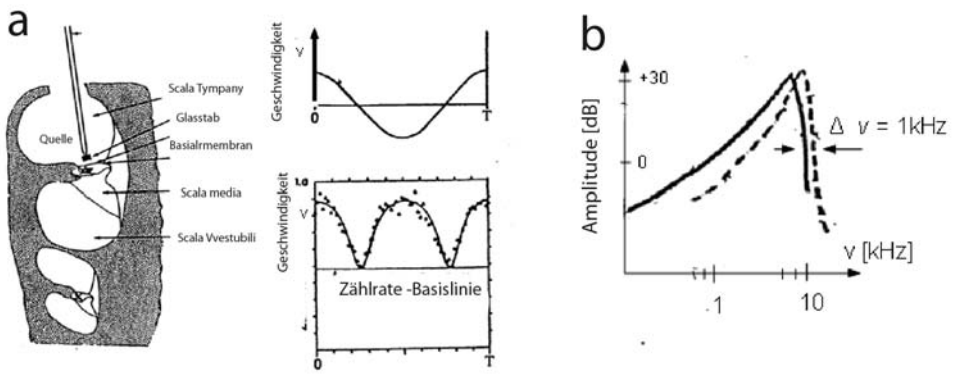


Figure 70: Abb 2: Experiment von Rhode [2].Als Quelle dient ^{57}Co, die auf die Basilarmembran aufgebracht wurde. Dazu wurde die Cochlea so aufgebohrt, dass die auf ein $40 \cdot 50\mu m$ großes Stahlplättchen aufgebrachte Quelle durch die Scala Tympani eingeführt werden konnte. Die Lymphflüssigkeit wurde durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Erregt wurde die Basilarmembran durch ein auf der Oberfläche des Trommelfells sitzendes Mikrophon

In Abbildung 2 sind zwei solcher Lorentzkurven zu sehen. Sie sind etwas verzerrt, da die Geschwindigkeit kosinusförmig variiert. Ist die Schwingung der Basilarmembran an einem bestimmten Ort von der Form $x = x_0 sin(\omega t)$,so wird $v = x_0 \omega cos(\omega t)$. Das Maximum der normierten Zählrate liefert die maximale Geschwindigkeit $v_0 = x_0 \omega$. Bei Kenntnis von f und Γ erhält man die Amplitude $x_0 = \frac{v_0}{\omega}$.

Wichtige Erkenntnisse aus dem Experiment: Zwei typische Resonanzkurven der Basilarmembran zeigt Abb. 2b. Sie wurden an zwei Punkten aufgenommen, die ca. 1.5 mm voneinander entfernt sind. Die zu höheren Frequenzen verschobene Kurve entspricht dem näher am ovalen Fenster liegenden Punkt. Die Resonanzkurven sind asymmetrisch und fallen zu höheren Frequenzen hin steil ab. Dadurch wird die Frequenzauflösung verbessert.

Ein erstaunliches Ergebnis war folgendes: Die maximale Amplitude bei der im Experiment benutzten Lautstärke betrug $x_0 = 500$Å. Extrapolierte man die Ergebnisse der Experimente zu sehr kleinen Frequenzen, so folgte bei 0 dB (d.h. an der Hörgrenze und bei 1000 Hz) eine Ampli-

tude von $x_0 = 5 \cdot 10^{-4} nm$. Da klar war, dass solche Amplituden im Rauschen verschwinden, suchte man nach einem verborgenen Verstärkermechanismen, der durch die Äußeren Haarzellen vermittelt wird, wie wir heute wissen.

Referenzen:

1 Parak, F. (1985) Strukturfluktuationen in Proteinen. Physikalische Blätter 41: 396
2 Rhode, W. S. (1971) Observations of the Vibration of the Basilar Membrane in squirrel Monkeys using the Mössbauer Technique Journal of the Acoustical Society 49: 1218
3 Robles, L., Ruggero,MA. (2001) Mechanics of the Mammalian Cochlea Physiological Review 81: 1305-1352

Aufgabe 32.4:

Heterodyn-Interefrometrie: eine moderne Methode zur Beobachtung der BM-Schwingungen mit nm Genauigkeit.

Die Methode funktioniert analog zur dynamischen Lichtstreuung mit dem Heterodyn-Verfahren. Man überlagert das vom Objekt (der BM) reflektierte Licht mit einem Referenzstrahl. Um die (unbekannte) Schwingung des Objekts zu analysieren, wird die Frequenz eines Strahls in definierter Weise moduliert. Dazu benutzt man häufig stehende Schallwellen, sog akusto-optische Modulatoren, wie Debye-Sears Zellen. Durch Bragg-Streuung wird die Frequenz des Lichts mit der Schallfrequenz moduliert, wobei die Modulation von der Ordnung des reflektierten Strahls abhängt.

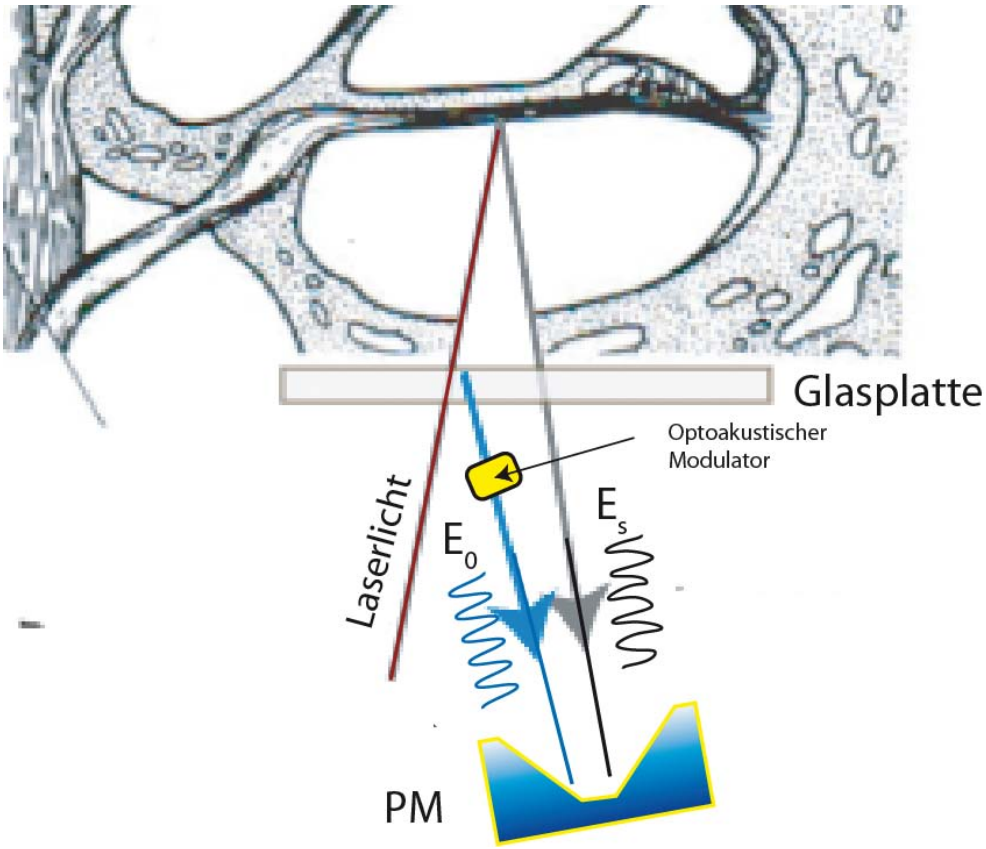


Figure 71: Abb.1: Zur Messung der BM-Schwingung mittels Hetero-Lichtstreuung. Die Anregung erfolgt mit Laserdioden über die Skala Tympani. Das von der Abdeckplatte ($E_0(t)$)und der Basilarmembran ($E_S(t)$) reflektierte Licht wird im Detektor (Photopmultiplier oder CCD Kamera) überlagert. Zur Erhöhung der Reflektivität der BM wurde auf dieser Goldkügelchen deponiert und der Laserstrahl auf diese fokussiert [2],[3]. Zur Messung der Amplitude der BM und der Phasenverschiebung wird das Referenzlicht ($E_0(t)$)durch einen optischen Modulator(OM) kontrolliert. Der Strom am Ausgang ist proportional zum Quadrat der elektrischen Feldstärke $E(t) = E_S(t) + E_0(t)$. Da der Detektor als Tiefpassfilter wirkt, sind die Stromfluktuationen nur durch die langsamen zeitlichen Fluktuationen bestimmt. In der Regel bestimmt man die Korrelationsfunktionen des Stromes $< i(t)i(t+\tau) >$ oder deren Frequenzspektrum.

Die vibrierende BM erzeugt eine Dopplerverschiebung $f_r = \frac{2\vec{U}(t)}{\lambda} cos(\alpha)$. α ist der Winkel zwischen Laserstrahl und dem Geschwindigkeitsvektor $\vec{U}(t)$. Die Frequenz des Mess- und des Ref-

erenzstrahls sind: $f_0 = f_0 + f_d$ und $f_o + f_{BM}$.

Der Detektor fungiert als Tiefpassfilter. Der Strom am Ausgang des Detektors hat daher die Form:

$$i(t) propto |E_0 + E_r|^2 = (sin((f_U + f_S)t) \cdot sin((f_0 + f_{BM})t))^2 \approx cos^2((f_U + f_{BM})t)$$

Die Fourieranalyse liefert die Amplitude U_0 der Geschwindigkeit der BM. Daraus erhält man wie im Fall der Mössbauer-Methode die Amplitude aus $U_0 = x_0\omega$.

Regt man die Cochlea und den Modulator mit einer definierten Frequenz f_{BM} und Phase Φ an, so kann man die Phasenverschiebung zwischen Erregung und der Schwingung der BM bestimmt werden, indem man die Phase des akustooptischen Modulators in definierter Weise variiert.

Eine andere Methode besteht darin, den auf die BM fallende Welle mit Hilfe des opto-akustischen Modulators zu modulieren und mit dem Referenzstrahl zu überlagern. Dann besteht das Fourierspektrum am Detektor aus einer Trägerfrequenz fr die durch die Schwingung des Objekts moduliert ist (s. Wikipedia 'Akusto-optischer Modulator').

Referenzen:

1 Robles, L., Ruggero,MA. (2001) Mechanics of the Mammalian Cochlea Physiological Review 81: 1305-1352

2 Cooper NP. (1999)An improved heterodyne laser interferometer for use in studies of cochlear mechanics. J Neurosci Methods 88: 93-102

3 Cooper, NP., Rhode, WS. (1992). Basilar membrane mechanics in the hook region of cat and guinea-pig cochleae: Sharp tuning and nonlinearity in the absence of baseline position shifts. Hearing Research 63, 163-190.

Aufgabe 32.5:

Definition des akustischen Wellenwiderstands.

Eine Ableitung der Gleichung für den Wellenwiderstand Z findet man im Anhang 'Zur Physik des Schalls' zu diesem Buch oder in §64 von [1]. Man kann Z aber auch auf einfachere Weise ableiten, indem man von der allgemeinen Eigenschaft der Wellenausbreitung in elastischen Medien ausgeht. Zur Berechnung der Intensität betrachten wir die Auslenkung $x = x_0 cos(\omega t)$. Die kinetische Energie pro Volumen ist:

$E_k = \frac{1}{2}\rho_0(\frac{\partial x}{\partial t})^2 = \frac{1}{2}\rho_0\omega^2 cos^2(\omega t + \frac{z}{\lambda})$.

Daraus erhält man für die mittlere kinetische Energie $\bar{E}_k = \frac{1}{4}\rho_0\omega^2 x_0^2 = \frac{1}{4}\rho_0 v_0^2$

, da der zeitliche Mittelwert von $cos^2(\omega t) = \frac{1}{2}$ ist. Nun sind bekanntlich die Zeitmittelwerte der kinetischen und potentiellen Energie einer Welle gleich und daher ist die mittlere Energie $\bar{E} = \bar{E}_k + \bar{E}_{pot}$. Die Intensität ist daher:

$\bar{I} = \frac{1}{2}c\rho_0 v_0^2$
(1)

Der Wellenwiderstand der Schallwellen ist wie folgt definiert: $v(t) = \frac{\delta p(t)}{Z}$. Die Größe $Z = \frac{\delta p}{v}$ ist ein Maß für den Widerstand, der bestimmt, wie groß die von einer Druckfluktuation erzeugte Geschwindigkeit im Medium ist. Eine längere Ableitung unter Ausnutzung der Euler Gleichung und der Kontinuitätsgleichung liefert $v = \frac{\delta p}{\rho_0 c}$ und damit:

$Z = \rho_0 c$

Man sieht leicht ein, dass der Schall nur dann ungestört von einem zum anderen Medium übergeht, wenn das Verhältnis $\frac{\delta p}{v}$ konstant bleibt. Diese Situation hat man im Fall der Fische

und diese benötigen daher keine komplizierte Impedanzanpassung.

Referenz: [1] Landau LD., Lifshitz EM. Lehrbuch der Biophysik Hydrodynamik §64

Aufgabe 34.1:

Modell der Preston getriebenen Elektromobilität.

Zur Einführung betrachten wir zunächst die Struktur der Zellhülle der OHZ, die (wie im Text erwähnt) eine erstaunliche Ähnlichkeit mit den Schalen der Erythrozyten aufweist. Die Zelle ist jedoch stark polarisiert (mit einem Apexverhältnis von $80\mu m/10nm$). Die Aktinfilamente lagern sich im Abstand von etwa 50 nm ringartig (entlang des Umfangs) an der Innenseite der Plasmamembran an, während sie in der Längsrichtung durch Spektrinfilamente (im Abstand von ca. 40 nm) verknüpft sind (s. [2] und [3]). Dieser entspricht etwa der Länge der Spektrin-Monomere (s. Kapitel 9). In der Nähe der Haare sind die Aktinringe um ca 20% dichter gepackt. Die Spektrinfilamente sind flexible Polymere (Persistenzlänge einige nm) und daher kann das Zytoskelett und die Zelle leicht in Längsrichtung deformiert (um ΔL) werden. Die Biegesteifigkeit von F-Aktin ist 1000 mal größer und daher kann man mit einiger Sicherheit annehmen, dass der Durchmesser der Zellen sich wenig ändert. Da das Zytoplasma inkompressibel ist ($V = const$), muss die Änderung der Fläche $\Delta A = 2\pi R\Delta L$ durch die Dehnung entstehen.

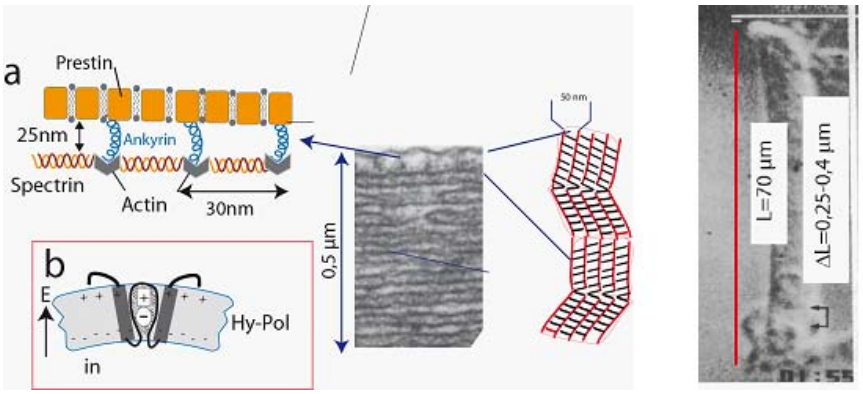


Figure 72: Abb. 1: Links: Zur Mikroarchitektur der OHZ. a) Struktur und Dimensionen des Spektrin-Aktin Zytoskeletts. b) Modell der Dehnung der Membran durch Eindringen der -Helix in die Lipiddoppelschicht. Die EM-Aufnahme stammt aus der Arbeit von Holley et al. [1].Rechts: Zu wichtigen Längenskalen der OHZ der Meerschweinchen

Die Berechnung der Flächenänderung und der Dehnungskraft: Die Flächendichte der Prestin-motoren ist $n = 6 \cdot 10^{12}$ Motoren pro m^2. Die Fläche pro Motor ist dann $a_P = 0.15 \cdot 10^{16} m^2$. Die relative Änderung der Fläche aufgrund des Eindringens der α-Helix in die Membran ist $\frac{\Delta a_P}{a_P} \approx 1.25 \cdot 10^{-2}$.Mit dem Flächen-Kompressionsmodul $K = 0.7\frac{N}{m}$ wird ein lateraler Druck von $\Delta\pi = K\Delta a_P \approx 7\frac{mN}{m}$ erzeugt. Damit wird die Kraft pro Zelle mit dem Radius $F = 2\pi R\Delta\pi \approx 0.25nN$ (mit $R = 5nm$).

Zusätzliche Betrachtungen: Typische Längenänderungen L der Zellen bei mechanischen Deformationen sind $\Delta L = 0.3 - 0.5\mu m$ ([1], s. auch Abb.1 rechts), Die gesamte Fläche der Zellen ist $A \approx 2000\mu m^2$. Mit 6000 Prestinen pro μm^2 wird die Gesamtzahl der Motoren $N \approx 10^7$. Mit $\Delta a = 2nm^2$ wird die gesamte Flächenänderung $\Delta A \approx 2.4 \cdot 10^7 nm^2$ und die Längenänderung bei konstantem Durchmesser $\frac{R}{2}$ der Zelle $\Delta L = \frac{\Delta A}{U} = 0.8\mu m$. Dies Ergebnis stimmt mit der Beobachtung recht gut überein. Man kann über die Beziehung $F = k\Delta L$ auch eine Kraftkonstante der Zelle definieren. Mit den obigen Werten wird $k\ 5 \cdot 10^{-3}\frac{N}{m}$. Nach Ashmore muss $k > 10^{-4}\frac{N}{m}$ sein.

Referenzen:

1 Holley et al (1992) Structure of the cortical cytoskeleton in mammalian outer hair cells. J cell science 102 56)-580

2 Ashmore J. F. (1987)A fast motile response in guinea-pig outer hair cells: the cellular basis of the cochlear amplifier Journal of Physiology 388:323-347

3 Wada et al. (2004) Imaging of the cortical cytoskeleton of guinea pig OHZ–Hearing Research 187 51-62

Aufgabe 34.2:

Die dynamische Struktur der Stereocilien.

Zu den größten Wunderwerken der biologischen Evolution gehören die Mechanosensoren des Innenohrs, die man als Weiterentwicklung der Antennen der Insekten betrachten kann. Betrachtet man den komplexen Aufbau der Stereocilien in Abb. 34.5, so ist man besonders überrascht, dass die innere Struktur der Stereocilien ständig erneuert wird. Möglicherweise ist dies notwendig, um die verschiedenen Längen der Reihen von Cilien einzustellen. Die Dynamik wurde in eleganten Experimenten von Rzadzinska et al bewiesen [1].

Die Struktur der Stereocilien wurde in Kapitel 34.5 ausführlich beschrieben und das Bild soll hier etwas erweitert werden:

Die Cilien werden durch Bündel aus 200-300 Aktinfilamenten gebildet, die durch den Bündel bildenden Vernetzer Espin stabilisiert werden. An der Spitze sind die plus-Enden der Aktine mit der Membran verbunden, während die minus-Enden der Bündel einige hundert nm in ein dicht vernetztes Aktin-Gel (die Kutikula oder engl. cuticle) eintauchen.

Die Verbindung mit der Membran an der Spitze kann durch das Motorprotein Myoin XV vermittelt werden. Diese besitzt (wie Talin oder Bande IV) eine FERM-Domäne, mit der es an zytoplasmatische Domänen von Zellrezeptoren (z.B. Cadherine) andocken kann. Ein zweites Motorprotein mit einer FERM Domäne, Myosin VII, wird vor allem im mittleren Bereich der Cilien bobachtet. Die Bindung an die Membran erfolgt durch Kopplung an die zytoplasmatische Domäne eines ZAM der Cadherin-Familie (Cadherin 23), unter Vermittlung des Gerüstpropteins Harmonin. Myosin VII kann so die Cadherine an die Spitze der Cilien transportieren, wo sie z. B. die Bindung zwischen Cilien vermittelt.

Am unteren Ende der Haare werden die Aktinbündel über das Motorprotein Myosin VI an der Membran oder das Aktingel gekoppelt. Myosin VI ist ein Dimeres mit zwei Motorköpfen (s. Abb.1) die zum minus-Ende der Bündel laufen. Es könnte daher z.B. eine rücktreibende Kraft erzeugen, welche die Länge der Cilien limitiert.

Mutationen von Espin verkürzen die Cilien und machen sie weich. Mutationen in MyoXV reduzieren die Länge der Cilien. Mutationen in Myo VI führen zur Verschmelzung der Cilien. Da Myo XV und Myo VI in entgegen gesetzte Richtung laufen erzeugen sie eine Membranspannung.

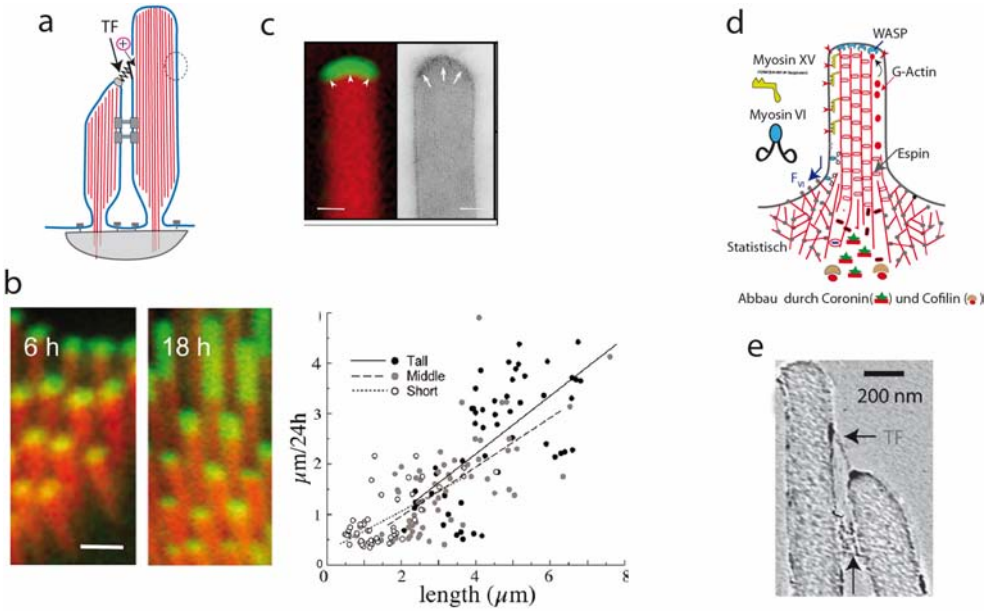


Figure 73: Abb1: a) Zur Erinnerung an die Architektur der Stereocilien und deren Verankerung in der Kutikula an der Basis. b) Links: Demonstration des Einbaus des GFP-markierten β-Aktins an der Spitze der Aktinbündel. Man beachte die Verbreiterung der Front von frisch eingebautem Aktin als Funktion der Zeit. Rechts: Die Darstellung der Einbaugeschwindigkeit des Aktins als Funktion der Länge zeigt, dass diese mit zunehmender Länge linear zunimmt. Dadurch bleibt das Längenverhältnis der drei Reihen von Cilien der Haarzelle erhalten. c) Beobachtung der Verteilung von MyoXV an der Spitze der Cilien mittels Immunofluoreszenztechnik. Die Markierung erfogte mittels fluoreszenzmarkierter Antikörper gegen Myo XV. d) Modell der molekularen Struktur der Cilien und Verteilung der Motoren. Am unteren Ende wird der Abbau von Aktin durch Abspaltung von G-Aktin mit Cofilin und von F-Aktinfragmenten durch Coronin gezeigt (modifiziert nach A. Zidovska und E. Sackmann Biophys J in Press). e) EM-Aufnahme der lateralen Verbindung zwischen zwei Haare (nach Abb. 34.5). Diese können durch die Komplexe aus Myosin VII, Harmonin und Cadherin gebildet werden.

Die Experimente wurden mit Haarzellen von 7 Tage alten Ratten durchgeführt. In einem ersten Schritt wurde Aktin (zur Beobachtung allgemein mit Rhodamin-Phalloidin markiert. Im zweiten Schritt wurde mittels Gen-Transfektion die mit GFP markierte β-Isoform von Aktin in

der Zelle exprimiert. Wie Abb. 1b zeigt wird die Sonde laufend an der Spitze der Cilien eingebaut. Die Front der grün fluoreszierenden Aktinbündel verbreitert sich und wandert im Verlauf von 48 h nach unten. Die Verteilung des Vernetzers Espin bleibt erhalten. Das Experiment zeigt, dass Aktin ständig an die plus-Enden angedockt wird. Da die Länge der Cilien konstant bleibt, müssen die minus-Enden im gleichen Rhythmus abgebaut werden. Man hat es also mit einem Tretmühlenprozess zu tun, den wir bei der Pseudopodienbildung kennen gelernt haben.

In einem weiteren Experiment wurde auch der Bündelbildner Espin mit GFP markiert, um dessen Einbau zu beobachten. Auch Espin wird laufend an der Spitze eingebaut und wandert mit ähnlicher Geschwindigkeit wie das GFP- β-Aktin zur Basis der Cilien.

Abb 1c zeigt ein anderes wichtiges Ergebnis. Die Einbaurate des Aktins ist umso größer, je länger die Cilien sind. Auf diese Weise wird erreicht, dass die unterschiedliche Länge der drei Reihen von Cilien erhalten bleibt, d.h. die Amphitheaterartige Anordnung der Cilien bleibt erhalten). Die schnellste Einbaurate ist 0.04 G-Aktine pro s. Sie ist etwa 100 mal langsamer, als die Einbaurate des Aktins in normalen Filipodien, deren Aktinbündel nur aus 30 Filamenten bestehen.

Zur mechanischen Stabilität der Stereocilien: Wie wir in Kapitel 18.6 sahen, kann durch das Wachstum der Aktinbündel an der Front eine Kraft von 1pN pro Filament erzeugt werden, d.h. insgesamt 300 pN. Der Durchmesser der Cilien ist etwa 200 nm, was einer Membranspannung von $\sigma_M \approx 0.3\frac{mN}{m}$ entspricht. Diese Spannung kann durch Myo XV verstärkt werden, das an der Spitze angelagert ist, wodurch ein elektronendichter Komplex entsteht, den man im EM beobachten kann (s. Abb 1c). Dieser Komplex spielt für die Kontrolle der Länge der Cilien eine wichtige Rolle. Entfernt man Myo XV, so werden die Cilien sehr kurz und der Komplex an der Spitze verschwindet.

Eine interessante Rolle spielt auch Myosin VII. Es bindet mit seiner FERM-Domäne an die intrazelluläre Segmente von Cadherinen und zwar zusammen mit einem Strukturprotein Harmonin. Daher kann Myo VII die Cadherine in Richtung der Spitze transportieren und die laterale Kop-

plung zwischen den Cilien über Cadherine vermitteln. Wie wir in Kapitel 34 sahen, sind diese Verbindungen für die Öffnung der Ca-Kanäle aufgrund der Verbiegung der Härchen zuständig.

Eine wichtige Frage ist auch: Wozu dient die ständige Erneuerung der Cilien? Es hat sich gezeigt, dass starke Schallpegel zu Brüchen in den Aktinbündeln führen können, die jedoch langsam (im Verlauf von Tagen) wieder ausheilen. Die Experimente von Rzadzinska et al. zeigen, dass die Cilien von der Spitze her wieder vollständig erneuert werden.

Zur Transfektion der Zellen: Darunter versteht man den Transfer von fremder DNA in Zellen. Wir hatten im Kapitel 36.2 schon darauf hingewiesen, dass man die DNA über Partikel aus positiv geladenen Lipiden oder Polymere in die Zelle schleusen kann. Im Fall der Experiment mit Haarzellen wurde die DNA auf Goldpartikel deponiert.

Harmonin ist ein in fast allen Zellen vorkommendes Gerüstprotein. Es vermittelt die Bindung von Proteinen an die intrazelliuläre Domäne von Adhäsionsmolekülen, wie Cadherin in Sinneszellen [3]. Im Fall der Haarzellen vermittelt Harmonin die Verbindung zwischen Myosin VII und Cadherin. Schließlich kann die zytoplasmatische Domäne und Harmonin auch über das Phosphoinositide PI-4,5-P2 an die Membran binden.

Referenzen:

1 Rzadzinska, AK, et a1. (2004) An actin molecular treadmill and myosins maintain stereocilia functional architecture and self-renewal, Journal of Cell Biology, 164: 887-897

2 Wei Feng Unique features of myosin VI: a structural view. Frontiers in Biology 5: 204-210

3 Hoos, S. et al. (2010) Cadherin-23, myosin VIIa and harmonin, encoded by Usher syndrome type I genes, form a ternary complex and interact with membrane phospholipids. Human Molecular Genetics, 1-9

Aufgabe 35.1:

Wie man ebene Kristalle durch Kombinationen von Disklinationen aufrauen kann.

Vorbemerkung und Definitionen: Versetzungen und Disklinationen spielen in der Natur immer dann eine wichtige Rolle, wenn flüssig-kristalline Filme (wie Membranen) und zweidimensionale Kristalle gekrümmt werden müssen, Beispiele sind die Bildung von Vesikeln aus Lipiden in einer Gel-Phase (P_β und L_β, Kapitel 10 bis 12) und die Schalen der Viren. Disklinationen spielen eine besonders wichtige Rolle, wenn die Lipidketten gegenüber der Membrannormale geneigt sind, wie im Fall der P_β- Phase (siehe auch [4]). Wie im Kapitel 12.3 gezeigt wurde, können Disklinationen oder andere Defekte enzymatische Reaktionen in Biomembranen kontrollieren.

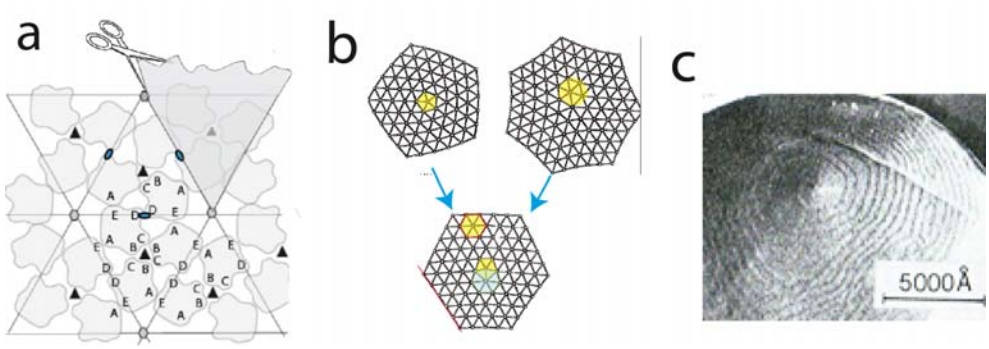


Figure 74: Abb.1: a) Erzeugung von ±60°Disklinationen durch Ausschneiden bzw. Einfügen von 60°-Keilen. b) Oben: Form eines ebenen Kristalls mit einer -60°(links) und einer +60°Disklination (rechts). Die Bilder stammen aus der Arbeit von Seung und Nelson [1]). Sie zeigen, dass die Kristallplättchen nach der Vereinigung der Ränder der Schnitte stark deformiert werden. Die Kristallebenen werden stark nach außen oder innen gebogen. Das untere Bild zeigt anschaulich, dass die Deformation der Kristallebenen (und damit der elastische Energieaufwand) wesentlich reduziert wird. c) Bildung von Schraubenversetzung in einem Vesikel im kristallinen Zustand L_β (s. Kapitel 10. 2). Man beachte, dass die Spitze die Form eines Zwiebelturmes hat. Ursache ist Neigung der Ketten gegenüber der Membran-Normalen [2]. Durch Bildung der Hutspitze ändert sich die Orientierung der Lipidketten kontinuierlich.

Unter Versetzungen (engl. dislocation) versteht man Defekte in der Ordnung der Positionen der Moleküle oder Atome. In einem 2D-Kristall mit hexagonaler Gitterstruktur erzeugt man z.B. eine Stufenversetzung durch Einschub einer zusätzlichen Kristallebene (s. Abb. 1b unten).

Unter Disklinationen in 2D-Kristallen versteht man Störungen in der Orientierung der Kristallebenen (wie in Abb. 1b oben gezeigt). Der Begriff kommt eigentlich aus der Physik der Flüssigkristalle, deren molekulare Ordnung durch die mittlere Orientierung der Moleküle (den 'Direktor') bestimmt ist. In diesem Fall versteht man unter Disklinationen die abrupte Änderung der mittleren Molekülorientierung wenn Bereiche verschiedener Richtungen des Direktors aneinander stoßen. Sie sind mit einem Aufwand an elastische Energie verbunden.

Wie in der folgenden Aufgabe gezeigt wird, ist der Aufwand an elastischer Energie zur Bildung von Disklinationen in 2D-Kristallen sehr hoch und wächst mit der Größe des Kristalls stark an. Wie Abb. 1b anschaulich zeigt, kann diese Energie durch Bildung von Paaren von +60 °- und -60 °- Disklinationen wesentlich reduziert werden, unter Erhalt der ebenen Struktur. Man erkennt leicht, dass ein solches Paar mit einer Stufenversetzung identisch ist.

Eine andere Möglichkeit ist die in Kapitel 35 ausführlich beschriebene Bildung gekrümmter Kristalle. Durch Kombination von Disklinationen verschiedener Vorzeichen entstehen wellenförmige Oberflächenprofile (s. Abb. 35. 7). Je höher die Zahl solcher Paare von Disklinationen ist, umso flacher kann eine makroskopische Platte werden. Man beachte auch, dass man von den ebenen Kristallen mit vielen Stufenversetzungen zu rauen Platten übergehen kann, indem die Paare von Disklinationen der Versetzungen disoziieren [1].

Paare von Disklinationen verschiedener Vorzeichen haben große Ähnlichkeit mit elektrischen Dipolen.

Referenzen:

1 Seung H.S. Nelson D.(1988) Defects in flexible membranes with crystalline order. Phys. Rev, A 38: 1005-1018.

2 E.Sackmann 'Physical basis of self organization and function of membranes. Physics of vesicles. in Handbook of Biological Physics' Ch.V,(eds. R. Lipowsky und E. Sackmann. Elsevier Amsterdam 1995.

Gebhardt, C., Gruler, H., Sackmann, E. (1977) On domains structure and and local curvature of lipid bilayers. Zeitschrift für Naturforschung 32.c: 581-596

Rüppel, D., Sackmann, E., (1983) On defects in different phases of two-dimensional lipid bilayers. J. de Physiques 44: 1025-1034

Aufgabe 35.2:

Vergleich der Energien von Disklinationen und Versetzungen-Hexatische Phasen.

Einleitung: Die Versetzungen werden durch den Burgersvektor b charakterisiert. Man erhält diesen, indem man um eine Versetzung herum läuft und die Weglänge L bestimmt, wobei die Schrittlänge δu gleich der Gitterkonstanten a ist. Der Betrag des Vektors, |b|, ist gleich der Differenz der Weglängen $L_0 - L$, wobei L_0 die Weglänge ist, die man erhält, wenn man im gleichen Abstand um einen normalen Gitterpunkt herum läuft. Der Burgersvektor ist das Integral über alle Schritte $\vec{b} = -\oint \delta \vec{u_i}$ und ist ein Maß für die Deformation des Gitters durch die Versetzung [1]. Der Betrag des Burgersvektors ist von der Größenordnung der Gitterkonstanten a.

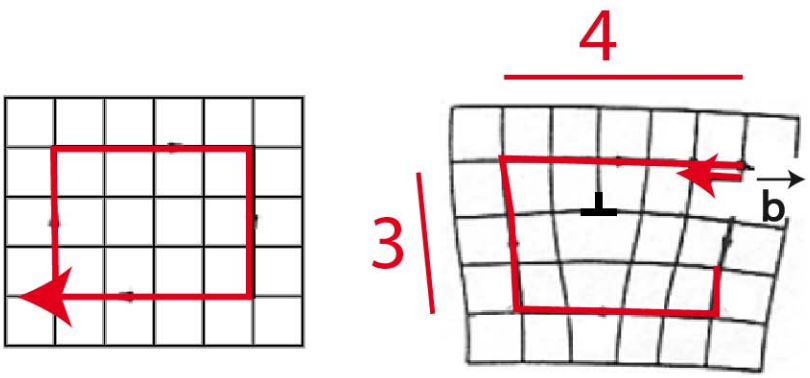


Figure 75: Abb. 1: Zur Definition des Burgersvektors.

Die Energie einer Versetzung in einem 2D Kristall hängt logarithmisch von dessen Durchmesser d=2R ab:

$W_{disloc} = Yb^2 ln(\frac{R}{a})$

wobei Y der Kompressionsmodul eines 2D-Gitters ist. Diese elastische Energie wird jedoch durch die Translations-Entropie reduziert. Diese ist durch die Zahl möglicher Verteilungen einer Versetzung in dem Kristall bestimmt und hat die Form $\delta S = 2k_B T ln(\frac{R}{a})$. Erhöht man die Temperatur auf $T > T_m = \frac{Yb^2}{k_B}$, so wird die Entropie größer als die elastische Energie. Dies führt zu einer lawinenartigen Zunahme der Zahl der Versetzungen bei T_m und die Ordnung des Kristalls wird (wie beim Schmelzen) zerstört.

Tatsächlich wird zuerst nur die kristalline Anordnung (die Fernordnung) der Moleküle zerstört, während die weitreichende Orientierung der ursprünglichen Kristallebenen noch erhalten bleibt. Es entsteht ein neuer Zwischenzustand, in der die globale Ordnung der Orientierung der Kristallebene (die sog. Fernordnung) erhalten bleibt, während die Fernordnung der Position der Moleküle zerstört wird. Man nennt solche Zustände der Materie hexatische Phasen [2].

Die Betrachtung der Abb.1b in Aufgabe 1 zeigt, dass die Kristalle durch isolierte Disklinationen sehr viel stärker deformiert werden als durch Versetzungen. Tatsächlich hängt die zur Erzeugung einer Disklination notwendige elastische Energie quadratisch von der Größe d = 2R des Kristalls ab:

$W_{disclin} = Ys^2R^2$

wobei s die 'Ladung' der Disklination ist. s ist gleich dem Winkel des in den Kristall eingesetzten oder aus diesem ausgeschnittenen Stücks (s. Aufgabe 36.1 Abb. 1a), gemessen in Radians. 60°Disklinationen haben die Ladungen $\pm\frac{2\pi}{3}$.

Berechnung der Energien für:

1) *Vesikel: Durchmesser:* $\phi = 1\mu m$, $b \approx a = 1nm$, $Y = 0.700\frac{N}{m}$. Die elastische Energie der Versetzung: $W_{disloc} \approx 500k_BT$. Die elastische Energie der Disklination: $W_{disclin} \approx 10^8 k_BT$. Die Translationsentropie ist $\Delta S \approx 7k_BT$.
Man beachte: der Wert $Y = 0.7\frac{N}{m}$ gilt für 1:1 DMPC-Cholesterol Mischungen. Für Vesikel aus reinem DMPC wird $Y = 0.15\frac{N}{m}$ und W_{diloc} wird um den Faktor 5 reduziert. Die elastische Energie der Defekte kann durch Einbau von kleinen Molekülen oder Proteinen wesentlich reduziert werden, wie in Kapitel 12 oder [3] gezeigt wird.

2) *Viren: Durchmesser:* $\phi = 0.1\mu m$, $b \approx a = 10nm$, $Y = 1\frac{N}{m}$. Die elastische Energie der Versetzung: $W_{disloc} \approx 5 \cdot 10^4 k_BT$. Die elastische Energie der Disklination: $W_{disclin} \approx 2.5 \cdot 10^6 k_BT$. Die Translationsentropie ist $\Delta S \approx 4.6k_BT$. Wie in diesem Kapitel gezeigt wurde, wird die sehr große Energie der Disklination durch Bildung von Icosaedern wesentlich reduziert. Daher behindern sie die Selbstassemblierung der Hüllen der Viren nicht. Außerdem gelten die obigen Werte für die reifen Viren , während frisch gebildete Hüllen zahlreiche lokale Defekte aufweisen.

Referenzen:

1 Landau, LD., Lifshitz, EM. Theoretische Physik VII Elastizitätstheorie

2 Seung H.S. Nelson D.(1988) Defects in flexible membranes with crystalline order. Phys. Rev, A 38: 1005-1018.

3 E.Sackmann 'Physical basis of self organization and function of membranes. Physics of vesicles. in Handbook of Biological Physics' Ch.V,(eds. R. Lipowsky und E. Sackmann. Elsevier Amsterdam 1995.

Aufgabe 35.3:

Die Federkonstante der Viren.

(Siehe auch Frage 11.2)

Wir betrachten eine Kugel mit dem Radius a. Die Berechnung der Federkonstante basiert auf der Idee, dass die elastische Energie durch die Deformation am Rand L bestimmt ist, da dieser die größte Krümmung aufweist [1]. Der Rand habe den Radius r. Die Deformation der Eindellung und der Schale außerhalb des Randes wird vernachlässigt.

Daher sind die lokale Biegedeformation bzw. die Dehnung von der Größenordnung $\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} \propto \frac{u}{d^2}$ bzw. $\frac{\Delta A}{A} \approx (\frac{u}{a})^2$. Die Dehnungs- und Biegeenergie werden daher:

$G_d \approx d^2 K(\frac{u}{a})^2$ und $G_b \approx d^2 \kappa(\frac{u}{d^2})^2$ (1)

Nach Kapitel 12 ist $\kappa \approx Eh^3$ und der Flächen-Kompressionsmodul $K \approx Eh$, wobei h die Dicke der Schale ist.

Aus der Bedingung, dass die Gesamtenergie ein Minimum sein muß, erhält man für die Breite des Deformationsbereichs $d^2 = ha$, wie man leicht nachvollziehen kann. Mit dieser Beziehung wird die Gesamtenergie:

$\Delta G = G_b + G_d = 2\frac{Eh^2u^2}{a}$ (2)

Nun ist die Kraft gleich der Variation von ΔG bezüglich u und daher wird

$f \approx (\frac{Eh^2}{R})u$

Dies entspricht der Kraft-Dehnungs-Beziehung einer Feder mit der Federkonstanten $k = \frac{Eh^2}{R}$.

Um k als Funktion der elastischen Module auszudrücken, kann man die Membrandicke eliminieren, indem man die Beziehung $Eh = \sqrt{\kappa K}$ benutzt.

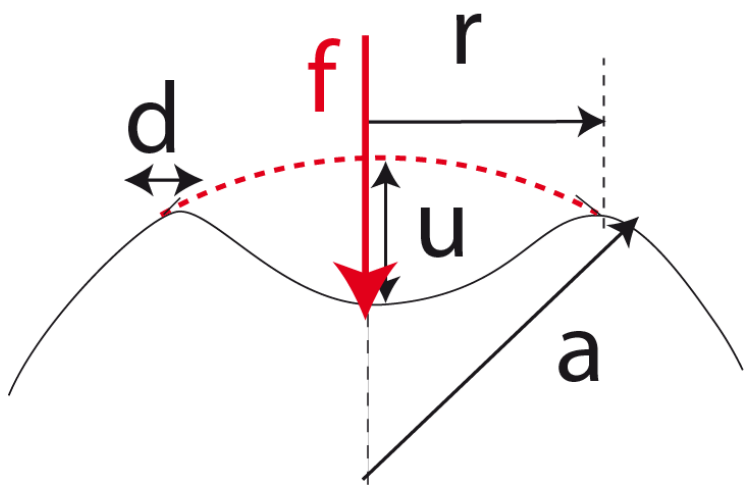


Figure 76: Abb.1: Eindellung in einer Kugelschale durch eine Punktkraft f. Die elastische Energie ist durch die starke Krümmung am Rande der Eindellung dominiert. Diese hat die Breite d.

Referenz:

1 Landau, LD.,und Lifschitz, EM. 'Lehrbuch der Theoretischen Physik Vol VII. Elastizitätstheorie' Akademie-Verlag, Berlin 1983

Aufgabe 35.4:

Strukturbestimmung der Viren mittels SANS und SAXS:

Da die SANS und SAXS ähnliche Information liefern, beschränken wir uns auf die erste Methode. Die wesentlichen Grundlagen der Kleinwinkelstreuung wurden in Appendix 37. A zusammengestellt. Dort wurde gezeigt, dass die Information über die Struktur der Viren aus dem Strukturfaktor f(q) oder der gestreuten Intensität I(q) erhalten wird. Der Strukturfaktor für Objekte mit sphärischer Symmetrie hat die Form (siehe [1, 2] und Appendix 37.A):

$f(q) = 4\pi \int_0^R \rho(r) \frac{sin(qr)}{qr} r^2$ (37A.5)

Die Methoden eignen sich besonders zur Untersuchung der Modifikation der Virenschalen während der Reifung. Wie wir bei der Diskussion der Reifung der Viren sahen, wird das Capsid oft durch Gerüstproteine stabilisiert, bis diese Rolle durch die RNA oder DNA übernommen wird. Eine elegante Untersuchung von D. Kuzmanovic et al [3] zeigt, welche wichtige Information über die Struktur der Schalen und deren Änderung vor und nach der Injektion der RNA aus SANS Untersuchung gewonnen werden kann.

In dem Experiment wurde die Struktur von Bakteriophagen des Stamms MS2 (die E. coli Bakterien angreifen) untersucht. Die Hülle besteht aus drei nahezu gleichen Proteinen mit MG 14 kDa. Sie wird während der Assemblierung und vor dem Einbau der RNA (in [3] 'pre infection state' genannt) zusätzlich durch ein Gerüstprotein mit 44kDa ('Protein A' genannt) stabilisiert. Nach der Injektion der RNA in die Wirtszelle trennt sich das A Protein von der Hülle und man nennt den Zustand 'post infection' state. In dem Experiment wurde die Struktur der Hülle mit und ohne A-Protein aufgeklärt und die Wirkung der RNA auf die Struktur der Hülle analysiert. Wir beschreiben zunächst ein wichtiges Ergebnis der Experimente und ziehen dann

wichtige Konsequenzen aus der Arbeit von Kuzmanovic et al [3].

Theoretische Grundlagen der Analyse der SANS von Schalen.

Man kann die Streuintensität einer Suspension dünner Kugelschalen (wie Vesikel oder vom Genom befreite Viren) durch Erweiterung des Guinier-Porod Modells berechnen. Bei der Strukturbestimmung intakter Viren kann man den Beitrag der RNA auszublenden, indem man dessen Kontrast, durch partielle Deuterierung des Lösungsmittels, an den des Lösungsmittels anpasst. Nach Gl 37A.3 ist $I(q \rightarrow 0) = \Delta\rho V$ und man kann somit aus dem asymptotische Wert der Streuintensität die Masse der Teilchen bestimmen. Als nächstes nehmen wir an, dass die Schale aus zwei Kugeln mit Radien R1 und R1 aufgebaut sei. Sind die Dichten der Kugeln gleich, so hat die Streuamplitude die Form:

$f(q) = \frac{4\pi}{3}\Delta\rho(R_2^3 f_2(q, R_2) - R_1^3 f_1(q, R_1))$

wobei die Funktionen $f_i(q, R_i)$ durch Gleichung 37A.6 gegeben sind:

$f(q) = 4\pi \int_0^R \rho(r)\frac{sin(qr)}{qr} r^2$ (37A.5a)

Die gestreute Intensität ist daher von der Form:

$I(q) = f(q)^2$ (37 A.5b)

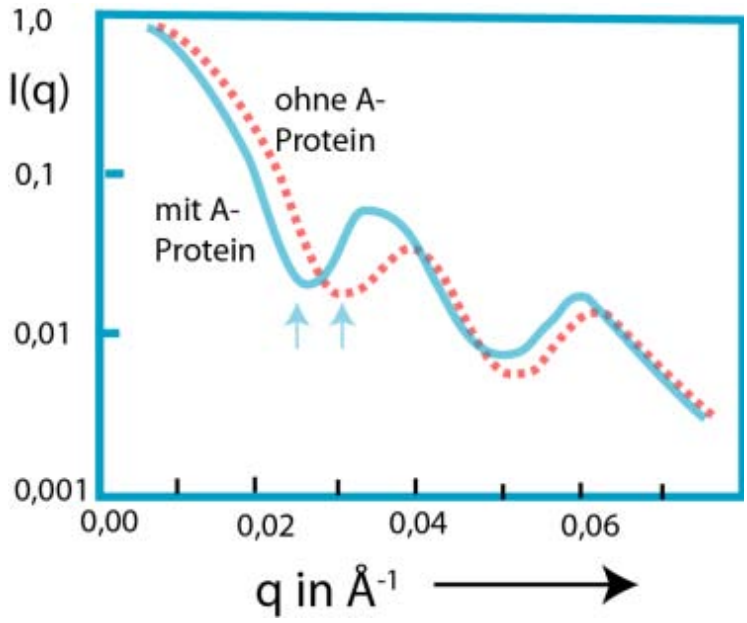


Figure 77: Abb. 1: Streuintensität I(q) der Virusschale mit (durchgezogene Linie) und ohne Helferprotein A (gestrichelte Kurve) nach [3]. Man beachte die Verschiebung der Minima zu kleineren q-Werten

Abb. 1 zeigt die SANS-Streukurve der Viren in Abwesenheit und Anwesenheit des Gerüstproteins A. Obwohl die Unterschiede der Streukurven nicht sehr groß sind, erkennt man deutlich, dass die Minima in Anwesenheit des A-Proteins zu kleineren q-Werten verschoben werden. Daraus folgt, dass die Schale dadurch dicker wird. Genauere Datenanalyse zeigt, dass die Schale durch das Gerüstprotein verdickt wird.

Die Ergebnisse der Strukturuntersuchung lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1) Aus dem Guinier-Diagramm (logI(q) vs. q) kann man direkt den Gyrationsradius (zu 130 nm) bestimmen und aus I(0) erhält man (durch Extrapolation auf $q \rightarrow 0$) die Masse des Virus. Da man das Molekulargewicht der Capsidproteine kennt, erhält man die Zahl der Proteine pro Capsid. Da diese jedoch auch aus anderen Messungen bekannt ist, kann man nachprüfen, ob das

Modell richtig ist.

2) Das wichtigste Ergebnis ist Folgendes: In Anwesenheit des A-Proteins hat die Schale eine Dicke zwischen 2.1 und 2.5 nm. Diese verdickt sich bei Entfernung des A-Proteins auf 3.1-3.7 nm. Der erstere Zustand (mit dünner Hülle) entspricht der Situation vor der Ejektion der RNA (d.h. vor der Infektion der Zellen). Die Schale verdickt sich nach der Entfernung des Genoms, da diese mit der Entfernung des Gerüstproteins A einher geht.

3) Die Dicke der Schale mit dem Stabilisator A wird durch den Einbau der RNA nicht geändert, sondern ist vor allem durch A bestimmt.

4) Die Rolle des Stabilisators A ist noch unklar. Möglicherweise induziert die Bindung des A-Proteins an die Innenseite der Hülle eine laterale Spannung in dem Capsid, das dadurch gestreckt und dünner wird. Die mit der mechanischen Spannung verbundene elastische Energie könnte zur treibenden Kraft für die RNA-Ejektion beitragen. Da die RNA mit dem A-Protein Komplexe bildet vermittelt dieses die Bindung des Genoms an die Innenseite der Schale. Möglicherweise induziert die Bindung des A-Proteins an die Innenseite der Hülle eine laterale Spannung des Capsids. Da diese die Bildung von Poren an den Ecken des Icosaders begünstigt, wird der Transfer der RNA durch die Poren der Hülle erleichtert [4].

Strukturbestimmungen mittels elektronenmikroskopischen Methoden.

Zur Erzeugung von Kontrast werden zwei Methode benutzt: Die Kryofixierung [5, 6] und die negativen Anfärbung (negative staining).

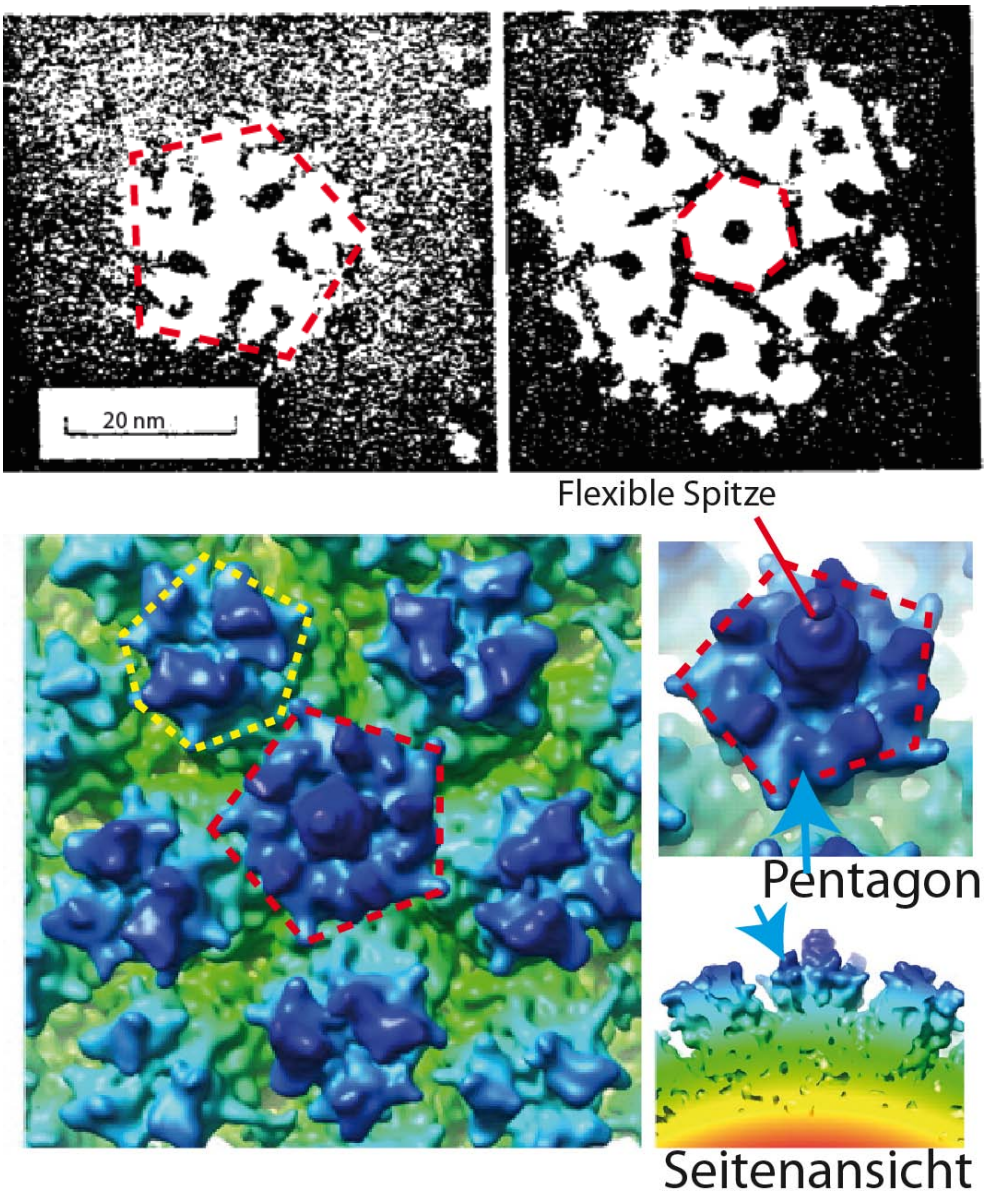


Figure 78: Abb. 2: Links: Mit negative staining gewonnenes EM-Bild des Gurken-Mosaik-Virus. Rechts: Bestimmung der Feinstruktur des Adenovirus mit 1 nm Auflösung mittels Kryo-Elektronenmikroskopie. Man erkennt den Aufbau aus pentameren und hexameren Capsomeren.

1. Bei der ersten Methode friert man die Proben so schnell ein, dass Wasser amorphes Eis bildet (sog. 'vitrified ice'), denn Mikrokristalle aus Eis würden die Beobachtung der Virenstruktur unmöglich machen. Um Strahlenschädigungen zu vermeiden, muss man bei sehr kleinen

Elektronen-Intensitäten arbeiten, was sehr teuere Elektronenmikroskope erfordert. Man nimmt Bilder von sehr vielen Projektionen der in Eis eingebetteten Objekte auf und rekonstruiert die 3D-Struktur mit spezifischen Algorithmen. Man kann Auflösungen von 1 nm erhalten und auch die Struktur in Richtung senkrecht zur Oberfläche der Virenschalen bestimmen (s. Abb. 2b).

2. Bei der zweiten Methode wird die Struktur der Viren mit Schwermetall-Ionen Metallionen sichtbar gemacht. Diese lagern sich in Bereichen zwischen den Proteinkomplexen an und markieren so die Umrisse der Proteine. Man bestimmt so das Profil der Oberfläche mit einer Auflösung von 2 nm. Mit dieser Methode hat man erstmals entdeckt, dass kleine Viren aus Capsomeren mit pentagonaler und hexagonaler Symmetrie bestehen, was zum Bild der Icosaeder von Caspar und Klug führte.

Referenzen:

1 Svergun, D., Koch, M. (2003) Small-angle scattering studies of biological macromolecules in solution Rep. Prog. Phys. 66: 1735

2 G. Porod, Die Röntgenklemwinkelstreuung I. Z Naturforschung 134, 83 (1951)

3 D. Kuzmanovic et al (in J Mol. Biol 355, 1095-1111, (2006))

4 Deborah, A. et al. (2006) The MS2 Coat Protein Shell is Likely Assembled Under Tension: A novel role for the MS2 bacteriophage A protein as revealed by Small-angle Neutron Scattering. Journal of Molecular Biology, 355:1095-

5 Silvestry, M. et al. (2009) Cryo-Electron Microscopy Structure of Adenovirus Type 2. Temperature-sensitive mutant 1 reveals insight into the cell entry defect. Journal of Virology 83: 7375-

6 Conway, JF. et al. (2001) Virus mutations involving large subunits rotations and local refolding. Science 92: 744-748.

Aufgabe 36.1:

Experimentelle Bestimmung der Superverdrillung.

Die Anleitung zu dieser experimentellen Aufgabe findet man in Kapitel 36.2.1 (Kleindruck). Man benötigt dazu nur ein flaches Band aus Stoff, Besenstiele und Bleistifte verschiedener Dicke. Man muss die Enden des Bandes nach dem Umwickeln festhalten und durch Lockern der Spirale vom die Zylinder entfernen. Die folgende Abbildung zeigt was Sie sehen sollten, wenn Sie Superverdrillungen von Lk=4 und Lk=1 einstellen:

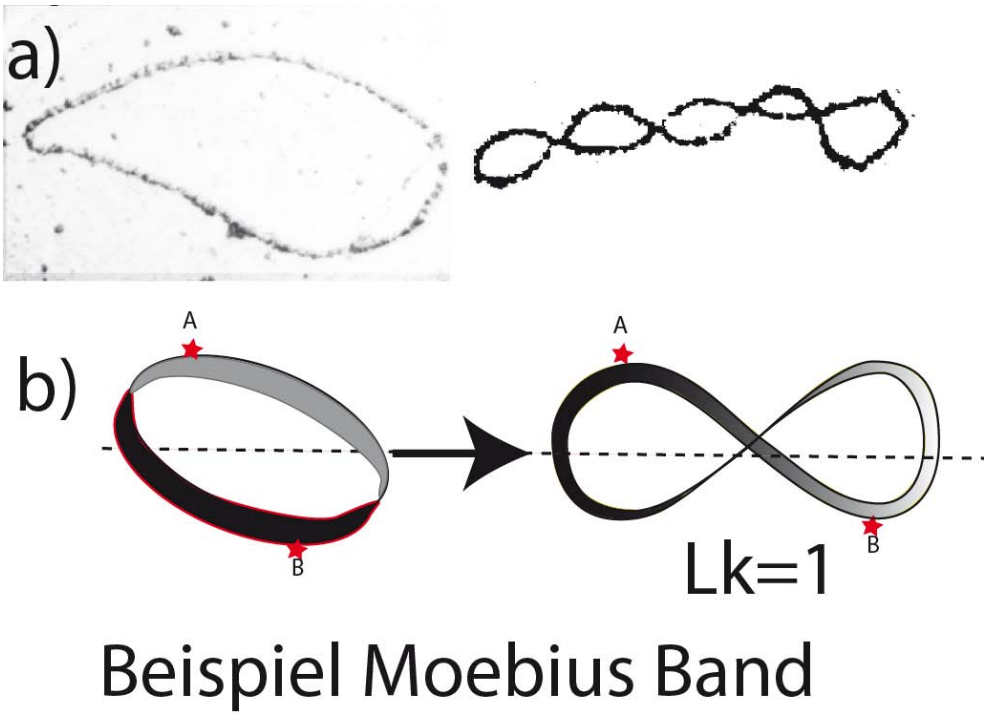


Figure 79:

Aufgabe 36.2:

DNA als Kuhn-Kette (SAW-Modell)

Zur Erinnerung an die Struktur der Doppelhelix: Der Durchmesser ist 2 nm. Der Abstand zwischen benachbarten Basenpaaren (bp) ist 0.34 nm und benachbarter Paare sind um ca 36°gegeneinander gedreht. Die Ganghöhe ist ca 3.4 nm und die Zahl von Basenpaaren pro Ganghöhe ist 10 bis 10.4. Da die Konturlänge der DNA aus 10 000 bp $L \approx 3.4\mu m$ ist, besteht sie aus $N \approx 70$ Segmenten der Kuhnlänge $\lambda_K \approx 50nm$.

Der Flory-Radius in Lösung (dreidimensional): $R_F = \lambda_K N^{\frac{3}{5}} \approx 910nm$
Der Flory-Radius in Lösung (zweidimensional): $R_F = \lambda_K N^{\frac{3}{4}} \approx 1210nm$
Der ideale Kettenradius wird in 3D: $R_G = \lambda_K N^{\frac{1}{2}} \approx 420nm$

Messungen der End-zu-End-Abstände (Flory-Radien R_F) liegen vor allem für auf Oberflächen adsorbierter DNA vor. Es gibt mehrere Methoden dazu, von denen wir zwei betrachten: erstens, AFM Untersuchungen von auf Festkörpern adsorbierter DNA [1, 2] und zweitens, Messungen mittels Mikrofluoreszenz von DNA-Filamenten auf festkörpergestützten Membranen aus DOPC, die durch Dotierung mit DOTAB positiv aufgeladenen wurden [3].

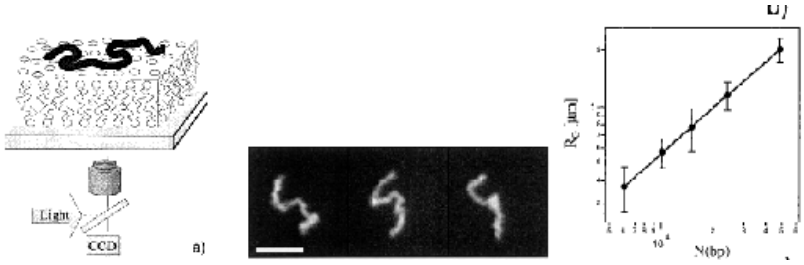


Figure 80: Abb 1: Links:Messung der End-zu-End-Abstände R_F von auf festkörpergestützten Membranen absorbierter DNA der λ-Phagen ($N \approx 48000$) mittels Mikrofluoreszenz nach [2]. Mitte: Bilder dreier Zustände. Der weiße Balken entspricht $10\mu m$. Rechts: Auftragung des End-zu End Abstandes als Funktion der Zahl der Basenpaare.

Wir zeigen in Abb. 1 zunächst Ergebnisse von Meier und Rädler [3]. Wie Abb. 1a links und in der Mitte zeigt, schwimmen die Filamente fluiden Membranen, die auf Festkörpern ruhen. Das rechte Bild zeigt den Flory-Radius als Funktion der Zahl N der Basenpaare. Aus der doppelt logarithmischen Auftragung folgt das Skalengesetz

$$R_F \approx N^{0.79}$$

Dies entspricht recht gut dem Skalengesetz zweidimensionaler Makromoleküle, für die der Exponent 0.75 ist. Die RNA aus 48000 bp besteht aus 685 Kuhn-Segmenten. Man erwartet einen End-zu-End-Abstand von $R_F \approx 50 \cdot 685^{\frac{3}{4}} \approx 6.7\mu m$. Der in Abb1 Mitte gefundene Wert liegt bei $10\mu m$.

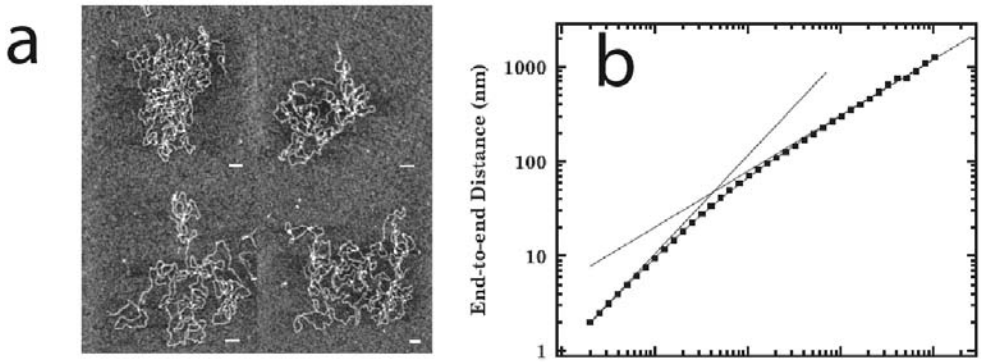


Figure 81: Abb. 2. Zur Messung der Flory-Radien mittels AFM nach [1]. a) Aufnahme der DNA derselben λ-Phagen wie in Abb.1. b) Doppellogarithmische Auftragung des Flory-Radius gegen die Konturlänge

Abb.2 zeigt das Ergebnis der Messung mittels AFM. Das linke Bild zeigt eine Aufnahme eines verkürzten Fragments. Rechts ist der End-zu-End-Abstand gegen die Konturlänge der Filamente L_0 aufgetragen, wobei $L_0 = N\lambda_K$ ist). Man beobachtet zwei Regime. Für $L_0 < \lambda_K$ ist der Exponent $\nu = 1.03$ und für $L_0 > \lambda_K$ wird $\nu \approx 0.6$. In diesem Experiment verhält sich die adsorbierte DNA wie eine Flory-Kette in Lösung. Man findet also dreidimensionales Verhalten, im Gegensatz zú der Situation in Abb.1. Der Grund ist wahrscheinlich die sehr geringe Adsorption der DNA auf Glimmer.

Die beiden Experimente zeigen, dass die DNA-Filamente interessante Modellsysteme zur Untersuchung fundamentaler Eigenschaften von Makromolekülen ist. Da DNA auch geschlossene Ringe bildet, eignet sich das Molekül auch dazu, das Verhalten exotischer Makromoleküle zu untersuchen [3].

Referenzen:

1 Valle, F., et al.(2001). Scaling Exponents and Probability Distributions of DNA End-to-End

Distance. Phys. Rev. Lett. 95: 158105.
2 Meier, B., Rädler, J. (2001) DNA on Fluid Membranes: A Model Polymer in Two Dimensions Macromolecules, 34, 5723-5724
3 Witz et al. (2005) Phys. Rev. Letters 101: 148103

Aufgabe 36.3:

Die Redundanz des genetischen Codes und die Wobble Hypothese

I. Aufgabe des genetischen Codes ist die Kodierung der 20 vorkommenden natürlichen Aminosäuren. Verfügbar ist ein biologisches Alphabet mit den vier Buchstaben A (Adenin), T (Thymin), C (Cytosin) und G (Guanin). Die Zahl Z von Objekte, die bei einer Wortlänge von n Buchstaben (Basen) durch beliebige Kombination von λ Buchstaben kodiert werden können, ist (Z = Zahl von Kombinationsmöglichkeiten):

$$Z = \lambda^n$$

Damit Z = 20 wird, muss $\lambda = 3$ sein, d.h. die minimale Wortlänge ist $\nu = 3$. Damit ließen sich im Prinzip Z = 64 Aminosäuren kodieren. Drei der Codons (die Stop-Codons UAG, UGA, UAA) werden für die Beendigung der Translation benötigt. Eines der Tripletts (am häufigsten AUG) dient als Start-Codon. Die restlichen 61 Tripletts werden benutzt, um manche Aminoisäuren mehrfach zu kodieren. Der genetische Code ist also entartet. Er ist jedoch eindeutig, d.h. es gibt kein Triplett, das verschiedene Aminosäure kodiert. Die Entartung ist nicht gleichmäßig. Serin und Leucine sind 6-fach, Tyrosin und Histidin sind zweifach und Tryptophan und Methionin einfach entartet.

II. Die Entartung ist heterogen, wie Abb.1 zeigt. Nur zwei Aminosäuren werden durch ein Codon repräsentiert. Interessanterweise fungiert das Triplett von Methionin (AUG) gleichzeitig als Startcodon. Glutaminsäure wird durch zwei Tripletts kodiert. Aber nur die dritte Base ist variabel und kann entweder aus A oder G bestehen. Man sagt, sie ist 'zweifach entartet'. Das Codon von Glycin ist nach dieser Nomenklatur vierfach entartet.

Glutaminsäure (Gln, Q)	Leucin (Leu,L)	Serin (Ser ,S)	Glycin (Glz, G)	Tryptophan (Trp, W	Methionin (met, M
GAA GAG	UUA UUG CUU CUC CUA CUG	UCA UCG UCC UCU AGU AGC	GGA GGG GGC GGU	UGG	AUG Identisch mit Start-Codon

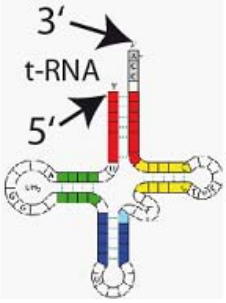


Figure 82: Abb.1: Zur Entartung des genetischen Codes

III. Die Wobble (oder Wackelbasen-)-Hypothese versucht folgendes Problem zu erklären: Für die Biosynthese (Translation) wird im Prinzip für jede der 61 möglichen Codons eine t-RNA mit dem spezifischen Anticodon benötigt, Die meisten Organismen besitzen aber nur 43 t-RNA. Die Anticodons von einigen der t-RNA müssen also mit mehr als einem Codon paaren. Daher postulierte F. Crick 1966, dass die Bindung der 5'-Base der t-RNA an die 3'-Base der Boten-RNA (m-RNA) schwächer ist als die in den Basenpaaren der DNA. Die Wasserstoffbrückenbindung könnte z. B. lockerer sein. Einige Beispiel findet man in [1].

Referenz:

1 Berg, JM. et al. 'Biochemie', Ch. 29.3.9.

Aufgabe 36.4:

Beweis der Gleichung 36.6 (nicht Gl 36.9b).

Wir betrachten als Beispiel die Bildung eines Komplexes (C) aus dem Repressor (R) und der DNA (D). Bei dieser Reaktion zweier elektrisch geladener Makromoleküle werden gleichzeitig Gegenionen frei. Die Reaktionsgleichung hat daher die in Abb.1 angegeben Form:

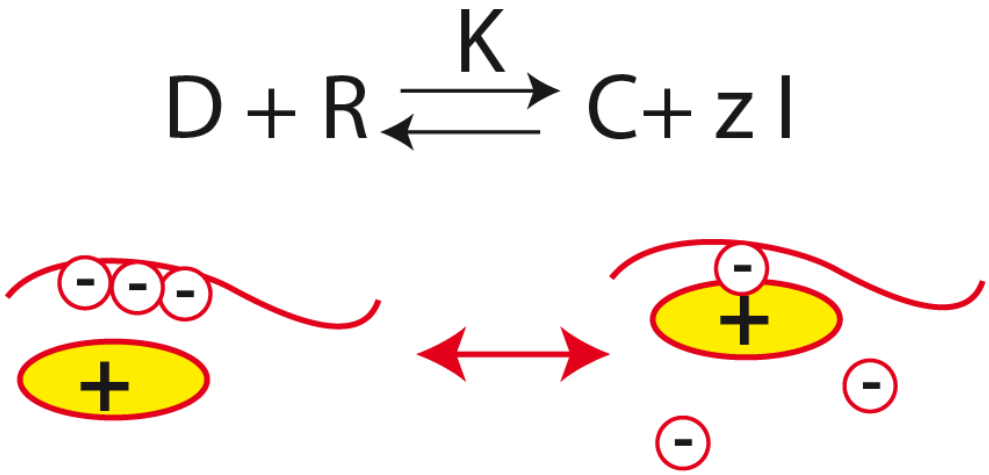


Figure 83: Abb. 1. Illustration der Dissoziationsreaktion die mit der Freisetzung kleiner Gegenionen verbunden ist.

Die Gleichgewichtskonstante der Reaktion ist:

$$K_a = \frac{[C][I]^z}{[R][D]}$$

Logarithmieren liefert:

$$log(K_a) = log(\frac{[C]}{[R][D]}) + zlog([I])$$

Da die Messung mit einwertigen Salzen durchgeführt wurde, ist $[I]$ gleich der Konzentration c_s des Salzes, womit Gl. 36.6 begründet ist. Diese Gleichung wurde zunächst empirisch begründet. Die obige Rechnung zeigt, dass das logarithmische Gesetz darauf beruht, dass gleichzeitig mit der Dissoziation des RD-Komplexes z einwertige Gegenionen frei werden.

Aufgabe 36.5:

Visualisierung der Lac-Operator-Repressor Bindung

Vorbemerkung: In Kapitel 36.4 (Abb. 36.6 und 36.7) wurde die Kontrolle der Genexpression in Prokaryonten durch die Wechselwirkung zwischen dem Operon und dem Repressor (R) beschrieben. Der Repressor besteht aus einem Dimeren, das an das Operon bindet und die Expression blockiert, solange der Lactose-Spiegel hoch genug ist. In der DNA finden sich neben dem Operon andere, etwas schwächer bindende Bindungsstellen für R. Durch Bildung von Tetrameren von R können diese Bindungsstellen an den eigentlichen Operator andocken, wodurch weit entfernte Segmente der DNA miteinander wechselwirken können. Dieses Prinzip der Kopplung von Segmenten der DNA, die um mehrer hundert Basenpaare (bp) vom Operon getrennt sein können, spielt eine besonders wichtige Rolle für die Regulation der Genexpression in Eukaryonten durch verschiedene Transkriptionsfaktoren, Repressoren und Verstärkern der Genexpression (s. Kapitel 36 und [1] Ch. 7).

Die ersten Beobachtungen der Kopplung weit entfernter Bindungsstellen durch Repressor-Tetramere wurden mittels EM gemacht. Dabei wurden Konstrukte der DNA hergestellt, in denen zwei Operone in verschiedenen Abstände in DNA eingebaut wurden. Bei Bindung zweier Operone durch R-Teramere bildet die DNA Schleifen, die man im EM beobachten kann, (s.Abb 1a links). Solche Experimente liefern jedoch keine Einblicke in die Dynamik

der Schleifenbildung oder die Lebensdauer der O-R-Bindung. Das Problem wurde in dem eleganten Experiment von Finzi und Gellies [3] gelöst (s. Abb. 1b und 1c). Es wurden zwei Konstrukte hergestellt: eines mit zwei Operone im Abstand von 305 bp (Abb. 1b oben links) und eines mit nur einem O (Abb. 1b oben rechts), das zur Kontrolle diente. Wie in Abb. 1a rechts unten gezeigt wurde die DNA mit einem Ende auf einer Glasoberfläche fixiert (über Biotin-Streptavidin Koppler) während an das andere Ende ein Polystyrolkügelchen mit $0.23\mu m$ Durchmesser angedockt wurde.

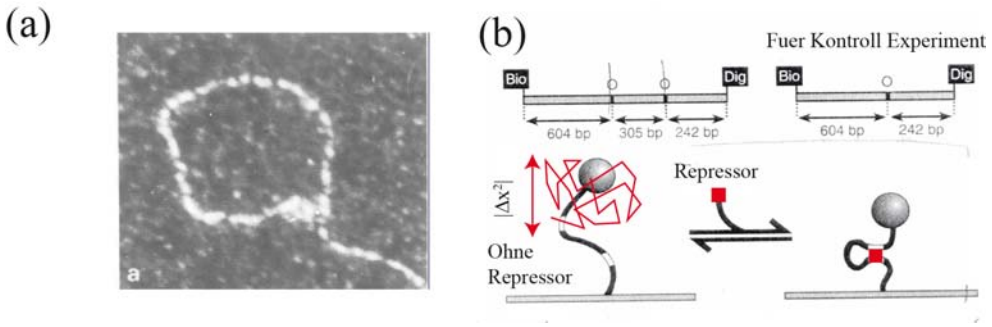


Figure 84: Abb 1: a) Beobachtung der Schleifenbildung durch Repressor-Tetramere mittels Elektronenmikroskopie nach Krämer et al [2]. b): Experiment von Finzi und Gelles [3]. Das obere Bild zeigt zwei Konstrukte linearer DNA mit einem und zwei Operator -Segmenten. Ersteres dient zur Kontrolle. Beobachtet wurde die Brownsche Bewegung des Polystyrolkügelchen mit $0.23\mu m$ Durchmesser.

Beobachtet wurde die Brownsche Bewegung der Sonde. Information über die Schleifenbildung liefert die Bewegungsfreiheit die durch die Reichweite der mittleren Verschiebungsquadrats $< |\Delta x^2| >$ bestimmt ist. Die R-O-Bindung ist dynamisch. Daher beobachtet man statistische Übergänge zwischen einem Zustand mit größerem und einem mit kleinerem Wert von $< |\Delta x^2| >$ (siehe Abb.2a). Die Verteilung $P(< |\Delta x^2| >)$ der Bewegungsfreiheitist daher bimodal. Die obere Spur der Abb. 1a zeigt die Verteilung $P(< |\Delta x^2| >)$ für den Fall des Kontrollexperiments (s. Abb. 2b). Die Verteilung der Lebensdauern der Schleifenbildung ist exponentiell. Sie ist also durch eine Übergangswahrscheinlichkeit bestimmt. Diese ist $k = 0.017\frac{1}{s}$.

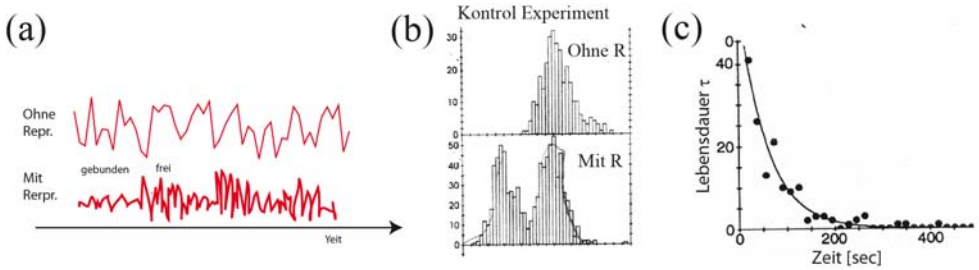


Figure 85: Abb2.) a) Zwei typische Zeitverläufe der Brownschen Bewegung, obere Spur: Kontrollexperiment, untere Spur: Bewegung nach Zugabe des Repressors. Man beachte: Im zweiten Fall beobachtet man statistische Übergänge zwischen Bewegungen mit kleinem (gebunden) und großem Wert (frei) des mittleren Verschiebungsquadrats.(b) Demonstration der bimodalen Verteilung der mittleren Verschiebungsquadrate durch Repressor vermittelte Bindung der beiden Operatoren.(c) Verteilung der Lebensdauern des gebundenen Zustandes. $\tau = 58s$)

Referenzen:

1 Alberts B., Johnson A., Walter P., Lewis J., Raff M., Roberts K., (2008) Molecular Biology of the Cell. 5th ed. Taylor and Francis. New York.
2 Krämer, H., et al. (1987), Lac repressor forms loops with linear DNA carrying two suitably spaced lac operators. The EMBO Journal 6:.1481-1491
3 Finzi, L., Gelles, J. (1995) Measurement of lactose-repressor -mediated loop formation and breakdown in single DNA molecules. Science 267:378380.

Aufgabe 36.6:

Die maximale Packungsdichte der DNA in Viren.

Abb. 1 zeigt einen Querschnitt durch das Dreiecksgitter. Bei maximaler Packung der DNA ist die Seitenlänge der Dreiecke gleich dem Durchmesser 2a der Filamente. Die mit DNA gefüllte Fläche ist $F_0 = \frac{\pi a^2}{2}$. Die Fläche des Dreiecks ist $F_\Delta = a^2\sqrt{3}$. Daher ist der mit DNA besetzte Bruchteil der Fläche:

$$\zeta = \frac{F_0}{F_\Delta} = \frac{\pi}{\sqrt{12}} \approx 0.91.$$

Die gesamte Länge der DNA ist $L = 16.5\mu m$ oder $L = 330\lambda_K$ wobei λ_K die Kuhnlänge ($\lambda_K = 50nm$) ist. Der Radius des (als sphärisch angenommenen) Capsids ist $R_C = 27.5nm$ oder $R_C = 0.55\lambda_K$ und das Volumen $V_C = 0.7\lambda_K^3$.

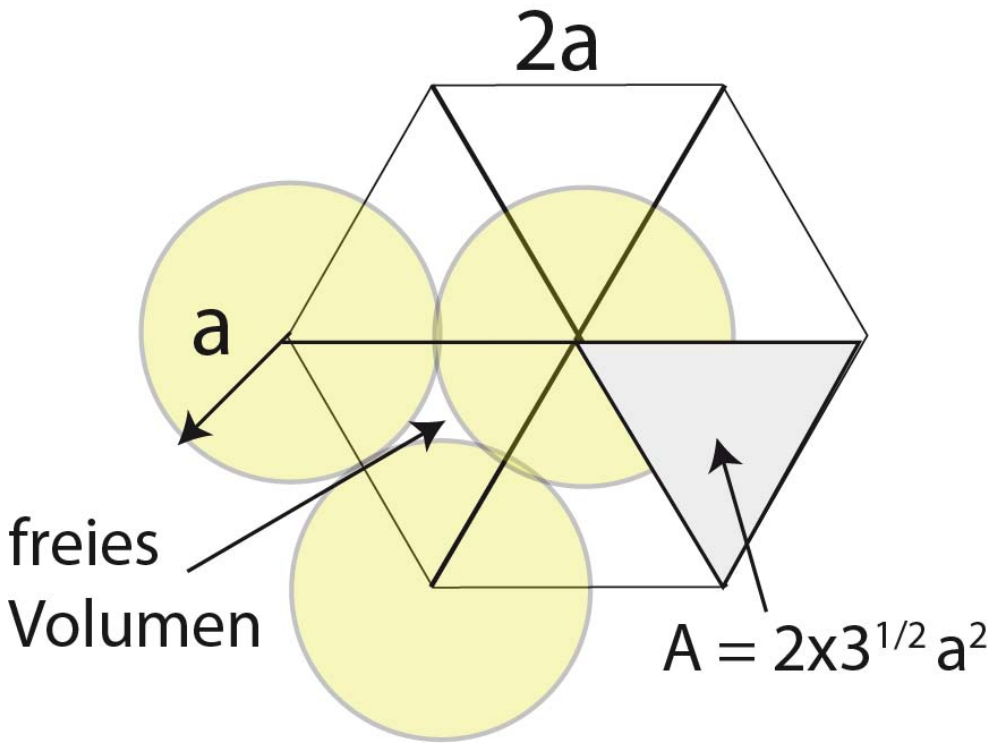


Figure 86:

Bei dichter Packung der DNA ist der Abstand zwischen den Filamenten durch folgende Bedingung bestimmt: $\pi a^2 = \zeta 0.7\lambda_K^3$. Mit $\zeta = 0.91$ folgt schließlich für den Abstand zwischen

den Filamenten $d = 2a = 2.48nm$.

Aufgabe 36.7:

Beobachtung der Helixbildung durch Zirkulardichroismus. (CD= circular dichroism).

Helikale Strukturen besitzen stets chirale Symmetrie. Diese kann man auf zwei Weisen beobachten. Erstens durch Messung des Drehvermögens des elastisch gestreuten Lichts und zweitens mittels Cirkulardichroismus (CD-)-Spektroskopie.

Methode I. Linear polarisiertes Licht, das durch eine Küvette der Dicke d tritt wird um einen Winkel $\delta\phi$ gedreht. Ursache ist der unterschiedliche Brechungsindex für rechts (n_r) und links (n_l) drehende zirkular polarisierte Wellen. Da das linear polarisierte Licht als Überlagerung einer rechts und einer links drehenden Welle dargestellt werden kann, dreht die Polarisationsrichtung um $\delta\phi = \alpha$. α heißt optische Rotation. Die Phase der Lichtwelle ist generell $\frac{2\pi nx}{\lambda}$. Daher wird $\alpha = \frac{\pi\Delta vd}{\lambda}$. Man misst in der Regel α als Funktion der Konzentration in $\frac{rad \cdot M}{l}$.

Methode II: Die CD Spektroskopie basiert auf der Messung der unterschiedlichen Absorption (oder Transmission) von links und rechts zirkular polarisiertem Licht mit den molaren Extinktionskoeffizienten ϵ_r und ϵ_l. Daher wird die linear polarisierte Lichtwelle nach dem Durchtritt durch die Lösung elliptisch polarisiert, da die Amplituden E_r und E_l der Teilwellen nun unterschiedlich sind. Die Elliptizität hat die Form:

$$tan(\theta) \approx \theta = \frac{E_r - E_l}{E_r + E_l} = \frac{\sqrt{T_r} - \sqrt{T_l}}{\sqrt{T_r} + \sqrt{T_l}}$$

wobei T die Transmission ist. Um $tan(\theta) \approx \theta$ mit molekularen Eigenschaften zu korrelieren, benutzt man das Lambert-Beer-Gesetz in der Form $I = I_0 e^{-\epsilon c d ln(10)}$ einführen. Setzt man I_r und I_l in die rechte Seite der obigen Gleichung ein und entwickelt die Exponentialfunktion so folgt:

$\theta = \frac{ln(10)}{4} \Delta\epsilon c d$

Anwendungen:

1. Die CD-Spektroskopie ist eine Standardmethode zur Untersuchung der thermisch induzierten Helix-Knäul Umwandlung. Abb. 1a zeigt ein Beispiel aus dem Review von Kypr et al [1].

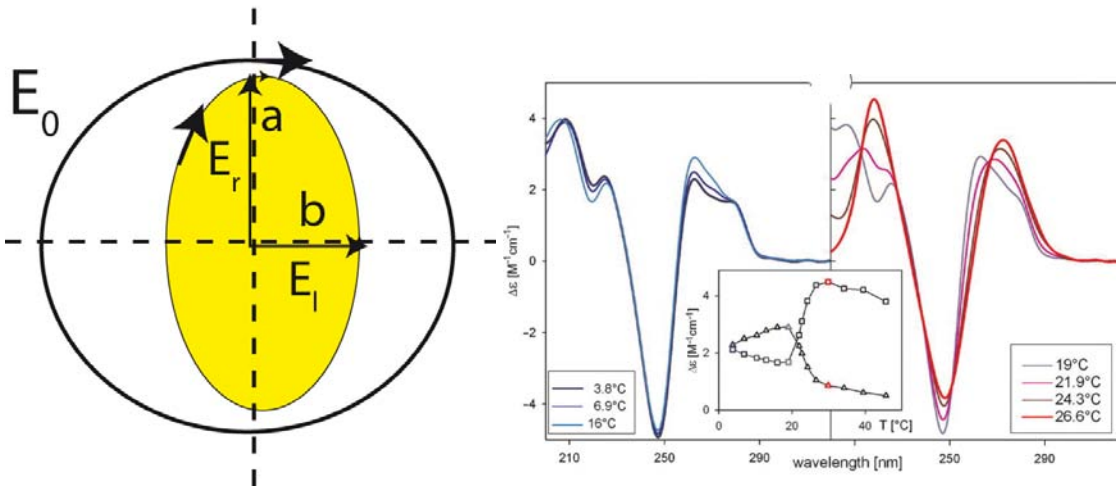


Figure 87: Abb.1:Links:Zur Definition der Elliptizität des Lichts nach dem Durchtritt durch die Küvette. Rechts: Visualisierung der thermisch induzierten Konformationsumwandlung von DNA. (poly[d(AT)] in 10 mM Na-Acetat, pH 7 nach [1]). Links: Temperatur-induzierte Umwandlung innerhalb der Doppelhelix. Rechts: Beobachtung der Helix-Knäul Umwandlung durch thermische Denaturierung. Der Einsatz zeigt die Änderung der Elliptiziät als Funktion der Temperatur bei 220 und 262 nm.

2. Unterscheidung der drei Konformationen A, B, Z der DNA. Die Form B bildet eine Rechtss-

chraube und ist die Standardform in der Biologie. Die Form Z bildet eine Linksschraube und kommt gelegentlich innerhalb der B-Form vor. In beiden Fällen sind die Basenpaare weitgehend planar. Die A-Form bildet eine Rechtschraube in der die Ebene der Basen gegeneinander verdreht sind wodurch die Helix aufgebläht wird.

Referenzen:

1 Kypr, J. et al. (2009) Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA Nucleic Acids Research 37: 1713-1725. Ein frei zugänglicher Artikel mit Beispielen der DNA-Konformationsumwandlung.

Aufgabe 37.1:

Amplitudenverteilung der Beugung am Spalt.

Die Kenntnis der Amplitudenverteilung des Spaltes hilft bei der Lösung vieler, praktisch wichtiger Anwendungen, wie bei der Berechnung der Auflösung des Mikroskops. Der Spalt liege in der x, z-Ebene.

Ausgangspunkt Gleichung 37.1: $E(k_x, k_y) = const \int_{-\infty}^{\infty} dxdy\sigma(x, y)e^{i(k_x x + k_y y)}$

Die Spaltbreite sei $2x_0$. Daher ist $\sigma = 1$ für $|x| < x_0$ und $\sigma = 0$ für $|x| > x_0$. Die Integration liefert:

$E(k_x) = const \int_{-x_0}^{+x_0} dxAe^{i(k_x x)} = const \frac{sin(k_x x_0}{k_x x_0}$

Ein schematische Darstellung der Amplitudenverteilung zeigt folgende Skizze:

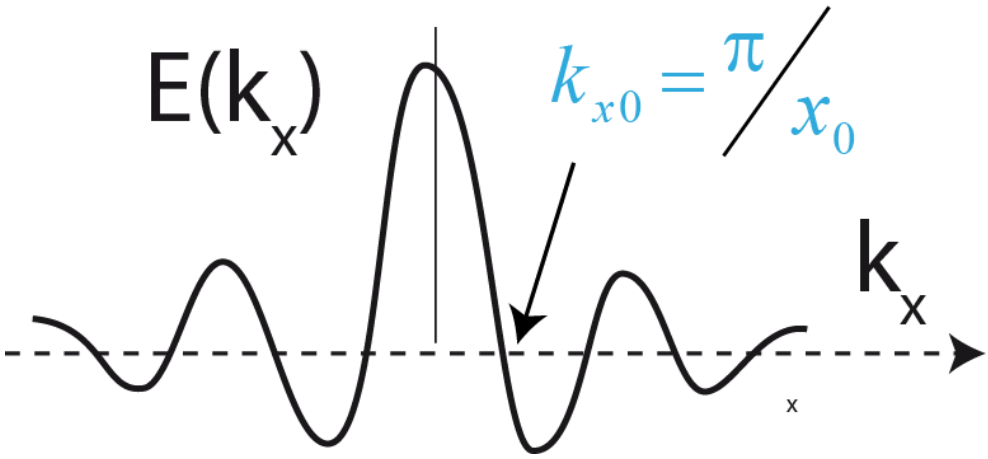


Figure 88:

Die Nullstellen der Amplitudenverteilung sind bestimmt durch:
$k_x x_0 = \frac{2\pi}{\lambda} = m\pi$ wobei m ganze Zahlen sind. Als Halbwertsbreite des Beugungsbildes kann man die erste Nullstelle von $E(k_x)$ definieren. Der zugehörige Wellenvektor ist $k_{x_o} = \frac{1}{x_0}$. Die Breite der Amplitudenverteilung ist dann gleich der reziproken Spaltbreite.

Aufgabe 37.2:

Anwendung des Konvolutionstheorems

Aufgabe a: Die Dichteverteilung des eindimensionalen Gitters der Gitterkonstante a hat die Form: $\sigma(x) = \sum_0^{N-1} A\delta(x - na)$. Die Amplitudenverteilung hinter dem Gitter ist:

$F(k) = \int_{-\infty}^{\infty} dx \sum_0^{N-1} A\delta(x - na)e^{ikx} = A \sum_0^{N-1} e^{iknx}$

F(k) lässt sich als geometrische Reihe darstellen:

$F(k) = A \sum_0^{N} e^{iknx} = a\frac{1-e^{ikNa}}{1-e^{ika}} = A\frac{e^{\frac{ika}{2}}}{e^{\frac{ikNa}{2}}}\frac{sin(\frac{kNa}{2})}{sin(\frac{ka}{2})}$ (1a)

Die Intensitätsverteilung wird schließlich:

$I(k) = F(k)F^*(k) = A^2 \frac{sin^2(\frac{kNa}{2})}{sin^2(\frac{ka}{2})}$ (1b)

Der Zähler hat sehr viel Nullstellen bei den Werten $k_0 = \frac{2\pi}{Na}$. Die Intensitäten sind aber nur bei den Werten $k_{00} = \frac{2\pi}{a}$ groß, da die Zähler und Nenner null sind. Es wird nach der Bernoulli-de'Hospital Regel:

$F(k_{00}) = A^2 N \frac{cos(\frac{kNa}{2})}{cos(\frac{ka}{2})}$ und $I(k_{00}) = A^2 N^2$ (2)

Aufgabe b: Hier benutzen wir eine interessante Erweiterung auf eine unendlich lange Anordnung von δ-Funktionen Gitter: Die Amplitudenverteilung wird wieder eine unendliche Anordnung von Deltafunktionen: $\sigma(x) = \sum_{-\infty}^{+\infty} \delta(x - na)$, wie folgende Überlegung zeigt. Es wird

$F(k) = A \int_{-\infty}^{+\infty} eikx \sum_{-\infty}^{+\infty} \delta(x - na)dx = A \sum_{-\infty}^{+\infty} e^{ikna}$

Die Fourierentwicklung der δ-Funktion ist eine Konstante, z.B. $1 = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{ikx}dk$. Damit wird:

$F(k) = A \int_{-\infty}^{+\infty} \sum_{-\infty}^{+\infty} e^{ikna}dk = \sum_{-\infty}^{+\infty} \delta(kx - nka)$

Wir betrachten zwei Beispiele.

1) Die Wirkung einer Blende der Breite d mit d » a. Man kann die Dichteverteilung $\Sigma(x)$ als Konvolution der endlichen Reihe von δ-Funktionen $\sigma_1(x) = \sum_{-\infty}^{+\infty} A\delta(kx - nka)$ und der Spaltfunktion $\sigma_2(x)$, aus der Aufgabe 37.1 darstellen. Es wird $\sum(x) = \int dx' \sum_0^{N-1} A\delta(kx - nka)\sigma_2(x') = \Sigma_1(x) \otimes \Sigma_2(x)$ (s. Abb. 1 links). Nach dem berühmten Konvolutionstheorem der Fouriertransformation ist die Fouriertransformierte (FT) der Faltung gleich dem Produkt der FT der Einzelfunktionen. Man kann nun FTΣ_1 umformen indem man von folgender Eigenschaft der δ-Funktion Gebrauch macht:

$\delta(x) = -\int_{-\infty}^{+\infty} e^{ikx} dx$ und $\delta(x-a) = \frac{1}{2\pi}\int_{-\infty}^{+\infty} e^{ikr} e^{ika} dx = \frac{1}{2\pi} e^{ika}$

Da die FT der δ-Funktion konstant ist, folgt $FT(\Sigma_1) = \sum_0^{N-1} e^{ika}$.Damit erhält man Gleichung 1a. Die δ-Funktionen im Impulsraum werden verbreitert und die kleinen Seitenbänder werden modifiziert. Dies enspricht der Situation der Röntgenstreuung an sehr kleinen Kristallen.

2. Falls d« a wird aus der Folge von Deltafunktionen eine unendliche Folge von Impulsen der Breite b. Man kann $\Sigma(x)$ als Folge aller Konvolutionen der δ-Funktionen mit dem Impulse darstellen. Die Streufunktion F(k) ist wieder eine unendliche Folge von δ-Funktionen. Deren Amplituden sind aber durch die Fouriertransformation der Impulsfunktion moduliert.

$F(k) = A \frac{sin(\frac{kd}{2})}{\frac{kd}{2}} \frac{sin(\frac{kNa}{2})}{sin(\frac{ka}{2})}$

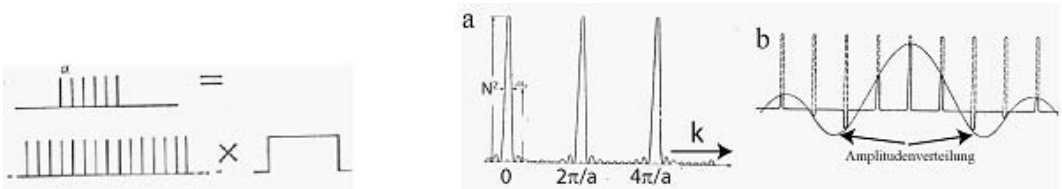


Figure 89: Abb. 1: Links: Symbolische Darstellung der Faltung des Gitters mit dem Spalt. Rechts: Intensitätsverteilung des Beugungsbildes des Gitters mit N Gitterpunkten.nach Gl.(2). b) Intensitätsverteilung bei Einschränkung der Reihe von δ-Funktionen durch einen Spalt.

Abb. 1b zeigt die Modulation der Amplitude der Reflexe. Dieser Fall entspricht in der Röntgen- und Neutronenbeugung der Berücksichtigung der Atomform-Faktoren.

Aufgabe 37.3:

Optische Transferfunktionen von Blenden und Aperturen

Wir betrachten die Frauenhofer-Beugung hinter einer kreisförmigen Lochblende mit dem Radius R. Die Durchlässigkeit des Schirms ist bestimmt durch die Funktion $\sigma(r) = 0$ für $r > R$ und $\sigma(r) = A$ für $r < R$. Man modifiziert Gl 37.1 durch Einführung von Zylinderkoordinaten (ρ, ϕ, z):

$F(k_x, k_y) = A \int d^2\vec{r}\sigma(r)e^{i\vec{k}\vec{r}} = A \int_0^{2\pi} d\phi \int_0^R dr e^{ikrcos(\vec{k}\vec{r})}$ (1)

Dabei ist $ikrcos(\vec{k}\vec{r})$ das Skalarprodukt der Vektoren $\vec{k}$ und $\vec{r}$. Man betrachtet in der Regel nur die Amplitudenverteilung in einiger Entfernung von der Blende da man dann nur das Fernfeld betrachten muss. Aufgrund der Zylindersymmetrie kann man über den Winkel ϕ integrieren. Das Integral über r führt zu Besselfunktionen erster Art:

$F(k, L) = A\frac{J_1(kr)}{kr}$ und $I(k, L) = A^2\frac{J_1(kr)^2}{(kr)^2}$ (2)

Dies ist die berühmte Gleichung des Airy Beugungsscheibchens für $R > \lambda$

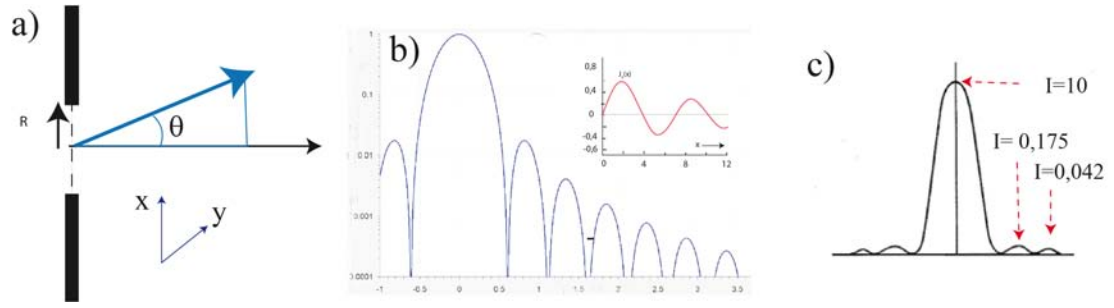


Figure 90: Abb1: a)Zur Berechnung des Airy Beugungsscheibchens und der Definition des Winkels θ. Der Abstand des Beobachtungsorts von der Blende sei L. b) Intensitätsverteilung nach Gl. (2. Das Bild wurde nach Wikipedia (Stichwort Beugungsscheibchen) modifiziert. Der Einsatz zeigt die Besselfunktion erster Art J_1. c) Intensitätsverteilung des Airy Beugungsscheibchens mit Angabe der relativen Amplituden der Maxima.

Der Durchmesser des zentralen Beugungsscheibchens ist durch die erste Nullstelle der Funktion $I(k)$ bestimmt. Diese beobachtet man unter dem Winkel $\theta = 1.2196\frac{\lambda}{R}$.

Zur Berechnung des Beugungsscheibchens für den Grenzfall $R << \lambda$ entwickeln wir $J_1(x)$ nach Potenzen von x und dividieren durch x (mit $x = kr$), um die Intensität nach Gl.2 zu berechnen:

$J_1(x) = \frac{x}{2} - \frac{1}{2}(\frac{x}{2})^2 + \frac{1}{12}(\frac{x}{2})^5 \quad \rightarrow \quad I(x) \propto 1 - (\frac{x}{2})^2 + \frac{1}{6}(\frac{x}{2})^4$

I(x) hat in erster Näherung die Form einer Gaußfunktion.

$I(x) \propto e^{-(\frac{kr}{2})^2}$

Wir haben schon mehrfach von der Tatsache gebraucht gemacht, dass die Airyfunktion im Grenzfall $R << \lambda$ die Form einer Gaußfunktion hat und gleich der Punktverteilungsfunktion punktförmiger Lichtquellen ist.

Das Prinzip von Babinet besagt: Eine Apertur (oder ein beliebiges geformtes Loch in einem Schirm) erzeugt dieselbe Beugungsfigur, wie eine Blende derselben Größe und Form. Man versteht das Prinzip, wenn man bedenkt, dass die Beugung durch ein Objekt allein durch den Dichteunterchied zwischen Objekt und Umgebung bestimmt ist.

Aufgabe 37.4:

Die Guinier-Gleichung als Methode zur Messung der Radien und Formen supramolekularer Komplexe.

Diese Aufgabe wird im Rahmen der Ergänzung über die Kleinwinkelstreuung in Appendix 37.A gelöst.

Aufgabe 37.5:

Das Rayleighkriterium zur Auflösung des Mikroskops

Berechnung über Beugungsscheibchen: Man kann einfach die Ergebnisse der Aufgaben 37.1 und 37.3 benutzen. In 37.3 haben wir die Breite des Beugungsscheibchens berechnet und angenommen, dass diese durch die erste Nullstelle der Funktion I(k) bestimmt ist (s. Abb.1). Diese beobachtet man unter dem Winkel $\theta_m = 1.2196\frac{\lambda}{R}$. In der mikroskopischen Abbildung hat das Beugungsscheibchen den Radius $r_{min} = 1.22\frac{\lambda f}{R}$. Nach der unteren Abbildung ist der minimale Abstand den zwei Objekt haben müssen, um getrennt beobachtet zu werden:

$d_{min} \approx 2.44\frac{\lambda f}{R}$

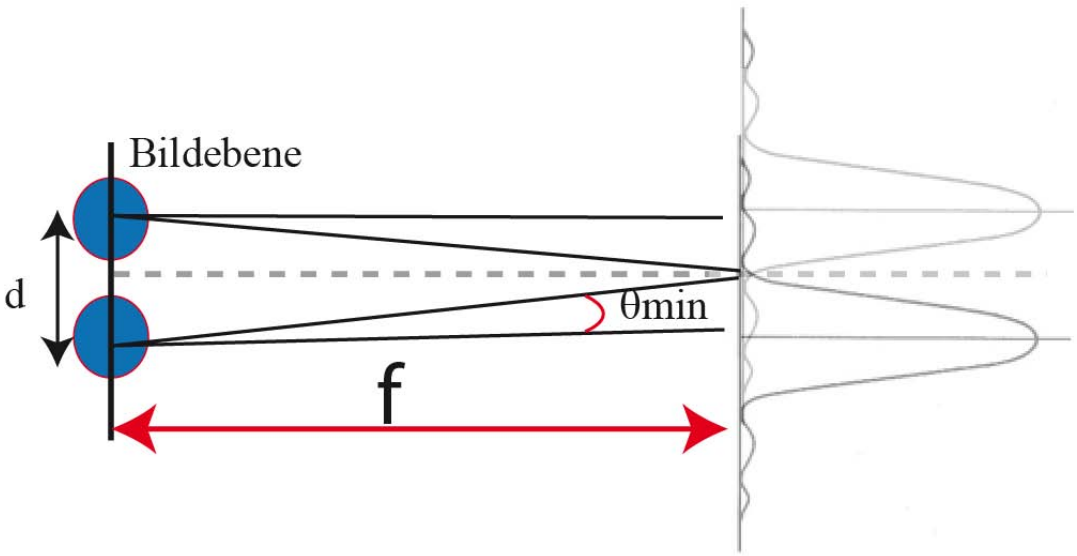


Figure 91: Abb.1: Zur Bestimmung des Auflösungsvermögens des Mikroskops.

Aufgabe 37.6:

Warum Vögel und Flugzeugen fliegen können.

Für die Beantwortung der Frage erinnern wir und an zwei fundamentale Gesetze der Hydrodynamik: Das Bernoulli Gesetz und die Helmholtzsche Wirbelsätze.

1. *Zu den Wirbelsätzen (in reibungsfreiem Medium):* (i) Eine wirbelfrei Strömung bleibt es für alle Zeiten. (ii) Entsteht in einer Strömung an irgend einer Stelle ein Wirbel (z. B. am hinteren Rand der Flügel, s. Abb. 1) so bleibt er für alle Zeiten erhalten und bewegt sich mit der Strömung (so wie der Ablösewirbel an den Flügeln). (iii) Die Zirkulation $Z = \oint_S dsu(s)$ einer Wirbelströmung bleibt erhalten. Der Grund für die Wirbelgesetze ist die Erhaltung des Drehimpulses.

(2) *Bernouilli-Gesetz:* Augrund der Energieerhaltung ist die Summe der potentiellen (dem Druck p) und der kinetischen Energiedichte ($\rho\frac{v^2}{2}$) konstant:

$p + \frac{1}{2}\rho v^2 = const$ (1)

Man nennt π den statischen Druck und $\Pi = \rho\frac{v^2}{2}$ den Staudruck. Im Schwerefeld kommt auf der linken Seite noch der Ausdruck ρgh (ρ Dichte; h: Höhe, g: g-Faktor) hinzu.

Anwendung: Der dynamische Auftrieb fliegender und schwimmender Körper. Es gibt zwei Gründe für den Auftrieb der Flügel, falls diese gegenüber der Oberfläche um den Anstellwinkel α geneigt sind (s. Abb.1). Der erste beruht auf dem tropfenförmigen Querschnitt. Dadurch wird die Strömungsgeschwindigkeit U_0 auf der Oberseite beschleunigt und auf der Unterseite verzögert (U_u). Ist der Unterschied Δv, so folgt aus Gl.1, dass die Auftriebskraft pro Fläche durch den Druckunterschied $\Delta p' \propto \rho U v$ gegeben ist. Berücksichtigt man die gesamte Strömung

und den Anstellwinkel α des Flügels (s. Abb.1), so steigt die Auftriebskraft pro Fläche nach [1] mit dem Quadrat von U: $F_A = const\rho U^2 a$

Der zweite Grund ist die Zirkularströmung um die Körper, die der Grundströmung überlagert ist (s. Abb.1). Sie ist die Folge der Wirbelsätze. Beim Anfahren löst sich vom Ende der Flügel ein Wirbel ab. Damit die gesamte Zirkulation Z_{tot} konstant ist, bildet sich um den Flügel eine Zirkularströmung Γ aus. Während der Anfahrwirbel am Ausgangspunkt zurück bleibt, bewegt sich Γ mit dem Flugzeug oder Vogel mit, und trägt dauernd zum Auftrieb bei. Der Auftrieb ist durch die berühmte Gleichung von Kutta-Zhukovsky gegeben:

$f_A = U\rho\Gamma$ (2)

Die Zirkularströmung um den Flügel trägt nicht zum Strömungswiderstand F_w bei. Am Ende der Flügel lösen sich jedoch ständig neue Wirbel ab und deren Erzeugung liefert einen wesentlichen Beitrag zum Widerstandsbeiwert (s. auch Aufgabe 25.3).

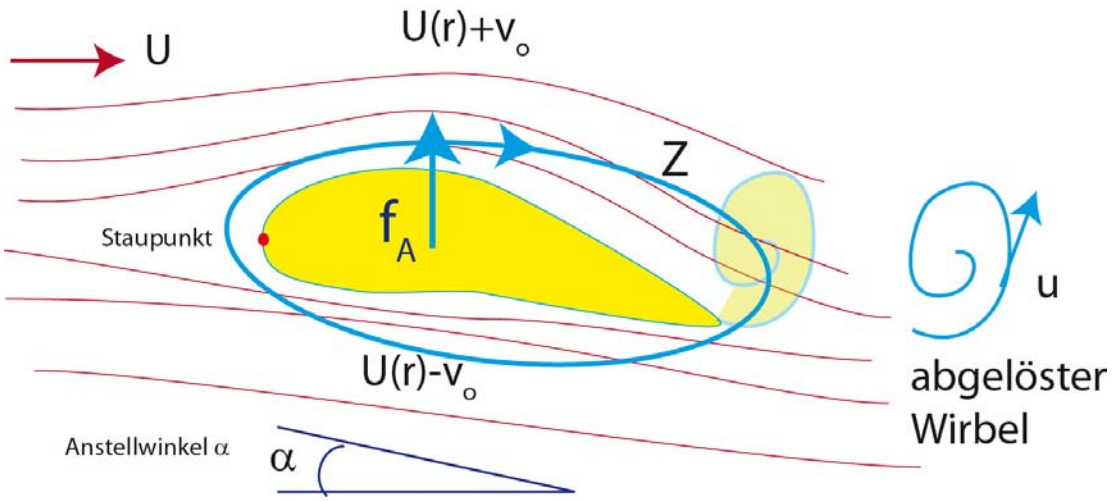


Figure 92: Abb.1. Zur Ausbildung der Zirkularströmung Z(v) um einen Flügel als Folge der Ablösung des Wirbels am Rand des Flügels.

Die Wirbelsätze spielen für das Fliegen von Vögeln eine besonders wichtige Rolle, da diese

häufig starten. Die Wirbel werden vorwiegend durch die Abwärtsbewegung der Flügel erzeugt. Noch raffinierter nutzen Insekten die Wirbelgesetze aus, indem sei die Flügel rotieren. Der interessierte Leser findet reichlich Literatur auf der Homepage von Z. Jane Wang: http://dragonfly.tam.cornell.edu.

Referenzen:

[2] Landau, L.D. und Lifshitz, E.M. 'Lehrbuch der theoretischen Physik' Band VI Hydrodynamik.

Vogel- und Insektenflug.

Dickinson, M. H. Lehmann, F.-O. . Sane, S. P, 'Wing Rotation and the Aerodynamic Basis of Insect Flight', Science 284,1954 (1999).

Z. Jane Wang, Dragonfly Flight, Physics Today, October (2008)

Aufgabe 37.7:

Über die Rolle der Reynoldszahl für Konstrukteure

Wie in Kapitel 37 gezeigt wurde, ist die dimensionslose Reynoldszahl Re gleich dem Verhältnis der Beschleunigungskraft (pro Fläche) zur dynamischen Scherspannung: $\sigma = \eta \frac{dU}{dz} \approx \eta \frac{u}{L}$, wobei L die Dimension des Objekts ist:

$Re = \frac{U\rho L}{\eta}$ (1)

Die Beschleunigungskraft $\frac{1}{2}\rho v^2$ ist identisch mit dem dynamischen Druck der Bernoulligle-

ichung (Aufgabe 37.6). Die in Gl. (1) benutzte Näherung $\frac{dv_x}{dz} \approx \frac{U}{L}$ wurde in der Aufgabe 11.2 begründet (allerdings für die mechanische Deformation).

Die Reynoldszahl wurde von Stokes 1851 eingeführt, während ihre Anwendung in der Technik erst durch O. Reynolds um etwa 1880 propagiert wurde. Sie spielt eine zentrale Rolle in den Ingenieurwissenschaften, bei der Übertragung der an Modellen erarbeiteten experimentellen und theoretischen Ergebnisse auf die Objekte in realer Größe. Außerdem charakterisiert sie den Übergang von der laminaren zur turbulenten Strömung, der oft bei einer kritischen Reynoldszahl R_c einsetzt. Wenn man die aerodynamischen Eigenschaften eines Vogels mit dem eines Flugzeugs vergleichen möchte, so kann man im Windkanal ähnliche Strömungsmuster durch Erhöhung der Geschwindigkeit einstellen.

Die Reynoldszahl spielt besonders für die Eigenschaften der laminaren Grenzschicht und damit die Reibung eine wichtige Rolle (s. [1] §39), wie schon in Aufgabe 25. 3 gezeigt wurde. Sie bestimmt das Verhältnis der Geschwindigkeitskomponenten parallel (U) und senkrecht (v_y) zur Grenzschicht oder deren Dicke δ:

$\frac{v_y}{U} \propto \sqrt{\frac{1}{Re}} \qquad \delta \frac{L}{\sqrt{Re}}$

Referenz:

1 Landau, L.D. und Lifshitz, E.M., 'Lehrbuch der theoretischen Physik' Band VI Hydrodynamik.

Aufgabe 37.8:

Messung des Wassergehalts der Proteine.

Ein zentrales Problem bei der Messung von Proteinmassen mittels Ultrazentrifugen ist der,

in der Regel unbekannte, natürliche Wassergehalt der Proteine. Man kann das Wasser durch Gefriertrocknen entfernen. Dabei wird in der Regel die Konformation der Proteine geändert oder sie werden völlig denaturiert. Durch Zugabe von Gefrierschutzmitteln (cryoprotectants), wie Sucrose, kann man die Denaturierung verhindern. Eine einfache Methode beruht auf der in der Aufgabe beschriebenen Volumometrie. Man gibt das getrocknente Protein (hier 1g der Dichte $\rho_P = 1.27\frac{g}{Mol}$) zu Wasser mit genau bekannter Dichte ρ_W. Man erwartet eine Volumenzunahme von $\Delta V_{theor} = 0.79cm^3$. Beobachtet wird aber nur $\Delta V_{exp} = 0.75cm^3$, d.h. Wasser ist zwischen die Proteine eingedrungen, ohne dieses wesentlich aufzuquellen. Der Wassergehalt ist:

$x_W = \frac{\Delta V_{theor} - \Delta V_{exp}}{V_0} = \frac{0.03}{0.78} = 4\%$

Referenz: Allgemeine Literatur zum Wassergehalt von Proteinen: Towns, JK. (1995). Moisture content in proteins: its effects and measurement J. of Chromatography A 705: 115-127.

Aufgabe 37.9:

Zur Trennung von Proteinen mittels statischer Zentrifugation.

Bei der Sedimentationsmethode beobachtet man (bei kleinen Drehzahlen) die Verteilung der Proteine im Schwerefeld. Aufgrund der Diffusion stellt sich nach Gl.37.13 eine Boltzmann-Verteilung der Dichte ein. Das Verhältnis der Teilchendichten $\frac{n_1}{n_2}$ in den Abständen r_1 und r_2 ist:

$\frac{n_1}{n_2} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}} = e^{-\frac{m^* \omega^2}{2k_B T}(r_2^2 - r_1^2)}$ (1)

Berechnung von $\frac{n_1}{n_2}$ mit folgenden Daten: Winkelgeschwindigkeit $\omega = 1.000\frac{rad}{s}$ (ca. 10.000 U/min). Hämoglobin Dichte $\rho = 1.33\frac{g}{cm^3}$. Molekulargewicht $65000\frac{g}{Mol}$; $m^* = (1-\frac{\rho}{\rho_0})m \approx 0.25 \cdot m$; $\omega^2 = 4 \cdot 10^7 \frac{1}{s^2}$; $r_1 = 10cm$; $r_2 = 9.8cm$ und $(r_2^2 - r_1^2) = 4cm^2$ und $\omega^2(r_2^2 - r_1^2) = 1.6 \cdot 10^4 \frac{m^2}{s^2}$. Das

Gewicht des Hb ist m=$\frac{65000}{6.3 \cdot 10^{23}} = 1.03 \cdot 10^{-19} g$; $m^* = 2.5 \cdot 10^{-20} g = 2.5 \cdot 10^{-23} kg$. Daher wird $\Delta E = 1.8 \cdot 10^{-19} J$ und:

$\frac{n_1}{n_2}\, e^{-50} \approx 10^{-22}$.

Das Ergebnis zeigt, dass die exponentielle Verteilung der Protein am Boden des Zentrifugenrörchens sehr scharf ist. Daher ist es unmöglich, Proteine ohne Dichtegradienten zu separieren

Aufgabe 37.10:

Die Schlierentechnik zum Nachweis der Sedimentation.

Zur Messung der Sedimentationsgeschwindigkeit der Teilchen während der Zentrifugation wird auch die Schlieren-Technik angewandt. Diese interessante Technik geht eigentlich auf Robert Hook zurück und wurde von A. Toepler zu einer Schlierenmikroskopie ausgebaut (1864). Sie spielt aber auch eine wichtige Rolle zur Visualisierung von Strömungen in der Hydrodynamik und Aerodynamik, wie die zwei Beispiele in Abb. 1b zeigen.

Bei der Anwendung in der Zentrifuge nutzt man die starke Abhängigkeit des Brechungsindex n(c) makromolekulare Lösungen von der Konzentration aus. In erster Näherung gilt:

$n = const(< n > + \frac{\partial n(r)}{\partial c} c(r))$

Beim Durchtritt durch einen Gradienten des Brechungsindexes wird der Lichtstrahl wird in Richtung zur größeren Konzentration hin gebrochen. Das ungebrochene Licht wird durch die Blende im Fokus abgeblockt, wodurch ein helles Bild des Gradienten $\frac{dc}{dr}$ auf dunklem Hintergrund entsteht.

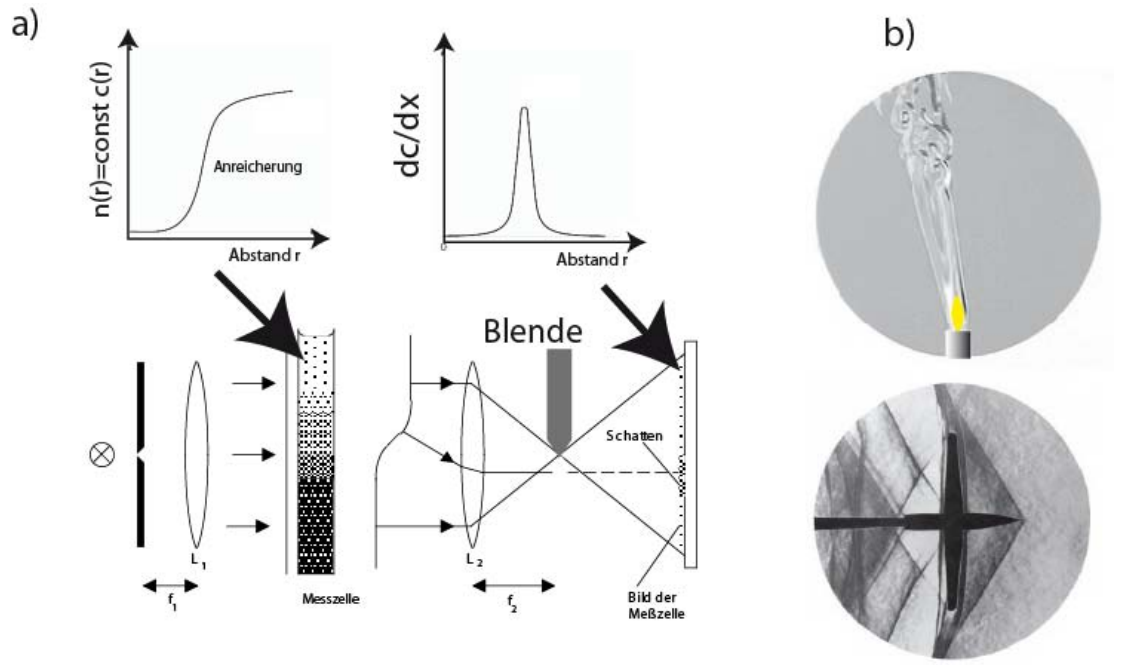


Figure 93: Abb. 1:a) Optisches System zur Beobachtung eines Konzentrationsgradienten mit Hilfe der Schlieren-Technik (Dunkelfeld-Version). Nur Licht, das an dem Konzentrationsgradienten gebeugt wird, kann an der Blende vorbei gelangen, daher ist das Licht im Bereich homogener Konzentration dunkel (siehe z.B. [1]). b) Zwei Beispiel der Beobachtung der Dichteschwankungen der Luft mittels Schlierentechnik. Oben: Aufsteigende Luft über einer brennenden Kerze. Unten: Berühmtes Bild des Mach'schen Kegels beim Überschallflug. Beide Bilder stammen aus Wikipedia.

Referenz:

[1] Bergmann, Schäfer, Lehrbuch der Experimentalphysik - Band 3: Optik, de Gruyter - Berlin/New York, 10. Aufl. - 2004

Aufgabe 37.11:

Eigenschaften der Diffusionsgleichung:

Die Gaußfunktion in 1D: $c(x,t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}}$

Die Gaußfunktion in 3D: $c(x,t) = \frac{1}{\sqrt{4\pi D^3 t^3}} e^{-\frac{r^2}{4Dt}}$

Das mittlere Verschiebungsquadrat (= Varianz):

In 1D: $< x^2 >= \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} \int_{-\infty}^{\infty} x^2 e^{-\frac{x^2}{4Dt}} dx = 2Dt = \sigma^2$

In 3D: $< r^2 >=< x^2 + y^2 + z^2 >= \frac{1}{\sqrt{4\pi D^3 t^3}} \int_{-\infty}^{\infty} x^2 e^{-\frac{x^2+y^2+z^2}{4Dt}} dx = 6Dt$

Aufgabe 37.12:

Scherinduzierte Aktivierung des vonWillibrandt-Fakors (vWF)

Der von Willibrandfaktor (vWF) spielt eine zentrale Rolle bei der Blutgerinnung (Hämostasie, engl. hemostasis) und bei der Wundheilung. Er wird von den Endothelzellen gebildet und schwimmt im Blutstrom mit. Es handelt sich um einen sehr großen supramolekularen Proteinkomplex, der aus mehreren Glykoproteinen besteht. Die Multimere können aus bis 80 Proteinen mit 250kDa Gewicht bestehen. Jedes dieser Bausteine enthält Bindungsstellen für verschiedene Bindungspartnern des Gewebes, (wie Kollagen, Fibronektin und Heparin) oder der Zellen (wie dem Integrin $\alpha II_b \beta III$ und dem Glykoprotein-Rezeptor Ib/IX der Blutplättchen). Dadurch bildet der vWF eine Brücke zwischen dem Gewebe und den Zellen und dient der

Vernetzung der Blutplättchen. Im Ruhezustand besitzt der vWF eine globuläre Struktur (mit Durchmessern von 50nm). Um die Koagulation des Blutes zu vermeiden, sind die meisten Bindungsstellen im Innern verborgen (s. Abb. 1a). Wird der vWF jedoch an einer Stelle fixiert und einer hydrodynamischen Strömung ausgesetzt so wird es gestreckt. Viele Bindungsstellen werden exponiert, d.h. der Proteinkomplex wird aktiviert. Die Knäulbildung ist also eine Art Selbstbehinderung des Proteinkomplexes.

Man nimmt an, dass eine solche hydrodynamisch induzierte Aktivierung bei der Wundheilung eine wichtige Rolle spielt, und zwar auf folgende Weise. Wenn die Adern durch eine Verletzung geöffnet werden, so erhöht sich die Strömungsgeschwindigkeit in diesem Bereich des Blutes. Der globuläre vWF wird geöffnet und verbindet die Blutplättchen mit Kollagen und Fibronektin, die ein Netzwerk bilden und die Wunde schließen.

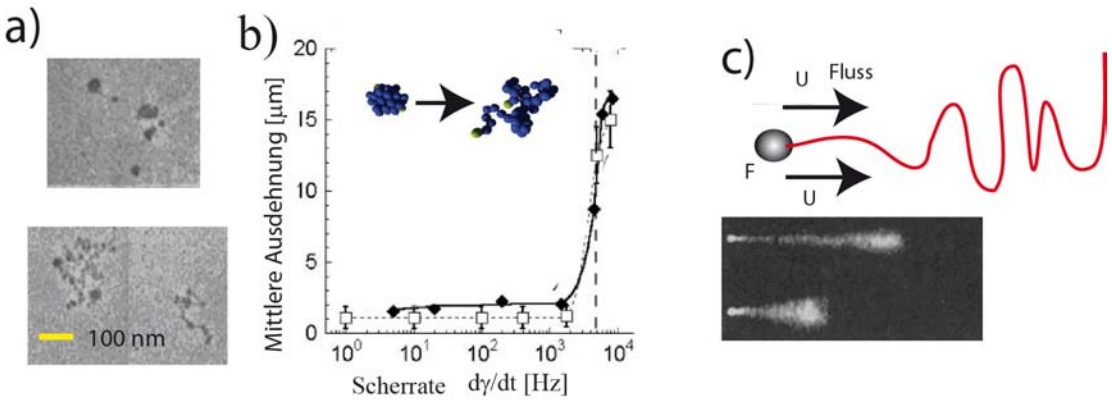


Figure 94: Abb1. a) Elektronenmikroskopieaufnahme des vWF nach [1], oben im globulären und unten im gestreckten Zustand. Das Bild stammt aus [1]). b) Streckung des globulären Komplexes im Scherfeld nach Schneider et al [2]. c) Ein Modellexperiment: Streckung globulärer DNA durch hydrodynamische Scherfelder nach [3]. Ein Ende wurde an ein Latexkügelchen fixiert und festgehalten. Es schwebt daher frei in der Lösung. Im Fluß wird das Polymer gestreckt und nimmt eine trompetenartige Form an, da die Reibungskraft am Fixpunkt am größten ist.

Das Experiment von M. Schneider et al. [1] liefert experimentelle Hinweise auf dieses Modell.

Die vWF wurden auf dem Boden einer Mikrozelle fixiert, die mit Kollagen bedeckt wurde. Hydrodynamische Scherfelder wurden über oberflächenakustischen Wellen erzeugt. Da sich akustische Anregungen auf Oberflächen als tangentiale Wellen ausbreiten können, lassen sich damit starke hydrodynamische Flüsse an fest-flüssig-Grenzflächen aufbauen. Man benutzt dabei piezoelektrische Bauelement, die über aufgedampfte Mikroelektroden angeregt werden. Man kann andererseits die Mikroelektroden als Empfänger akustischer Signale einsetzten was zum Aufbau von Biosensoren benutzt wird. Man analysiert dabei die Modulation der Wellenausbreitung durch biofunktionale Schichten. Abb. 2b zeigt die mittlere Ausdehnung des vWF bei steigender Scherrate $\frac{d\theta}{dt}$. Bei $\frac{d\theta}{dt} \geq 5000s^{-1}$ verlängert sich der Komplex und wird gestreckt. Gleichzeitig bilden sich durch den Kontakt mit Kollagen zweidimensionale Netzwerke aus. In der Regel sind die Scherraten in dünnen Blutgefäßen mittlerer Größe $(20 - 30\mu m)$ von der Größenordnung $\frac{d\theta}{dt}$ $1013k_BT$. Im Bereich der durch Verletzung entstehenden Öffnungen der Blutgefässe kann die Scherrate aber sehr viel größer werden.

Es gibt eine Reihe theoretischer Modelle der scherinduzierten Streckung von Makromolekülen, auf die der interessierte Leser hingewiesen werden soll. Von Brochard et al wurde ein Modell auf der Basis des de-Gennes Blob-Modells flexibler Polymere entwickelt [3]. Netz et al [4] simulierte die Streckung des vWF durch Computersimulationen. Ein biologisch besonders relevantes Experiment stammt von Perkins et al.[5]. DNA wurde mit einem Ende an einer Kraftsonde fixiert und (ohne Berührung mit einer Oberfläche) im Scherfeld gestreckt. Die Deformation zeigt Abb. 1.c.

Referenzen:

1 Ohmori, K., (1982) 'Electron microscopy of human factor VIII/von Willebrand glycoproteinglycoprotein' effect of reducing agents oln structure and function. J. Cell Biology. 95:632-640.

2 Schneider, SW., et al (2007), 'Shear-induced unfolding triggers adhesion of von Willebrand

factor fibers.' PNAS 104: 7899-7903.

3 Brochard, F., et al. (1994) 'Unwinding of Polymer Chains under Forces or Flows.' Europhys. Letters 26: 511-516

4 Alexander-Katz A., et al (2006) Phys Rev Lett. 97: 138101.

5 Perkins, TT. et al. (2995) Stretching oif single tethered polymer in uniform flow. Science 268: 83-86.