

# Aktinwellen im Kontext der Zellbewegung

Dissertation

zur Erlangung des Grades  
des Doktors der Naturwissenschaften  
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät II  
- Physik und Mechatronik -  
der Universität des Saarlandes

von

DIPL.-PHYS. ALEXANDER DREHER



Saarbrücken, 2014

Tag des Kolloquiums: 29.01.2015

Dekan: Prof. Dr. Georg Frey

Mitglieder des Prüfungsausschusses: Prof. Dr. Ralf Seemann,  
Prof. Dr. Dr. Karsten Kruse,  
Prof. Dr. Ludger Santen,  
PD Dr. Michael Koblischka





# Zusammenfassung

Lebende Zellen bilden ein faszinierendes System, das sich ernährt, wächst, sich selbst repliziert, selbstorganisiert und bewegt. Abhängig vom Zelltyp und den Umgebungsbedingungen können unterschiedliche Arten der Bewegung identifiziert werden. *Dictyostelium discoideum*, eine spezielle Art aus der Klasse der Schleimpilze, kriecht auf festen Unterlagen durch die Ausbildung und das Zurückziehen von Ausstülpungen am Leitsaum der Zelle. Die dabei entstehenden unregelmäßigen Bewegungsmuster werden als amöboidale Bewegung charakterisiert.

Eine entscheidende Rolle bei der Bewegung von Zellen spielt das Zytoskelett, ein hochdynamisches Netzwerk fadenförmiger Polymere, das sich dauerhaft außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts befindet. Viele experimentelle Ergebnisse der letzten Jahre deuten darauf hin, dass die Entstehung der Ausstülpungen durch Polymerisation von Aktinfilamenten, eines der Polymere des Zytoskeletts, hervorgerufen wird. Bei der Organisation des Aktinnetzwerkes werden in diesem Zusammenhang propagierende Wellen beobachtet. Diese Wellen könnten für die Organisation der einzelnen Komponenten des Zytoskeletts während der Zellbewegung verantwortlich sein.

In der vorliegenden Arbeit untersuchen wir einen spezifischen Mechanismus zur Erzeugung spontaner Wellen im Kontext der Zellbewegung. Ein wichtiger Aspekt ist hierbei die Wechselwirkung der Polymerisationswellen mit der Zellmembran, die mit Hilfe eines Phasenfeld-Ansatzes untersucht wird. Neben den Zuständen gerichteter Bewegung zeigen die numerischen Lösungen ein unregelmäßiges Muster scheinbar zufälliger Bewegung, das mit Spiralwellen in der Aktinverteilung verknüpft ist. Diese Art der Fortbewegung erinnert stark an die Bewegung kriechender Zellen und wurde in *Dictyostelium discoideum* und dendritischen Zellen experimentell beobachtet. Weiterhin lässt sich konstatieren, dass amöboidale Bewegung im Wesentlichen durch die deterministische, chaotische Dynamik der Aktinfilamente hervorgerufen wird. Wir zeigen darüber hinaus, dass die Zelle in der Lage ist, mit Hilfe spontaner Polymerisationswellen des Zytoskeletts topographische Strukturen zu erspüren und ihre Bewegung durch die Geometrie der Struktur geleitet wird.



# Abstract

Living cells constitute a fascinating system that feeds, grows, replicates, self-organizes and moves. Depending on the cell type and environmental conditions, different kinds of motion can be identified. *Dictyostelium discoideum*, a slime mold, can crawl on solid substrates using protrusions along the cell periphery. The resulting irregular patterns of motion are characterized as amoeboidal cell crawling.

The cell's ability to crawl depends to a large extent on the cytoskeleton, a highly dynamic network of filamentous polymers, that is constantly kept out of thermodynamic equilibrium. A large number of recent experimental evidence indicates that the protrusions result from polymerization of actin filaments, one of the polymers of the cytoskeleton. Spontaneous formation of actin polymerization waves has been observed. These waves have been proposed to orchestrate the cytoskeletal dynamics during cell crawling.

In this thesis we investigate a specific mechanism of actin wave generation in the context of cell migration. An important aspect is the interaction between polymerization waves and the cell membrane, which we study using a phase-field approach. Numerical solutions show two distinct modes of motion. Firstly, a state of directed motion and secondly, a pattern of seemingly random motion that is connected to spiral actin waves in the cell interior. This kind of motion is reminiscent of amoeboidal cell crawling and has been observed experimentally in *Dictyostelium discoideum* and dendritic cells. We show further that amoeboidal motion results from a deterministic, chaotic dynamic of actin filaments and does not require noise. In addition, we show that polymerization waves are able to sense topographical structures and are capable of adapting the cell's motion to the constraints given by this environment.



# Inhaltsverzeichnis

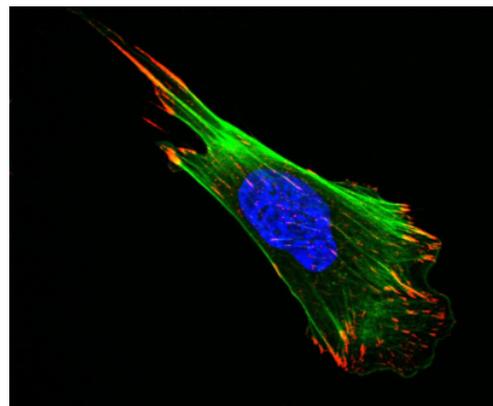
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Die Biologie der Zelle</b>	<b>5</b>
2.1	Zwei verschiedene Zellarten . . . . .	5
2.2	Das Zytoskelett . . . . .	7
2.3	Drei Arten von Zytoskelettfilamenten . . . . .	9
2.3.1	Aktinfilamente . . . . .	9
2.3.2	Mikrotubuli . . . . .	14
2.3.3	Intermediärfilamente . . . . .	17
2.4	Motorproteine . . . . .	19
2.5	Selbstorganisierte Strukturen in der Zelle . . . . .	22
2.6	Aktinbasierte Zellbewegung . . . . .	23
2.6.1	Aktinpolymerisierung als Krafterzeugungsmechanismus . . . . .	24
2.6.2	Kriechbewegung von Zellen . . . . .	24
2.6.3	Zellbewegung durch Blebbing . . . . .	30
2.7	Äußere Signale und Zytoskelettwellen können Zellen spontan polarisieren . . . . .	31
<b>3</b>	<b>Physikalische Zugänge zur Beschreibung des Zytoskeletts</b>	<b>37</b>
3.1	Phänomenologisch makroskopische Beschreibungen . . . . .	37
3.2	Mikroskopische Beschreibungen . . . . .	41
3.3	Mesoskopische Meanfield-Beschreibungen . . . . .	42
<b>4</b>	<b>Theoretische Beschreibung des Aktin-Zytoskeletts</b>	<b>47</b>
4.1	Kinematische Beschreibung des Aktinfilament-Aufbaus . . . . .	47
4.2	Kinematische Beschreibung der Nukleationsproteine . . . . .	52
4.3	Spontane Wellen können erzeugt werden . . . . .	54
<b>5</b>	<b>Phasenfeld-Beschreibung räumlich abgegrenzter Aktin-Dynamik</b>	<b>59</b>
5.1	Der Phasenfeld-Ansatz . . . . .	59
5.2	Dynamik des Phasenfeldes . . . . .	63
5.3	Kopplung der Aktin- und Nukleatoren-Dynamik an das Phasenfeld . . . . .	65
5.4	Kräftegleichgewicht . . . . .	66

<b>6</b>	<b>Bewegungsmuster werden durch spontane Polymerisationswellen erzeugt</b>	<b>69</b>
6.1	Stationärer Zustand . . . . .	69
6.2	Gerichtete Bewegung . . . . .	71
6.3	Irreguläre Bewegung . . . . .	75
6.4	Überblick über die Bewegungsmuster . . . . .	81
<b>7</b>	<b>Zellen bewegen sich auf strukturierten Oberflächen</b>	<b>89</b>
7.1	Die Topographie der Oberfläche wird durch ein Phasenfeld repräsentiert .	89
7.2	Die Form der Hindernisse entscheidet über die Vorzugsrichtung der Bewegung	94
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>97</b>
	<b>Anhang</b>	<b>105</b>
A	Herleitung der Gleichungen für die Aktin-Dynamik . . . . .	105
B	Entdimensionalisierung und Parameterwerte . . . . .	109
C	GPU-basierte Programmierung . . . . .	111
	<b>Eidesstattliche Versicherung</b>	<b>117</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>119</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>121</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>125</b>

# 1 Einleitung

Lebende Zellen sind faszinierend. Alle Lebewesen vom kleinen Einzeller bis zu den Giganten der Tier- und Pflanzenwelt bestehen aus Zellen als Grundbaustein jeglicher Form von Lebens auf der Erde. Der Körper eines erwachsenen Menschen besteht aus über 100 Billionen Zellen und ihren Produkten. Erstmals verwendet wurde der Begriff „Zelle“ nach der Erfindung des Lichtmikroskops 1665 durch Robert Hooke [1]. In den Jahren 1838/39 stellten der Botaniker Matthias Schleiden [2] und der Physiologe Theodor Schwann [3] dann fest, dass alle Lebewesen aus Zellen bestehen. Heute, etwa 180 Jahre nach der revolutionären Entdeckung von Schleiden und Schwann, gibt es immer noch viele unbeantwortete Fragen auf dem komplexen Bereich der Zellbiologie und jeder Aspekt der winzigen Zellstrukturen wird minutiös untersucht. Die moderne Forschung kombiniert verschiedene Methoden der Physik, Chemie und Biologie miteinander, um zu einem integrierten Verständnis der elementaren Grundeinheit des Lebens zu gelangen. Gerade wegen der Komplexität von Zellen ist eine physikalische Beschreibung zellulärer Prozesse häufig möglich und sinnvoll.

Die Zelle bildet ein bemerkenswertes System, das sich ernährt, wächst, sich teilt, auf äußere Reize reagiert, sich selbst repliziert und sich bewegt (vgl. Abb. 1.1). Immunzellen bewegen sich beispielsweise zielgerichtet auf Entzündungsherde zu und bilden die erste Front für die Abwehr von Krankheitserregern. T-Lymphozyten, eine Gruppe von weißen Blutzellen, die der Immunantwort dienen, bewegen sich durch den Organismus, um die Antigene auf den Membranen von Körperzellen auf krankhafte Veränderungen zu untersuchen und um so unter anderem Krebszellen unschädlich zu machen [5]. Auch bei Verletzungen machen sich körpereigene Zellen auf den Weg, um das betroffene Gewebe zu erneuern [6].



**Abbildung 1.1:** Eine wandernde Zelle aus dem Bindegewebe. Aus [4].

Abhängig vom Zelltyp und den Umgebungsbedingungen können dabei unterschiedliche Arten der Bewegung identifiziert werden. Menschliche Immunzellen oder der Schleimpilz *Dictyostelium discoideum* bewegen sich unregelmäßig mit Hilfe von Ausstülpungen der Zellmembran voran. Im Gegensatz dazu behalten Keratozyten, Hautzellen von Fischen, im Wesentlichen während der Bewegung ihre charakteristische Zellform bei und bewegen sich gerichtet. Die Bewegung einer Zelle ist ein komplexer Prozess und eröffnet zahlreiche ungeklärte Fragestellungen. Wie genau funktioniert die Fortbewegungsmaschinerie von Zellen zeitlich und räumlich? Wie organisiert die Zelle ihre innere Struktur? Um diese Fragen aus physikalischer Sicht beantworten zu können, ist es nötig, den biologischen Aufbau einer Zelle zu verstehen. An der Bewegung einer Zelle ist das Zytoskelett, ein hochdynamisches Netzwerk fadenförmiger Proteine, maßgeblich beteiligt. Wie sich das Zytoskelett dabei organisiert und auf äußere Reize während dieses Prozesses reagiert ist weitgehend unverstanden.

Das Zytoskelett lässt sich physikalisch als aktives, polares Gel außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts beschreiben und zeigt dynamische Phänomene, die in passiven Systemen unbekannt sind [7, 8]. Die Strukturbildung im Zytoskelett einer Zelle ist ein beeindruckendes Beispiel für ihre Selbstorganisation. Zellen bewältigen den hochkomplexen Vorgang, bei dem aus unbelebten Molekülen lebendige Strukturen erwachsen ohne steuernde Instanz. Physikalisch bedeutet dies, dass das System als offenes System ständig im Energie-, Stoff- und Informationsaustausch mit seiner Umgebung steht. Als Selbstorganisation bezeichnet man in diesem Zusammenhang das spontane Auftreten neuer Strukturen und Verhaltensweisen, die sich fern vom energetischen Gleichgewicht befinden. Da die zu Grunde liegenden Vorgänge von selbst ablaufen, wenn die erforderlichen Bedingungen vorliegen, spricht man von Selbstorganisation.

Die Proteinfasern oder Filamente haben eine polare Struktur und geben dem Zytoskelett eine spezifische Ausrichtung, die mitunter für die gerichtete Bewegung von Zellen wichtig ist. Bisher gibt es nur wenige Hinweise darauf, wie Zellen sich selbst polarisieren [9]. Eine entscheidende Rolle könnten dabei jedoch Polymerisationswellen im Zytoskelett spielen. Polymerisationswellen können spontan durch die Wechselwirkung von Filamenten und speziellen Proteinen entstehen. Beispielsweise werden in Zellen propagierende Wellen bei der Organisation des Aktinnetzwerkes unter Einfluss des Proteinkomplexes Arp2/3 beobachtet [10, 11, 12, 13, 14, 15]. Diese womöglich spontanen Wellen stehen eng im Zusammenhang mit der Fortbewegung von Zellen. Zytoskelettwellen wurden auch in einigen theoretischen Arbeiten bereits beschrieben [16, 17, 18, 19].

Ziel dieser Arbeit ist es, das Verhalten des Zytoskeletts und den Zusammenhang zwischen Zytoskelett und Zellbewegung besser zu verstehen. Dazu wird in einer theoretischen Beschreibung das Verhalten des Zytoskeletts und die Auswirkungen spontaner Polymerisationswellen auf die Bewegung kriechender Zellen untersucht und ein möglicher deterministischer Mechanismus beschrieben.

Im zweiten Kapitel werden zunächst die für diese Arbeit relevanten biologischen Grundlagen geschaffen. Nach einer allgemeinen Einführung in die Biologie der Zelle, werden die einzelnen Komponenten des Zytoskeletts vorgestellt und detailliert betrachtet. Anschließend werden verschiedene Arten der Zellbewegung charakterisiert. Ein Hauptaugenmerk liegt dabei auf experimentellen Beobachtungen, die eng im Zusammenhang mit Polymerisationswellen und der Zellbewegung stehen.

Das dritte Kapitel stellt verschiedene Möglichkeiten der physikalischen Beschreibung des Zytoskeletts vor und diskutiert Vor- und Nachteile der jeweiligen Zugänge. Anschließend wird im vierten Kapitel ein System aus Aktinfilamenten im Wechselspiel mit Nukleationsproteinen in einem mesoskopischen Meanfield-Ansatz theoretisch beschrieben. Wir zeigen, dass das System in der Lage ist, spontane Wellen zu erzeugen.

Zur Beschreibung eines Zellfragmentes oder einer Zelle wird im fünften Kapitel der Phasenfeld-Ansatz eingeführt. Wir begrenzen die Dynamik der Aktinfilamente auf das Innere eines endlichen Gebietes, dessen beweglicher Rand die Zellmembran darstellt. Die neu erhaltenen dynamischen Gleichungen werden in Kapitel sechs analysiert. Unsere numerischen Lösungen zeigen unterschiedliche Formen der unregelmäßigen Bewegung, die mit der Entstehung von Polymerisationswellen in der Dynamik der Aktinfilamente verknüpft werden können. Das siebte Kapitel untersucht die Wechselwirkung zwischen Polymerisationswellen und ihrer Umgebung. Auswirkungen einer strukturierten Oberfläche sowie äußere Signale auf das System werden untersucht und in Bezug auf die resultierende Bewegung der Zelle interpretiert.

Abschließend werden in Kapitel acht die Methoden und Ergebnisse unserer Untersuchungen noch einmal im Hinblick auf die Situation in lebenden Zellen diskutiert.



## 2 Die Biologie der Zelle

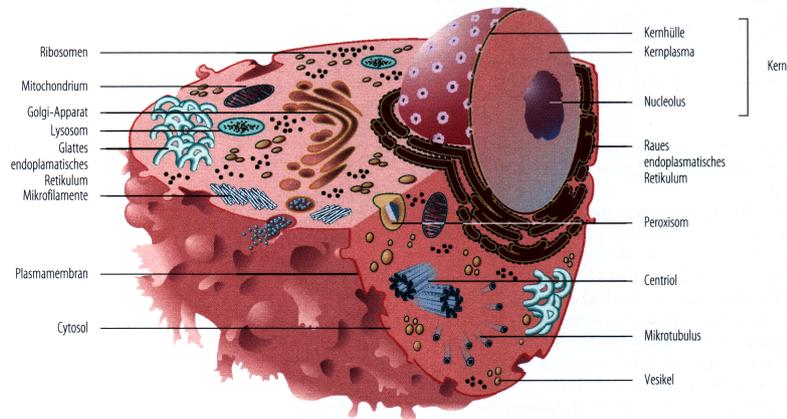
Viele Vorgänge in der Zelle besitzen offenbar physikalische Aspekte. In diesem Kapitel sollen zunächst die für diese Arbeit relevanten biologischen Grundlagen gelegt werden, um danach Mechanismen zellulärer Vorgänge physikalisch betrachten zu können. Eine ausführliche Darstellung der grundlegenden Biologie der Zelle findet sich in [20, 21, 22, 23], worauf ich mich, wenn nicht anders angegeben, in den nachfolgenden Abschnitten beziehe.

### 2.1 Zwei verschiedene Zellarten

Die Zelle ist die kleinste Einheit, die unter geeigneten Bedingungen alle essentiellen Eigenschaften des Lebens zeigt. Jede Zelle stellt als strukturell abgrenzbares und selbsterhaltendes System eine eigenständige Einheit dar, die bestimmte gemeinsame Charakteristika aufweist: ihre Abgrenzung nach außen erfolgt durch eine Zell- oder Plasmamembran, sie ist komplexer organisiert als ihre Umgebung und die Energiespeicherung erfolgt in Form von Adenosintriphosphat.

Unterscheiden lassen sich Zellen kategorisch in Prokaryoten und Eukaryoten, wobei sich die Prokaryoten wiederum in die beiden Domänen Eubakterien und Archaeen unterteilen lassen. Prokaryoten sind kugelig, stäbchenförmig, quadratisch oder spiralförmig und haben in der Regel eine Größe von 1-5  $\mu\text{m}$ . Zu ihnen zählen alle Zellen, die keinen sichtbaren Zellkern besitzen. Im Gegensatz zu den Eukaryoten, die einen durch eine Doppelmembran vom umgebenden Zytoplasma abgegrenzten Zellkern besitzen, befindet sich die DNA als Träger der genetischen Information bei den prokaryotischen Zellen frei im Zytoplasma. Sie sind von allen Zelltypen am einfachsten gebaut und besitzen keine membranbegrenzten Organellen, subzelluläre Strukturen, die bestimmte Funktionen ausführen. Unter den Eukaryoten mit einer Größe von 10-30  $\mu\text{m}$  subsumiert man alle Zellen, die einen sichtbaren Zellkern besitzen, sowohl Einzeller wie Amöben und Hefen als auch Vielzeller, zu denen Tiere, Pflanzen und Pilze gehören. Eukaryoten haben gegenüber den Prokaryoten eine weitaus höhere strukturelle und funktionelle Komplexität entwickelt. Die wesentlichen Bestandteile einer eukaryotischen Zelle sind der Zellkern und andere Zellorganellen, die Zell- oder Plasmamembran, das Zytoskelett sowie bei pflanzlichen Zellen und einigen Pilzen

zusätzlich die Zellwand (vgl. Abb. 2.1). Im Folgenden sollen die wichtigsten Zellorganellen einer eukaryotischen Zelle kurz beschrieben werden.



**Abbildung 2.1:** Die wesentlichen Bestandteile einer eukaryotischen Zelle. Aus [20].

Das markanteste Organell ist der Zellkern oder Nukleus, das genetische Steuerzentrum einer jeden Zelle. Umhüllt von einer doppelten Kernmembran enthält er die Desoxyribonukleinsäure (DNA), den genetischen Code der Zelle. In ihm sind alle Informationen für den Bau sämtlicher molekularen Zellkomponenten gespeichert. Häufig ist auch ein Kernkörperchen, der Nucleolus, erkennbar. Er enthält einen speziellen Teil des Genoms und ist an der Produktion der Ribosomen beteiligt, an denen Proteine gemäß des in der DNA codierten Bauplans hergestellt werden. Weitere Bestandteile des Zellkerns sind das Nukleoplasma, die Kernmatrix, die Chromosomen mit dem Chromatin und die Kernlamina, die den Rand des Zellkerns innenseitig verstärken.

Alle anderen Zellorganellen üben ebenfalls besondere Funktionen in der Zelle aus. Zu ihnen gehören beispielsweise die von einer Doppelmembran umgebenen Mitochondrien, die chemische Energie für die Zelle erzeugen. Durch die Oxidation von Nahrungsmolekülen wie Zucker und Fetten produzieren sie das energiereiche Molekül Adenosintriphosphat (ATP). ATP ist der grundlegende Kraftstoff, der die meisten Zellaktivitäten antreibt. Auch Chloroplasten, die eine wichtige Rolle im Stoffwechsel einer pflanzlichen Zelle übernehmen, sind mit einer Doppelmembran umhüllt. Weitere Organellen mit einfacher Membranhülle sind das Endoplasmatische Retikulum, das der Proteinbiosynthese dient, der Golgi-Apparat, der für den Transport von Vesikeln zuständig ist sowie Centriolen, Peroxisome und Lysosome, deren Funktionen detailliert in [21] erklärt werden.

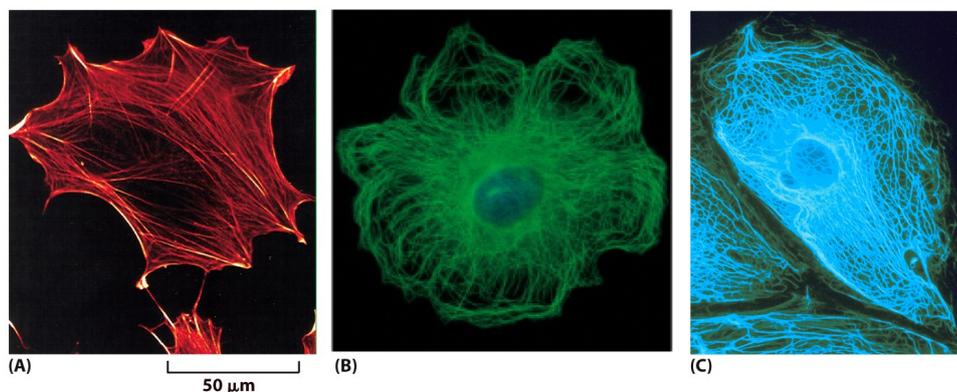
Die Zell- oder Plasmamembran stellt die äußere Begrenzung der Zelle dar und besteht aus einer Doppelschicht von Phospholipiden mit ein- und angelagerten Membranproteinen. Sie spielt bei der Zellbewegung und Zellteilung eine Rolle und dient dem Austauschprozess

mit der äußeren Umgebung. Sie umschließt das Zytosol, den flüssigen Bestandteil des Zytoplasmas, den man auch als ungeformten Restinhalt der Zelle bezeichnen könnte. Es enthält zahlreiche kleine und große Proteine, die so dicht gedrängt sind, dass es weniger die Eigenschaften einer wässrigen Lösung als vielmehr die eines Gels besitzt.

Das Zytoskelett ist ein Netzwerk aus Filamenten, die das Zytoplasma kreuz und quer durchziehen. Es ist verantwortlich für die Organisation der Zelle im Raum, deren mechanischen Eigenschaften und den Austausch von Information mit ihrer Umgebung. Da der Aufbau des Zytoskeletts essentiell für das Verständnis der vorliegenden Arbeit ist, sollen im nächsten Abschnitt seine wesentlichen Bestandteile und Aufgaben ausführlich erläutert werden.

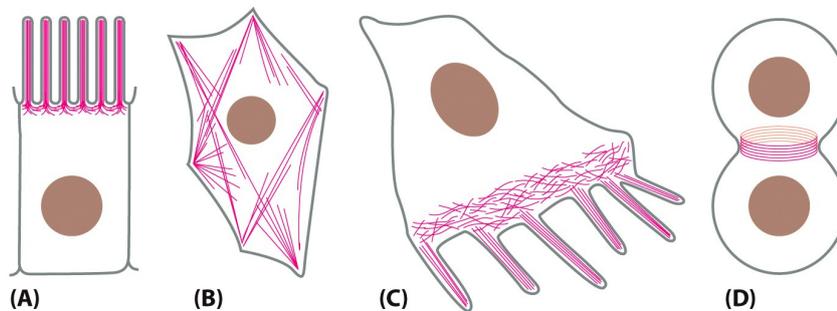
## 2.2 Das Zytoskelett

Damit Zellen korrekt funktionieren, müssen sie sich im Raum selbst organisieren und mechanisch, chemisch und möglicherweise auch elektrisch mit ihrer Umgebung wechselwirken. Sie sind mechanisch stabil, besitzen eine ihrer Funktion angepasste Form und adäquate innere Struktur. Alle Zellen müssen in der Lage sein, ihre inneren Komponenten neu zu ordnen, wenn diese wachsen, sich teilen oder sich auf wechselnde Bedingungen einstellen. Die zugrunde liegenden Prozesse und alle daran beteiligten Komponenten müssen zeitlich wie räumlich koordiniert und reguliert werden. Zellen haben diese regulatorischen Fähigkeiten bis zu einem sehr hohen Grad entwickelt. Sie beruhen auf einem außergewöhnlichen Filamentsystem, dem Zytoskelett, welches die physikalischen Eigenschaften von Zellen maßgeblich beeinflusst.



**Abbildung 2.2:** Filamente des Zytoskeletts. Aktinfilamente (A) sind rot, Mikrotubuli (B) sind grün und Intermediärfilamente (C) sind blau eingefärbt. Aus [21].

Im Gegensatz zu einem knöchernen Skelett ist das Zytoskelett eine äußerst dynamische Struktur, die sich neu organisiert, sobald die Zelle ihre Form ändert oder auf ihre Umgebung reagiert. Es besteht aus fadenartigen Polymeren, den Filamenten, die ein komplexes Netzwerk bilden (vgl. Abb. 2.2). Sie bilden ein dynamisches Gerüst, das die Zelle stützt und stabilisiert. Das Zytoskelett widersetzt sich Kräften von außen, welche die Zelle deformieren. Es bestimmt die Lage und Anordnung der Organellen und fungiert als „Schienennetz“, das die Wanderung von Substanzen und Organellen in der Zelle lenkt. Darüber hinaus erzeugt es Kräfte, mit dessen Hilfe sich Zellen fortbewegen, indem sie über eine Oberfläche kriechen oder in wässriger Umgebung schwimmen. Nicht zuletzt ist das Zytoskelett ein unentbehrlicher Bestandteil des Zellteilungsmechanismus.



**Abbildung 2.3:** Verschiedene aktinhaltige Strukturen sind rot eingefärbt. Mikrovilli (A), kontraktile Bündel im Zytoplasma (B), Lamellipodien und Filopodien einer wandernden Zelle (C), kontraktile Ring während der Zellteilung (D). Aus [22].

Man unterscheidet drei verschiedene Arten von Proteinfilamenten im Zytoskelett. Jeder Filamenttyp besteht aus anderen Untereinheiten und besitzt charakteristische mechanische Eigenschaften. Aktinfilamente spielen eine entscheidende Rolle bei der Bewegung von Zellen im Raum. Sie bilden die unterschiedlichsten Arten von Ausstülpungen an der Zelloberfläche, wie flächenartige Lamellipodien und fingerartige Filopodien. Stabile Strukturen wie die Mikrovilli der Bürstensaumzellen, die den Darm auskleiden, gehören ebenfalls zu den möglichen aktinbasierten Formen wie kontraktile Bündel im Zytoplasma, die sich zusammenziehen können (vgl. Abb. 2.3). Beispiele für die Aufgaben von Aktinfilamenten sind auch die Stabilisierung der äußeren Zellform sowie der intrazelluläre Transport. Weiterhin ist Aktin gemeinsam mit Myosin ein zentraler Bestandteil des Kontraktionsapparates der Muskeln [24]. Mikrotubuli übernehmen eine wichtige Rolle bei der Zellkernteilung (Mitose) als auch bei der Zellteilung (Zytokinese). Auch sie sorgen für eine mechanische Stabilisierung der Zelle und ihrer äußeren Form sowie für Bewegungen und Transporte, z. Bsp. von Vesikeln, innerhalb der Zelle. Zu den komplexen Mikrotubulus-Derivaten zählen u. a. Cilien und Flagellen, die nicht nur für die Zellbewegung von großer Bedeutung sind. Die dritte Gruppe bilden die sogenannten Intermediärfilamente. Sie übernehmen hauptsächlich

eine Stützfunktion und spielen bei der Zellfortbewegung eine untergeordnete Rolle. Seine volle Funktionalität entwickelt das Zytoskelett erst im Zusammenspiel mit zusätzlichen Proteinen. Zu diesen gehören z. Bsp. Motorproteine, die Kräfte und Spannungen erzeugen können und das Verschieben von Zellorganellen entlang von Filamenten ermöglichen, aber auch andere Proteine, wie der ARP-Komplex (engl. *actin-related-protein*), der den Aufbau von Aktinfilamenten fördert und an der vorrückenden Seite einer wandernden Zelle kontrolliert.

Physikalisch lässt sich das Zytoskelett als aktives, polares Gel außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts beschreiben [7, 8]. Durch die Hydrolyse von ATP wird ständig Energie in das System gepumpt. Somit befindet es sich dauerhaft außerhalb des thermodynamischen Gleichgewichts. Seine Eigenschaften ändern sich dynamisch abhängig vom intrinsischen Zustand. Aktinfilamente, Mikrotubuli und intermediäre Filamente bilden ein aktiv getriebenes Netzwerk, was ihnen ermöglicht, sich schnell an neue Anforderungen an die Zelle anzupassen. Die Vernetzungen bilden sich durch physikalische Wechselwirkungen im Gel und kommen durch Verschlingungen der Filamente oder durch nicht-kovalente Bindungen mit Verknüpfungsproteinen zustande. Neben dem daraus resultierenden viskoelastischen Verhalten, spielt auch die Polarität der Filamente eine Rolle für die Eigenschaften des Zytoskeletts.

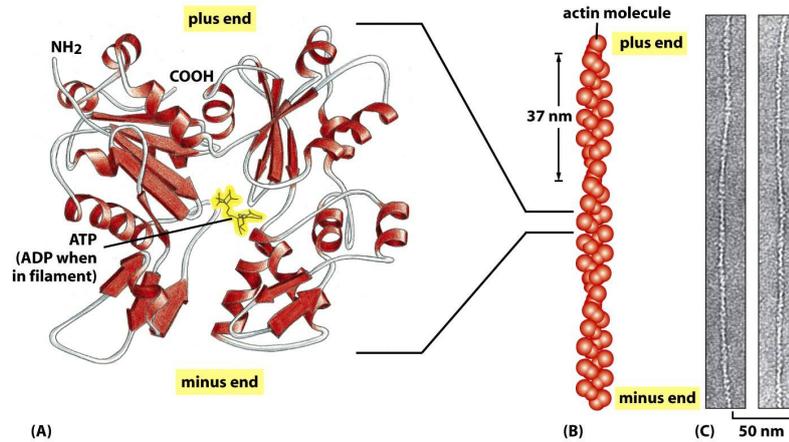
## 2.3 Drei Arten von Zytoskelettfilamenten

In diesem Abschnitt wollen wir die bereits erwähnten Proteinfilamente, auf deren Eigenschaften und molekularen Aufbau die vielfältigen Funktionen des Zytoskeletts gründen, ausführlicher betrachten. Jeder Filamenttyp hat charakteristische biologische Aufgaben, mechanische Eigenschaften sowie eine jeweils eigene Dynamik.

### 2.3.1 Aktinfilamente

Aktinfilamente sind dynamische Strukturen, die laufend neu entstehen, umorganisiert und wieder abgebaut werden. Durch Anbau oder Abbau von Untereinheiten können sie schnell verlängert oder verkürzt werden. Man nennt diesen Prozess Polymerisation (Aufbau) und Depolymerisation (Abbau).

Aktin ist ein im Laufe der Evolution hochkonserviertes 42 kDa schweres Protein, das in monomerer Form als globuläres G-Aktin bezeichnet wird. G-Aktin ist ein kugelförmiges Polypeptid, das oberhalb einer kritischen Monomerkonzentration und unter geeigneten Bedingungen zu langen, biegsamen Filamenten von F-Aktin mit einem Durchmesser von 5-9 nm polymerisieren kann, wobei beim Auf- und Abbau ATP durch Hydrolyse verbraucht



**Abbildung 2.4:** Aufbau eines Aktin-Monomers und eines Aktinfilamentes. (A) Schematisches Modell eines Aktin-Monomers mit einem ATP-Nukleotid in der Mitte des Moleküls. (B) Helikales Aktin-Filament mit Plus- und Minus-Ende. (C) Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Aktinfilamentes. Aus [21].

wird. F-Aktin besteht aus zwei Strängen von Aktinpolymeren, die zu einer rechtshändigen Helix mit einer Windungshöhe von 37 nm verdreht sind (vgl. Abb. 2.4).

Die Persistenzlänge  $L_p$  von Aktinfilamenten beträgt ungefähr  $17 \mu\text{m}$  [25]. Sie ist ein Maß für die Steifigkeit von Polymeren und gibt an, auf welcher Längenskala Richtungskorrelationen typischerweise relevant sind. Sie wird definiert durch

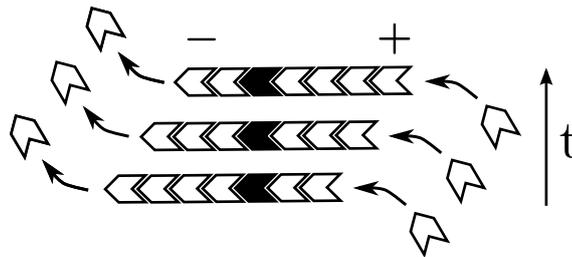
$$\langle \cos(\Delta\theta) \rangle = \langle \mathbf{t}(s) \cdot \mathbf{t}(s+x) \rangle = \exp(-x/2L_p) \quad ,$$

wobei  $\theta$  den Winkel zwischen den Tangentenvektoren  $\mathbf{t}$  an das Filament im Abstand  $x$  bezeichnet und  $s$  den Startpunkt. Da die Persistenzlänge von Aktinfilamenten und die typische Größe einer Zelle die gleiche Größenordnung haben, werden Aktinfilamente auch als semiflexibel bezeichnet.

Bei der Bildung eines neuen Filamentes lagern sich die Untereinheiten zunächst zu einem Anfangsaggregat, dem Nukleationskeim, aus drei Monomeren zusammen. Dies ist der langsamste und damit der ratenlimitierende Schritt in der Entstehung von Aktinfilamenten, da mindestens drei Monomere in der richtigen Orientierung aufeinander treffen müssen. Nach Überwinden dieser kinetischen Barriere werden weitere Monomere in eine wachsende Aktin-Kette eingebaut. Da das mit den Aktinmonomeren assoziierte ATP erst nach Einbau in das wachsende Filament hydrolysiert wird, besteht ein Aktinfilament überwiegend aus ADP- und ADP- $P_i$ -Untereinheiten [26]. Das globuläre Aktin-Molekül hat zwei unterscheidbare Enden, die man als Plus- und Minus-Ende bezeichnet. Die Polymerisation der Monomere erfolgt Kopf-an-Schwanz, d. h. es binden sich Enden unterschiedlicher Polarität aneinander.

Diese Polarität ist eine elementare Eigenschaft der Aktinfilamente und wesentlich für viele Prozesse, an denen sie beteiligt sind. Alle Monomere in einem Polymer haben dieselbe Orientierung, welche die Polarität des Filamentes definiert.

Sowohl am Plus als auch am Minus-Ende kommt es ständig zu Polymerisation und Depolymerisation, d. h. zu An- und Ablagerung von Monomeren. Da die Raten für An- und Abbau i. Allg. nicht gleich sind, kann es zu Längenänderungen der Filamente kommen. Solange die Konzentration an ATP-Monomeren hoch genug ist, polymerisieren beide Enden des Filamentes. Sinkt die Konzentration, erfolgt der Einbau der Untereinheiten aufgrund der höheren Affinität nur noch am Plus-Ende, wohingegen der Einbau am Minus-Ende zum Stillstand kommt. Bei weiterem Wachstum am Plus-Ende und sinkender ATP-Monomerkonzentration überwiegt der Abbau von Untereinheiten am Minus-Ende bis ein Zustand erreicht wird, an dem Polymerisation und Depolymerisation an beiden Enden einen stationären Zustand erreichen.



**Abbildung 2.5:** Schematische Darstellung einer „Treadmilling“-Dynamik. Am Minus-Ende lösen sich die Untereinheiten ab, füllen den Monomer-Pool auf und werden am Plus-Ende wieder eingegliedert.

Dieser Effekt führt zu einer Beobachtung, die man als „Treadmilling“ bezeichnet [21, 27]. Wegen der bereits erläuterten strukturellen Unterschiede der beiden Filamentenden kann die Rate für das Hinzufügen von Untereinheiten für das Plus-Ende viel höher sein als für das Minus-Ende. Dadurch werden Untereinheiten schneller am Plus-Ende als am Minus-Ende angelagert. Im Mittel wächst das Filament am Plus-Ende und schrumpft am Minus-Ende, verursacht durch unterschiedliche Polymerisierungsraten an beiden Enden. Jede Untereinheit wandert folglich vom Plus-Ende über die ganze Länge des Filamentes zum Minus-Ende, ohne dass sich dabei die Gesamtlänge des Filamentes ändert (s. Abb. 2.5).

Für den Quotienten der unterschiedlichen Polymerisations- und Depolymerisationsraten  $\nu_a^\pm$  und  $\nu_d^\pm$  an Plus- und Minus-Ende eines einzelnen Filamentes gilt [28]

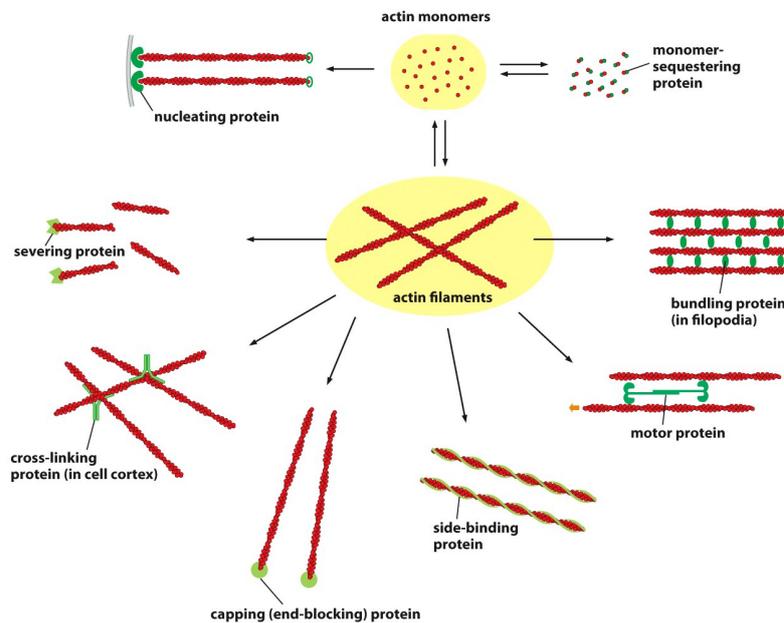
$$\frac{\nu_a^-}{\nu_d^-} = \frac{\nu_a^+}{\nu_d^+} = \exp\left(\frac{\Delta G}{k_B T}\right) \quad ,$$

wobei  $k_B$  die Boltzmann-Konstante und  $\Delta G$  die Differenz der freien Energie zwischen

gebundenem und ungebundenem Zustand eines Monomers bezeichnet. Wächst das Filament am Plus-Ende schneller als es am Minus-Ende schrumpft, so folgt daraus, dass  $\nu_a^+ \geq \nu_a^-$ . Insgesamt verschiebt sich daher das effektive Verhältnis zwischen Wachstums- und Schrumpfraten des Filamentes, wodurch der Eindruck entsteht, das Filament wandere durch das Zytosol, ohne dass sich die einzelnen Bausteine bewegen müssen.

Die Aktin-Dynamik ist sehr komplex. *In vitro* Experimente haben gezeigt, dass Aktinfilamente am Plus-Ende schneller wachsen, während die Verlängerung am Minus-Ende langsamer erfolgt [29]. Es zeigt sich, dass die Polymerisations- und Depolymerisationsraten für ein Aktinmonomer, das sich an ein Filament bindet oder von ihm löst, von mindestens sieben Faktoren abhängen. Neben den unterschiedlichen An- und Ablagerungsraten in Abhängigkeit des Filament-Endes, unterscheiden sich beide Raten auch darin, ob an der Aktin-Untereinheit Nukleotide (ATP, ADP, ADP-Pi) angebunden sind. ATP-Aktin fügt sich an beiden Enden am schnellsten an und löst sich vom Minus-Ende am schnellsten ab. Daher ist die Wahrscheinlichkeit, ATP-Aktin am Plus-Ende zu finden größer als am Minus-Ende. ADP-Aktin löst sich vom Plus-Ende am schnellsten ab. Auch die an das bestehende Filament gebundenen Nukleotide spielen eine Rolle. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein weiteres Monomer gebunden wird, bevor das ATP-Molekül am Filament-Ende hydrolysiert wurde, ist am Plus-Ende sehr viel größer als am Minus-Ende. Das führt dazu, dass sich am Plus-Ende Bereiche aus ATP-Aktin bilden [30, 31]. Weitere Einflussfaktoren sind das Alter der Filamente und der Einfluss von aktinbindenden Proteinen (s.u.). Nach *Kueh et al.* existieren *in vitro* zwei Populationen von Aktinfilamenten mit signifikant unterschiedlichen Schrumpfraten [32]. Filamente, die gerade erst polymerisiert wurden, lösen sich schnell wieder auf. Mit einer Geschwindigkeit von 1,8 Monomere/s geschieht dies überwiegend vom Plus-Ende her. Lange Filamente dagegen gehen in einen stabilen Zustand über und bauen sich langsamer, bevorzugt vom Minus-Ende her, wieder ab. Hier werden Geschwindigkeiten von 0,1 Monomere/s gemessen.

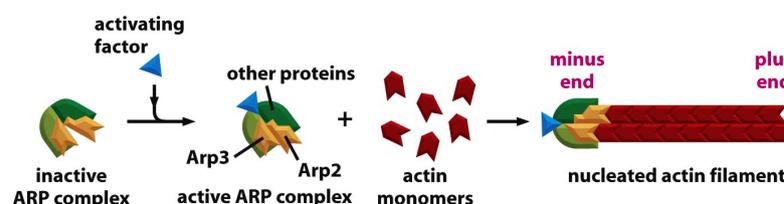
Viele Proteine in einer Zelle binden an Aktin, verändern seine Eigenschaften und beeinflussen das Gleichgewicht zwischen monomerer und polymerer Form (vgl. Abb. 2.6). Das Gleichgewicht kann lokal in einem bestimmten Abschnitt der Zelle durch Änderung der Bedingungen in Richtung des Auf- oder Abbaus verlagert werden. Thymosin, das als kleines Protein im Zytosol vorliegt, reguliert die Aktinpolymerisierung. Es verhindert durch Binden an die Aktinmonomere das Anlagern an ein Filament und sorgt so dafür, dass stets ein Vorrat an Monomeren im Zytosol zur Verfügung steht, bis sie benötigt werden [33]. Die Bildung eines neuen Aktinfilamentes kann ebenfalls über Proteine beschleunigt werden. Aktinverwandte Proteine (ARP) katalysieren beispielsweise die Nukleation von Aktinfilamenten und kontrollieren somit den Aktinaufbau an der vorrückenden Seite einer Zelle [10]. Als bekanntester Vertreter gilt der ARP2/3-Proteinkomplex, der aus Arp2, Arp3 sowie fünf



**Abbildung 2.6:** Aktinbindende Proteine steuern die Eigenschaften und das Verhalten von Aktinfilamenten. Aktin ist rot, die aktinbindenden Proteine grün dargestellt. Aus [22].

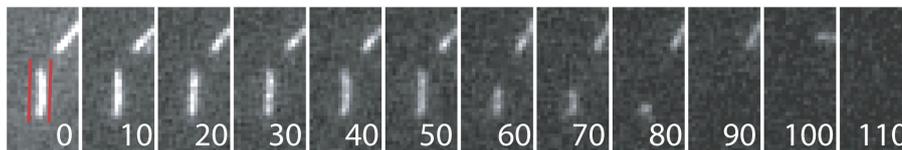
anderen Proteinen besteht. Durch Aktivierung ändert sich die Konformation des gesamten Komplexes und es entsteht eine Matrix, an die sich die Monomere anlagern können. Der geschwindigkeitsbegrenzende Schritt bei der Filamentkondensation wird so beschleunigt (vgl. Abb. 2.7).

Proteine, wie Profilin oder Formin, können die Rate für die Nukleation bzw. Polymerisierung beeinflussen. Sie steuern so die Länge des Filamentes [34, 35, 36, 37]. Gibt man zu polymerisierenden Aktinfilamenten in einer zytoplasmatischen Umgebung die Proteine Koronin, Kofilin und Aip1, wird ein Auflösen der Filamente, beginnend mit einem plötzlichen Aufbrechen, beobachtet [38]. Dieses Aufbrechen kann sowohl von den Filamentenden



**Abbildung 2.7:** Modell für die Keimbildung zur Filamentbildung durch den ARP-Komplex. Der geschwindigkeitsbegrenzende Schritt zur Filamentkondensation wird so umgangen. Aus [21].

her geschehen, aber auch mitten im Filament auftreten. Kofiline sind von Bedeutung an Stellen, an denen sich der Aufbau des Zytoskeletts dynamisch wandelt. Der durch Kofilin induzierte Abbau von Filamenten ist entscheidend für ein gerichtetes Wachstum des Aktinnetzwerkes und damit für das Kriechen von Zellen in eine Richtung. In Abbildung 2.8 ist eine zeitaufgelöste Fluoreszenzabbildung zu sehen, in der man das Aufbrechen und anschließende Auflösen eines einzelnen Filamentes beobachten kann. Das Ereignis, dass Filamente spontan um große Strecken schrumpfen oder vollständig depolymerisieren, wird als „Katastrophe“ bezeichnet. Über die Wechselwirkung von Aktinfilamenten mit Proteinen kann das Zytoskelett neu geordnet werden und die Umordnungsvorgänge dienen als Voraussetzung zur Steuerung dynamischer Vorgänge [38].



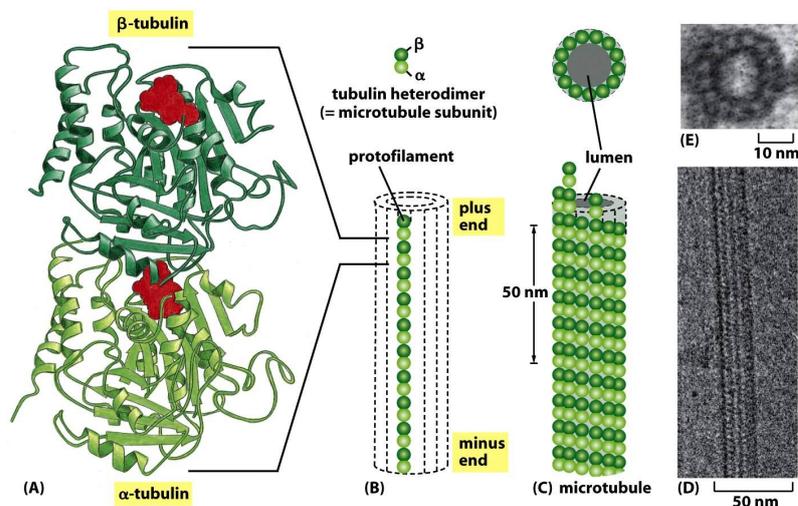
**Abbildung 2.8:** Aufbrechen von Aktinfilamenten bei Anwesenheit von Kofilin, Coronin und Aip1. Zeitaufgelöste Fluoreszenzaufnahme eines einzelnen Aktinfilamentes. Das Filament verkürzt sich und verschwindet nach 110 s aus dem Beobachtungsgebiet. Aus [38].

Ebenso kann Aktin durch die Erzeugung von Spannungen zur Beweglichkeit einer Zelle beitragen. *Peskin et al.* formulierten eine Theorie, welche die Ausübung einer axialen Spannung durch wachsende Polymere beschreibt. Sie zeigen, dass durch das Hinzufügen eines Monomers am wachsenden Ende, das Polymer die freie diffusive Bewegung eines Objektes vor sich ändern kann. Dieser Prozess produziert eine axiale Kraft, indem die freie Energie der Polymerisation genutzt wird, um die andererseits thermischen Fluktuationen der Last in eine Richtung zu lenken. Das Modell geht davon aus, dass das Polymer unendlich starr ist und dass einzig die Brownsche Bewegung der Last einen genügend großen Abstand zwischen Last und Filamentende erzeugt, so dass neue Monomere eingefügt werden können. Die Geschwindigkeit hängt folglich über den Diffusionskoeffizienten von der Größe der Last ab [39]. *Mogilner et al.* haben dieses Modell dann verallgemeinert und darin auch die Elastizität eines Polymers mitberücksichtigt [40].

### 2.3.2 Mikrotubuli

Mikrotubuli sind lange Röhren mit einem äußeren Durchmesser von 25 nm und einer Wandstärke von 4 nm. Genau wie Aktinfilamente sind Mikrotubuli aus Untereinheiten

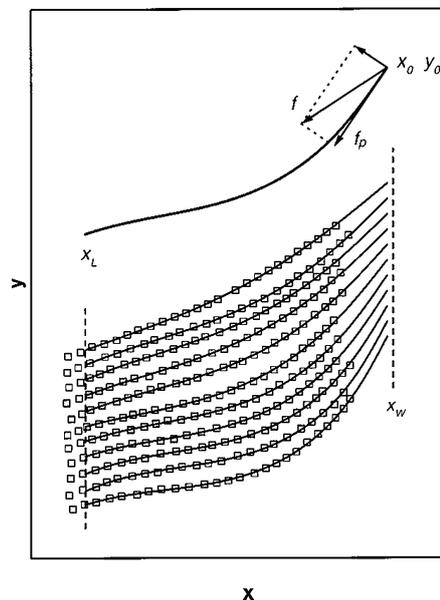
aufgebaut, den sog. Tubulin-Molekülen, die zunächst ein Protofilament bilden. Der zylinderförmige Mikrotubulus wird dann aus meist 13 parallelen Protofilamenten aufgebaut, die leicht gegeneinander verschoben sind. Durch diesen Aufbau sind sie relativ steif und haben eine Persistenzlänge von ungefähr 2 mm [41]. Die globulären 55 kDa schweren Tubulin-Untereinheiten lassen sich in  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulin unterscheiden. Die beiden Typen sind im Filament derart aufgereiht, dass sie stets einen Heterodimer aus zwei ungleichen Bestandteilen bilden. Wie bei den Aktinfilamenten entsteht so auch hier eine strukturelle Polarität, dadurch ausgezeichnet, dass sich am Plus-Ende eine Reihe von  $\beta$ -Tubulin-Molekülen und am Minus-Ende eine Reihe von  $\alpha$ -Tubulin-Molekülen befindet, die für Wachstum und Bewegungsrichtung von Bedeutung sind. (vgl. Abb. 2.9). Analog zur Funktion des ARP-Komplexes keimt der  $\gamma$ -Tubulin-Ringkomplex ( $\gamma$ -TuRC) Mikrotubuli von ihrem Minus-Ende aus und ermöglicht ein schnelles Wachstum an ihrem Plus-Ende. Der  $\gamma$ -TuRC dient als Matrize für die Zusammenlagerung der typischerweise 13 Protofilamente und ist an einer bestimmten Stelle, dem Mikrotubuli organisierenden Zentrum (MTOC) lokalisiert. Die Bedeutung der Nukleation als allgemeines Ordnungsprinzip in Zellen wird dadurch hervorgehoben, dass zwei unterschiedliche Filamentsysteme die gleiche Strategie zur Keimbildung benutzen.



**Abbildung 2.9:** Aufbau eines Tubulinheterodimers und Mikrotubuli. (A) Tubulinheterodimer aus den beiden globulären Proteinen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulin. (B) Schematischer Aufbau eines Protofilaments aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulin. (C) Mikrotubulus, gebildet aus 13 Protofilamenten. Aus [21].

Die Mikrotubuli wachsen durch Polymerisation von freiem Tubulin und zerfallen auch wieder in Untereinheiten. Damit die Tubulin-Dimere polymerisieren können, ist Guanosintriphosphat (GTP) nötig. Das GTP wird nach Einbau eines neuen Dimers in den Mikrotubulus zu Guanosindiphosphat (GDP) hydrolysiert. Erfolgt das Mikrotubuliwachstum sehr schnell, entsteht am Plus-Ende eine Kappe aus GTP-Tubulin-Untereinheiten. In

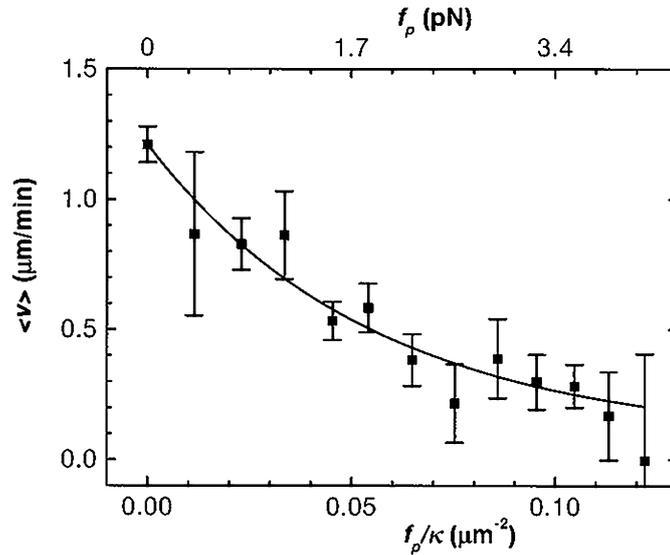
der Folge vergrößert sich der wachsende Mikrotubulus immer weiter. Durch eine spontane Reaktion kann es jedoch vorkommen, dass GTP am freien Mikrotubulusende hydrolysiert wird und eine GDP-Tubulin-Untereinheit entsteht. Durch diese Konformationsänderung entstehen mechanische Spannungen, die das gesamte Filament destabilisieren. Es beginnt rasch zu schrumpfen und kann sogar gänzlich verschwinden. Man spricht von einer dynamischen Instabilität. Darüber hinaus können durch die Polymerisation und Depolymerisation von Mikrotubuli Spannungen erzeugt werden, die für die verschiedensten Formen der Zellbewegung von Bedeutung sind. Die Bewegung der Chromosomen bei der Mitose hängt beispielsweise sowohl von der Polymerisation als auch der Depolymerisation von Mikrotubuli ab [42].



**Abbildung 2.10:** Analyse der Mikrotubuli Krümmungsprofile. Die offenen Quadrate zeigen die Mikrotubuli-Positionen, aufgenommen in einem 12 s Intervall. Die gestrichelte Linie auf der linken Seite markiert die Position der Wachstumskeime, die auf der rechten die Position der Wand. Die durchgezogene Linie ist eine Anpassung an die Form der Mikrotubuli. Aus [43].

Die Kraft, die einzelne Mikrotubuli erzeugen können, wurde von *Dogterom et al.* gemessen [43]. Dazu wurden die Mikrotubuli mit einem Ende an ein Substrat angeheftet, so dass das freie Ende gegen eine unelastische Wand polymerisieren konnte. Einige Mikrotubuli bewegten sich beim Auftreffen auf die Wand, bedingt durch kleine Unregelmäßigkeiten in der Form, nicht seitwärts zu ihr weiter. Diese Mikrotubuli krümmen sich, während sie mit einem Ende an einem festen Punkt mit der Wand verbunden bleiben. Sowohl die Amplitude als auch die Richtung der Kraft, die von jedem Mikrotubulus auf die Wand ausgeübt wird, werden somit durch die elastischen Rückstellkräfte der gekrümmten Filamente festgelegt.

Aus den Messdaten bestimmte man sowohl die Kraft auf das Ende eines Mikrotubulus



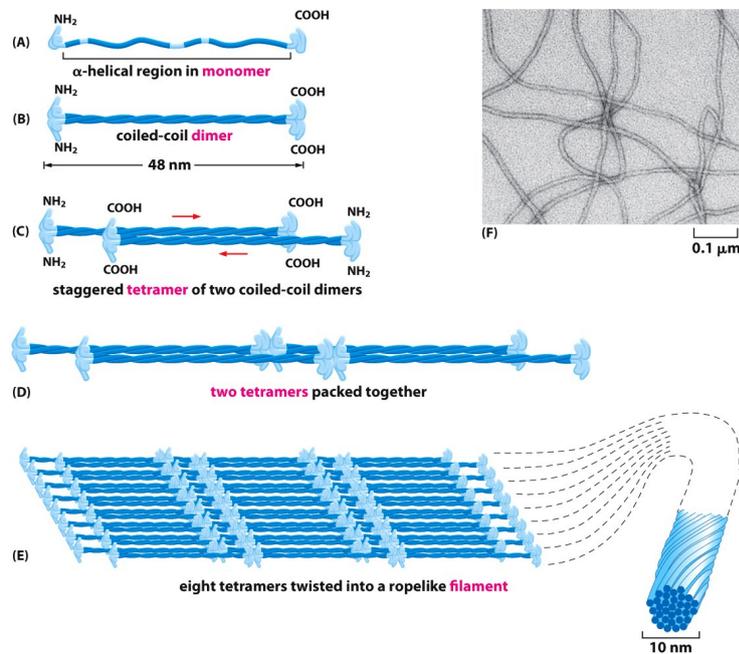
**Abbildung 2.11:** Durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit von Mikrotubuli als Funktion der Kraft. Auf der unteren x-Achse ist der Wert der normalisierten Kraft  $f_p/\kappa$ , wobei  $\kappa$  die Steifigkeit ist, aufgetragen. Auf der oberen x-Achse ist die absolute Kraft aufgetragen und auf der y-Achse die mittlere Geschwindigkeit. Die durchgezogene Linie ist eine exponentiell abfallende Anpassung an die Daten. Aus [43].

als auch die Wachstumsgeschwindigkeit. Die Wachstumsgeschwindigkeit nimmt von 1.2  $\mu\text{m}/\text{min}$  bei verschwindender Kraft auf 0.2  $\mu\text{m}/\text{min}$  bei einer Kraft von 3 bis 4 pN ab. Die Kraft-Geschwindigkeits-Beziehung lässt sich gut durch einen exponentiellen Abfall annähern in Übereinstimmung mit theoretischen Modellen (vgl. 2.11). Bei Kraft Null hängt die Wachstumsgeschwindigkeit  $v$  lediglich von der Polymerisations- und Depolymerisationsrate der Mikrotubuli-Untereinheiten ab,  $v = \delta(\alpha c - \beta)$ , wobei  $\delta$  die hinzugefügte Mikrotubuli-Länge pro Dimer,  $c$  die Tubulinkonzentration,  $\alpha$  die Polymerisationsrate und  $\beta$  die Depolymerisationsrate ist. Mit zunehmender Kraft erhält man eine Wachstumsgeschwindigkeit  $v = \delta[\alpha \exp(-f_p \delta / k_B T) c - \beta]$ , wobei  $f_p$  die von der Wand auf die Mikrotubuli ausgeübte Kraft,  $k_B$  die Boltzmann-Konstante und  $T$  die Temperatur ist [43].

### 2.3.3 Intermediärfilamente

Neben den polaren Aktin- und Tubulin-Filamenten gibt es eine weitere Klasse von Filamenten, die sogenannten Intermediärfilamente. Sie sind unipolar, haben einen Durchmesser von etwa 10 nm und liegen damit zwischen den Aktinfilamenten mit 7 nm und den Mikrotubuli mit 24 nm Durchmesser. Ihre Hauptaufgabe besteht darin, unter Spannung stehenden

Zellen wie Muskelzellen, Neuronen oder Epithelzellen mechanische Festigkeit zu verleihen.



**Abbildung 2.12:** Modell eines intermediären Filamentes. Im finalen 10 nm langen, reißfesten Filament sind die acht Tetramere in einer helikalen Struktur zusammengepackt. Aus [21].

Intermediärfilamente sehen aus wie Seile, die wiederum aus zahlreichen verdrillten langen Strängen zusammengesetzt sind. Die Stränge bestehen aus fibrillären Proteinen, die eine globuläre aminoterminaler Kopfdomäne, eine globuläre carboxyterminale Schwanzdomäne und eine lang gestreckte stäbchenförmige Domäne besitzen. Ein ausgedehnter  $\alpha$ -helikaler Bereich im Monomer erlaubt es den Intermediärfilamenten stabile Dimere in Form einer Superhelix-Struktur auszubilden. Je zwei dieser Dimere lagern sich dann in entgegengesetzter Richtung zu einem Tetramer zusammen. Das endgültige Filament bildet sich schlussendlich aus acht Tetrameren, die seilartig miteinander verdrillt sind (vgl. Abb. 2.12).

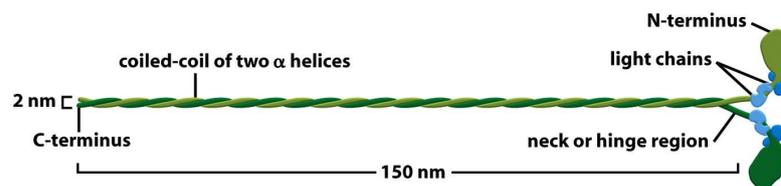
Bedingt durch diesen genuinen Aufbau sind die Intermediärfilamente sehr biegsam und reißfest. Intermediärfilamente sind im Gegensatz zu Aktinfilamenten und Mikrotubuli phylogenetisch wenig konservativ und werden in vielen Varianten exprimiert. Man unterscheidet zwischen vier Gruppen von intermediären Filamenten, die jeweils durch Polymerisierung der entsprechenden Proteinuntereinheiten gebildet werden. Die erste Gruppe bilden die sog. Kernlamina. Sie dienen der Verstärkung der Kernmembran in eukaryotischen Zellen und kommen im Zellkern vor. Zwei weitere Gruppen bestehen aus den Keratinfilamen-

ten in Epithelzellen und den Neurofilamenten in Nervenzellen. Zur vierten Gruppe zählt man Vimentin und vimentinartige Filamente, die im Zytoplasma von Bindegewebszellen, Muskelzellen und Gliazellen vorkommen [44].

## 2.4 Motorproteine

Motorproteine oder molekulare Motoren tragen wesentlich zur Dynamik und Funktionalität des Zytoskeletts bei. In diesem Abschnitt wird der Aufbau von Motorproteinen sowie die Dynamik, die aus dem Zusammenspiel von Filamenten und Motoren resultiert, näher beschrieben.

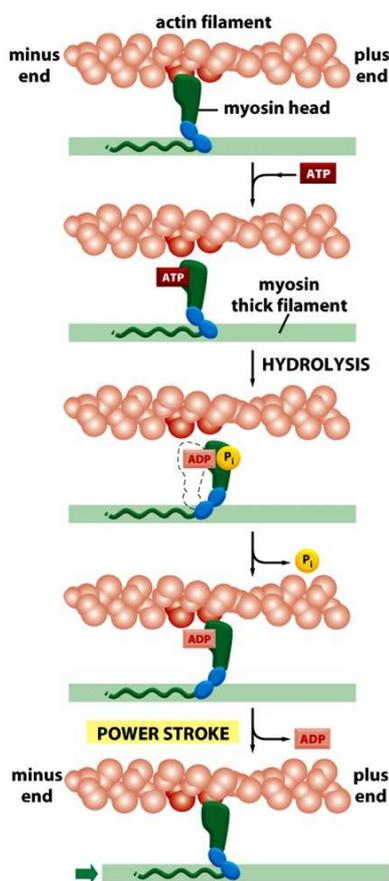
Molekulare Motoren binden an die polaren Zytoskelettfilamente und wandeln chemische Energie durch Hydrolyse von ATP in mechanische Energie um. Gleichzeitig binden sie auch an andere Zellbestandteile wie Mitochondrien, Golgi-Apparat oder Sekretvesikel und transportieren so diese Ladung entlang der Filamente. Differenzieren lassen sich die verschiedenen Motorproteine im Filamenttyp, an den sie binden (Aktinfilamente oder Mikrotubuli), in der Richtung, in die sie sich bewegen, und in der Art der Fracht, die sie transportieren. Auch wenn sich die Strukturen der einzelnen Motorproteine unterscheiden, besitzen sie doch eine gemeinsame Aufteilung. Sie bestehen aus einer Kopfdomäne, die an ein entsprechendes Filament bindet und sich aktiv entlang diesem bewegen kann, und einer langen Schwanzdomäne, über die das Protein mit einer zu transportierenden Ladung verbunden ist. Molekulare Motoren bewegen sich schrittweise von einer Bindungsstelle zur nächsten und meist in eine bestimmte Richtung. Die dabei vorkommenden Konformationsänderungen bilden einen mechanischen Zyklus gekoppelt an einen chemischen Zyklus, der die Energie für die Motortätigkeit zur Verfügung stellt.



**Abbildung 2.13:** Aufbau eines Motorproteins am Beispiel Myosin-II. Ein Myosin-II-Molekül besteht aus zwei identischen Subeinheiten, die am Schwanzende (C-Terminus) zu einer Helix verdreht sind. Am Schwanzende können Lasten gebunden werden, die durch die Bewegung des Motors transportiert werden. Die beiden Köpfe können sich an Aktinfilamente binden und sich entlang dieser bewegen. Aus [21].

Man unterscheidet bei den linearen molekularen Motoren zwischen den drei großen Gruppen der Myosine, Kinesine und Dyneine. Myosine sind molekulare Motoren, die mit Aktinfilamenten zusammenwirken. Zunächst wurde Myosin als Motorprotein in Muskelfasern

identifiziert als Protein-Bestandteil im Sarkomer, den kontraktionsfähigen Abschnitten der Myofibrillen, wobei ein Bündel von Myofibrillen eine Muskelfaser bildet. Ein Molekül dieses sogenannten Myosins-II besteht aus zwei schweren Ketten und zwei identischen Untereinheiten aus je zwei leichten Ketten. Schwere Ketten bestehen aus einer globulären Kopfreion (N-Ende), gefolgt von einer sehr langen Aminosäuresequenz, die einen Doppelwandel bildet und zur Dimerisation der schweren Kette führt (vgl. Abb. 2.13). Myosin-II wandert immer in Richtung des Plus-Endes eines Aktinfilamentes. In der großen Familie der Myosine gibt es mindestens 37 deutlich zu unterscheidende Unterfamilien.



**Abbildung 2.14:** Prinzipielle Funktionsweise molekularer Motoren hier am Beispiel von Myosin-II dargestellt. Myosin bindet an ein Aktinfilament. Anschließend führt die Kopfdomäne einen Kraftschlag unter Hydrolyse von ATP zu ADP aus. Der Kopf bindet dabei wieder an das Filament, allerdings weiter in Richtung des Plus-Endes. Die transportierte Last wird über die Schwanzdomäne mitgeführt. Aus [21].

Das aktuelle Verständnis der Funktionsweise molekularer Motoren kann man beispielhaft an einem Bewegungszyklus von Myosin (vgl. Abb. 2.14) erklären. Zunächst bindet ein ATP-Molekül an den Myosinkopf, was ein Lösen des Motors vom Filament, an dem die mechanische Kraft erzeugt wird, zur Folge hat. Anschließend wird ATP zu ADP und  $P_i$  hydrolysiert. Das ADP und die Phosphatgruppe bleiben solange mit dem Kopf verbunden, bis dieser sich wieder an das Filament bindet. Das Myosin befindet sich jetzt in einem energiereichen Zustand und ist zu spontanen Bewegungen in der Lage. Es heftet sich wieder an das Aktinfilament an und die Phosphatgruppe wird freigesetzt, was zu einer energetisch

angetriebenen Konformationsänderung des Moleküls führt. Diese Konformationsänderung löst den sogenannten Kraftschlag aus. Der Kopf kehrt in seinen ursprünglichen Zustand zurück und zieht die Schwanzdomäne mit in Richtung des Plus-Endes. Auf die Freisetzung des gebundenen ADP folgt dann die Bindung eines neuen ATP-Moleküls an den Myosinkopf. Durch wiederholtes Ausführen dieser Schritte transportiert der Motor Lasten zu einem Ende des Filaments.

Neben der Schrittgröße kann auch die durch den Motor aufgewendete Kraft mit Hilfe des Prinzips von Mikronadeln oder der Rasterkraftmikroskopie gemessen werden [45]. Das aufgestellte Hebelarm-Modell erklärt, wie kleine Konformationsänderungen in der Motordomäne zu den resultierenden Verschiebungen in der Größenordnung einiger nm führen können [46].

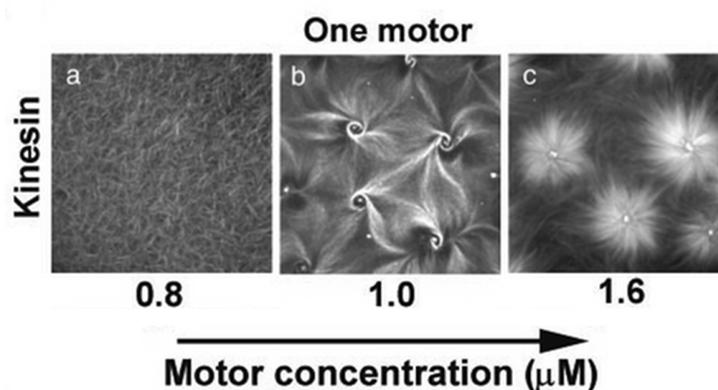
Kinesine und Dyneine sind molekulare Motoren, die mit Mikrotubuli als Schienensystem funktionieren. Kinesine bilden Tetramere aus je zwei gleichartigen leichten und schweren Ketten. Jedes Kinesinmolekül besitzt ein Paar globulärer Köpfe, einen Hals, einen stäbchenförmigen Stiel und einen fächerförmigen Schwanz. Wie Myosin wandert auch Kinesin zum Plus-Ende des Filamentes. Die Geschwindigkeit der Kinesine ist proportional zur ATP-Konzentration und liegt maximal bei  $1 \mu\text{m/s}$ . Ihre Bewegung ist stark prozessiv, d. h. der Motor wandert über beträchtliche Entfernungen an ein und demselben Mikrotubulus entlang ohne sich zu lösen.

Die Bewegung von Dynein ist im Gegensatz zu Myosin und Kinesin in Richtung des Minus-Endes eines Filamentes ausgerichtet. Man unterscheidet grundsätzlich zwischen zytoplasmatischem und axonalem Dynein. Zytoplasmatische Dyneine sind schwere Homodimere mit zwei Motorköpfen, wohingegen axonale Dyneine Heterodi- bzw. Heterotrimere mit zwei bis drei Motorköpfen bilden. Unter axonalem Transport versteht man den Transport im Axon einer Nervenzelle. Er dient dem Stoffaustausch zwischen perinukleärem Bereich und den Synapsen am Ende der Dendriten und Neuriten. Mit einer Motorgeschwindigkeit von  $14 \mu\text{m/s}$  ist Dynein der schnellste bekannte molekulare Motor. Er sorgt u. a. für die Bewegung von Cilien und Flagellen.

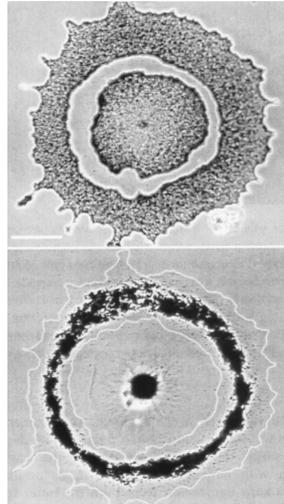
## 2.5 Selbstorganisierte Strukturen in der Zelle

In eukariotischen Zellen ist die Organisation der intrazellulären Architektur weitgehend durch das Miteinander aller Komponenten festgelegt und die Zelle ist in der Lage selbstorganisierte Strukturen zu bilden. Besonders bemerkenswert ist hierbei die Vielseitigkeit der Muster, die vom Zytoskelett erzeugt werden können [48]. Motorproteine und Filamente haben einen wesentlichen Anteil an der Bestimmung der endgültigen Struktur eines Musters [49]. Wie ihre Konzentration und Verteilung genau zu dem Entstehungsprozess beitragen, ist nicht bekannt. Allerdings könnten Parameter wie die Geschwindigkeit verschiedener Motoren, ihre Prozessivität oder die Zeit, in der sie an ein Filament gebunden sind, die Musterbildung im stationären Zustand beeinflussen. Untersuchungen von *Surrey et al.* zeigen, dass Motorproteine, die sich zum Plus-Ende bewegen, und Mikrotubuli sich selbstorganisieren können [47, 49]. Sie erzeugen Strukturen wie Vortices und Astern. Die Strukturen, wie in Abbildung 2.15 gezeigt, entwickeln sich 10 bis 20 Minuten nach der Zugabe von Kinesin zu Tubulin bei nicht verschwindender Konzentration von Adenosin-5-Triphosphat (ATP) und Guanosin-5-Triphosphat (GTP). Bei geringen Motorkonzentrationen bleiben die Mikrotubuli zufällig orientiert. Bei mittleren Konzentrationen kommt es zur Bildung von Vortices, bei höheren zur Asterbildung.

Ein Beispiel für die Selbstorganisation des Zytoplasmas findet man in Melanophoren. Melanophoren sind Hautzellen von Reptilien und Fischen, die es ihnen erlauben, ihre Farbe zu ändern. Auf diese Weise können Tiere sich vor ihren Räubern verstecken oder verhindern, von ihrer Beute gesehen zu werden. Das Zytoplasma der Melanophoren enthält Farbpigmentkörnchen, die sich in der Zellmitte anhäufen, wenn sich die Farbe ändern



**Abbildung 2.15:** Dunkelfeldmikroskopie von Mikrotubuli-Mustern, hervorgerufen durch Kinesin. Die Konzentration der Mikrotubuli wird bei  $16 \mu\text{M}$  gehalten. Zustände: (a) stochastisch verteilt, (b) Vortices, (c) Astern. Aus [47].



**Abbildung 2.16:** Selbstorganisation von Mikrotubuli und Motoren in Fisch-Melanophoren. Dargestellt ist die Pigmentverteilung in Melanophoren vor (oben) und nach (unten) der Zentrierung. In der ringförmigen Struktur sind die Pigmente in der Zellmitte vereint. Aus [50].

soll, und sich wieder verteilen, wenn sich die ursprüngliche Hautfärbung noch einmal herstellen soll. Beobachtungen zeigen, dass die Organisation der Farbpigmentkörnchen von Mikrotubuli und molekularen Motoren und damit von der Organisation des Zytoskeletts abhängt. Färbt man die Mikrotubuli in den Melanophoren ein, erkennt man, dass sich die Filamente in Form einer Aster in der Zellmitte anordnen und die Farbpigmentkörnchen mit Hilfe molekularer Motoren entlang dieser zur Zellmitte transportiert werden [50, 51].

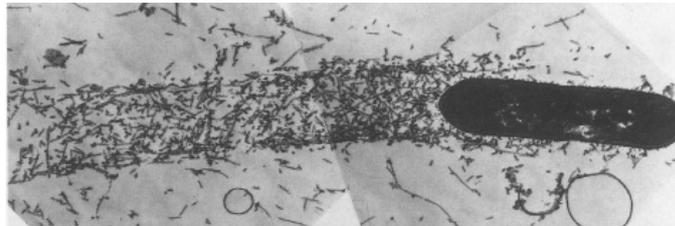
## 2.6 Aktinbasierte Zellbewegung

Viele eukaryotische Zellen kriechen auf festen Unterlagen, um sich auf Nährstoffe oder andere Zellen zuzubewegen, um Giftstoffe zu umgehen oder um auf externe Signale zu reagieren [21]. Dabei werden unterschiedliche Formen des Kriechens identifiziert, die in diesem Abschnitt diskutiert werden. Eine zentrale Herausforderung auf dem Gebiet der Zellbiologie ist es, zu verstehen, wie die Funktionen der unterschiedlichsten molekularen Komponenten in der Zelle zusammenspielen, um komplexe Verhaltensmuster zu erzeugen. Dazu gehören der dynamische Auf- und Abbau von Zytoskelettfilamenten, die Regulation und Modifikation ihrer Struktur durch Proteine und der Einfluss der Motoren, die entlang der Filamente laufen und mit ihnen wechselwirken. Wie aber koordiniert die Zelle alle diese Aktivitäten, um ihre Form zu definieren, sich zu teilen oder sich fortzubewegen? Diese Fragen stellen eine wissenschaftliche Herausforderung dar. Im Folgenden sollen zwei

Beispiele den Zusammenhang zwischen dem Aktin-Zytoskelett und der Zellfortbewegung erläutern.

### 2.6.1 Aktinpolymerisierung als Krafterzeugungsmechanismus

Aktinfilamente sind häufig im Zusammenspiel mit molekularen Motoren für verschiedene dynamische Vorgänge verantwortlich. Aber auch ohne diese Motorproteine kann Aktin durch Polymerisierung zur Bewegung von Zellen beitragen. Ein Beispiel dafür ist das Bakterium *Listeria monocytogenes*, das in die Zellen eines von ihm infizierten Organismus eindringen kann und sich weitgehend der Immunabwehr entzieht. *Listeria* ist in der Lage, Zeit und Ort der Aktivierung des notwendigen Bewegungsapparates zu regulieren. Durch Polymerisierung von Aktinmonomeren unmittelbar hinter dem Zellkörper schießt es



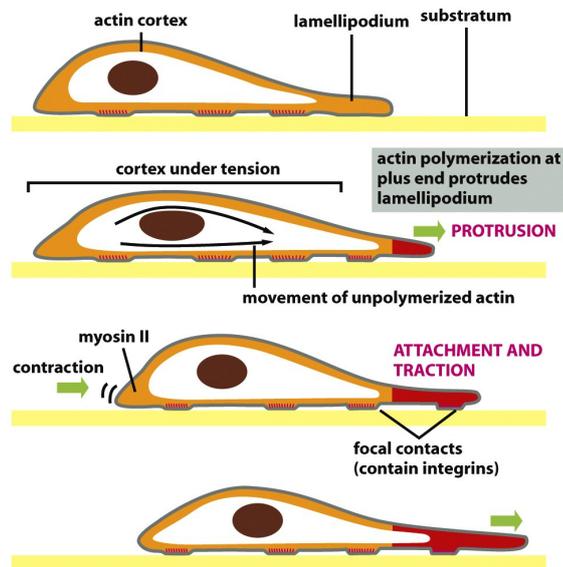
**Abbildung 2.17:** Elektronenmikroskopische Aufnahme einer mit *Listeria monocytogenes* infizierten Zelle. Aktinfilamente bilden einen Kometenschweif hinter der Zelle. Aus [52].

raketenartig durch das Zytoplasma der infizierten Zelle. Ausgelöst durch extrazelluläre Signale, wird der bereits beschriebene Arp2/3-Komplex von Oberflächenproteinen des Bakteriums aktiviert, der dann das Wachstum von neuen Aktinfilamenten bewirkt [52]. In Abbildung 2.17 erkennt man die Aktinfilamente, die sich hinter der Bakterienzelle bilden und sie durch das Zytoplasma schieben. Durch stetiges Hinzufügen von neuem Aktin an der Oberfläche entfernt sich das bereits polymerisierte Netzwerk von dieser und wird dabei deformiert. Es entstehen so Spannungen, die eine Kraft auf das Bakterium ausüben. Reißt das Netzwerk an einer Stelle auf, so wirkt auf das Bakterium eine resultierende Kraft, die es vorantreibt. Die durch Polymerisierung eines verzweigten Aktinnetzwerkes erzeugte Schubkraft ist ein Beispiel für eine Form der Zellbewegung [53].

### 2.6.2 Kriechbewegung von Zellen

Viele Zellen können sich durch Kriechen fortbewegen. Neutrophile Granulocyten, die zu den weißen Blutkörperchen zählen, können durch Gewebe kriechen und Bakterien ausfindig machen, um sie zu zerstören. Die von Bakterien freigesetzten und durch das Gewebe diffundierenden Moleküle wechselwirken chemotaktisch mit Rezeptoren auf der

Zelloberfläche und können somit Veränderungen im Aktinnetzwerk auslösen, die die Immunzelle bewegen. Bei einer sich entwickelnden Nervenzelle spielt das Aktin-Zytoskelett ebenfalls eine Rolle. Die vorrückende, aktinreiche Spitze, der sog. Wachstumskegel einer Nervenzelle, hilft die Umgebung zu prüfen und den Weg zum Zielgebiet zu finden. Sie tastet mit ihren Fortsätzen ihre unmittelbare Umgebung ab. Trifft sie dabei auf anziehende oder abstoßende Signale, richtet sich das Wachstum des Axons in Richtung und Geschwindigkeit danach aus. Fernwanderungen sind für den Aufbau des gesamten Nervensystems zuständig. Es ist interessant, dass sich die Immunzellen und Nervenzellen das intrinsische dynamische Verhalten des Zytoskeletts und damit auch die Dynamik von Aktin zu eigen machen und verstärken, um großräumige Strukturen zu erzeugen, die das Verhalten der ganzen Zelle bestimmen [54]. Dennoch ist es weitgehend unbekannt, wie genau das Aktinnetzwerk in laufenden Zellen organisiert wird.

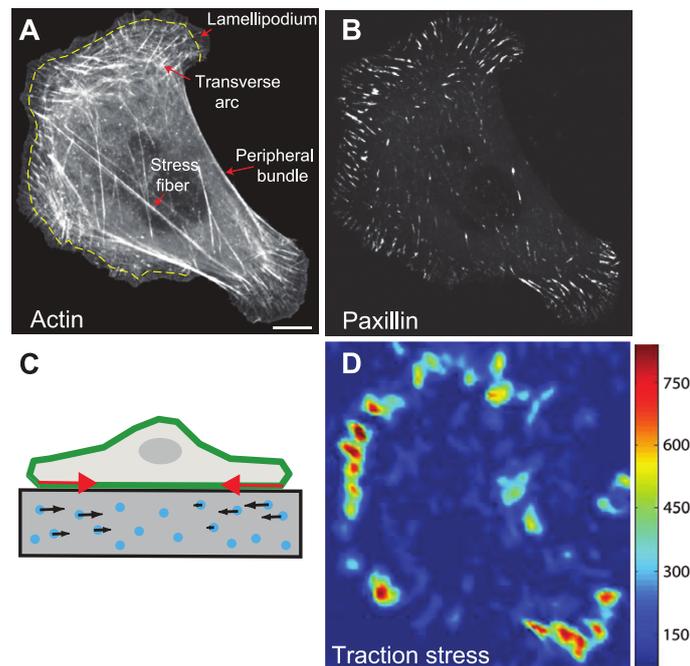


**Abbildung 2.18:** Bewegungszyklus einer Zelle beim Kriechen über eine Unterlage. Aus [21].

Das Kriechen von Zellen beruht auf der aktinreichen Rinde unter der Plasmamembran, die als Zellcortex bezeichnet wird. Dort sind Aktinfilamente durch aktinbindende Proteine zu einem Geflecht verknüpft, das in der Lage ist, sehr viele Möglichkeiten für Formen und Bewegungen zu realisieren. Bei der Kriechbewegung spielen drei grundsätzliche Vorgänge eine Rolle, die nachfolgend erläutert werden sollen: die Bildung von Ausstülpungen durch aktinreiche Strukturen an der Spitze der Zelle, das Anheften an die Unterlage und eine Zugbewegung, mit der das Zytoplasma vorwärts gezogen wird. Zuerst wird ein Teil der Zelloberfläche in der Fortbewegungsrichtung ausgestreckt und setzt die Bewegung in Gang. Kräfte, die durch Aktinpolymerisierung hervorgerufen werden, schieben dabei die Plasmamembran einer Zelle nach vorne und bilden neue Bereiche des Aktincortex. Dieses

Vorstülpfen des Leitsaumes kann unterschiedlich strukturiert sein. Man differenziert je nach Art der Anordnung und Organisation der Aktinfilamente zwischen Pseudopodien, Lamellipodien und Filopodien. Pseudopodien werden von Neutrophilen und Amöben gebildet und sind dreidimensionale Ausstülpungen gefüllt mit Aktinfilamenten. Filopodien, die von Fibroblasten und Neuronen ausgebildet werden, sind meist eindimensionale Strukturen aus gebündelten Aktinfilamenten. Lamellipodien sind zweidimensionale Strukturen, die ein Netzwerk aus Aktinfilamenten in einer Ebene parallel zum festen Untergrund enthalten. Die Ausstülpung heftet sich dann in einem zweiten Schritt mit einem Teil ihrer Unterseite an den Untergrund an und bildet temporäre Befestigungspunkte. Anschließend wird der Hauptteil der Zelle über die Adhäsionskontakte hinweg vorwärts gezogen. Die vom Leitsaum gebildeten Befestigungspunkte dienen als Ankerpunkte, die es der unter Spannung stehenden Zelle ermöglichen, Kräfte auf die Unterlage auszuüben und ihren Körper vorwärts zu ziehen. Die Adhäsion zur Unterlage ist besonders wichtig für jede Art des Kriechens einer Zelle. In einem letzten Schritt zieht die Zelle ihr Hinterende ein und löst durch die Kontraktion der aktinreichen Zellrinde am rückseitigen Ende den Kontakt mit dem Untergrund, der die Zelle festhält (vgl. Abb. 2.18) [55]. An dieser Stelle sei jedoch explizit darauf hingewiesen, dass experimentelle Untersuchungen an *Dictyostelium discoideum* gezeigt haben, dass der Schleimpilz beim Kriechen keine fokalen Kontaktstellen mit der Unterlage ausbildet und Zugkräfte sich im Wesentlichen auf die Außenränder, den Leitsaum, begrenzen [56].

Kräfte, die vom Aktin-Zytoskelett erzeugt und durch fokale Adhäsionspunkte auf das Substrat übertragen werden, sind notwendig für die Reaktion der Zelle auf sich ändernde Umgebungsbedingungen. Die genaue Organisation von Aktin-Zytoskelett und Adhäsionspunkten hängt stark von den mechanischen Eigenschaften der Unterlage ab, auf der sich die Zelle bewegt. Mit Hilfe der Traktionskraft-Mikroskopie ist es möglich Verschiebungen in einem mit fluoreszierenden Kügelchen kalibrierten Substrats zu messen und aus den erhaltenen Messdaten die Traktionskräfte der Zelle auf das Substrat zu rekonstruieren (vgl. Abb. 2.19) [57]. Hierbei werden die Zellen auf ein beschichtetes elastisches Polymersubstrat mit einem Elastizitätsmodul im Bereich zwischen 100 Pa und 50 kPa plattiert. Da eine einzelne fokale Kontaktstelle typischerweise eine Ausdehnung von 1  $\mu\text{m}$  hat, liegt die erwartete Kraft bei 10 nN, was experimentell bestätigt werden kann. Die Messungen zeigen darüber hinaus, dass die Traktionskräfte an der Vorderflanke sowie dem rückwärtigen Ende einer sich bewegenden Zelle am stärksten sind und mit der Verteilung von Aktin und fokalen Kontaktstellen korrelieren [57]. Eine Alternative zur Traktionskraft-Mikroskopie besteht darin, Kräfte von Zellen auf einem mikrostrukturierten Muster elastischer Säulen zu messen. Hierbei wird die Kraft der haftenden Zelle gemessen, die nötig ist, um die Säule zu verbiegen [58].



**Abbildung 2.19:** Traktionskraft-Mikroskopie. (A) Aktin (mit GFP markiert) und (B) fokale Kontakte (mApple-Paxillin) in einer Osteosarkom-Zelle (U2OS). Die gelbe gepunktete Linie markiert den Rand des Lamellipodiums. Der Maßstabsbalken beträgt 10  $\mu\text{m}$ . (C) Bei der Traktionskraft-Mikroskopie werden die Traktionskräfte durch Verschiebungen des Substrats, das mit fluoreszierenden Kügelchen verfolgt wird, rekonstruiert. (D) Rekonstruierte Traktionskräfte, die auf das Substrat ausgeübt werden. Aus [57].

Abhängig vom Zelltyp und den Umgebungsbedingungen können mehrere verschiedene Arten des Kriechens identifiziert werden. Das dynamische Verhalten der Aktinfilamente im Kriechprozess kann anhand der Lamellipodien von Epithelzellen von Fischen, den sog. Keratozyten, ausführlich untersucht werden. Sie enthalten die gesamte für die Zellbewegung notwendige Maschinerie, behalten im Wesentlichen während der Bewegung ihre Form bei und bewegen sich gerichtet voran [59]. Die Ausbildung des Aktinnetzes durch den ARP2/3-Komplex an der Vorderflanke der Membran eines Lamellipodiums ist in Abbildung 2.20 dargestellt. Aktin ist durch fluoreszierendes Phalloidin rot markiert, der ARP2/3-Komplex ist grün markiert. Die höchste Konzentration des ARP2/3-Komplexes befindet sich an der Vorderseite des Lamellipodiums, wo die Aktinpolymerisation am aktivsten ist. Die Aktinfilamente sind im Netzwerk meist so ausgerichtet, dass ihr Plus-Ende nach vorne schaut. Die Minus-Enden werden durch den ARP2/3-Komplex seitlich mit anderen Aktinfilamenten verbunden, so dass ein zweidimensionales Netz entstehen kann [60, 61, 62]. Das Netzwerk als Ganzes unterliegt der o. g. „*Treadmilling*“-Dynamik und polymerisiert an der Vorderseite, wohingegen es an der Rückseite depolymerisiert [10].

Für die gleichmäßige Bewegung der Lamellipodien spielt allerdings die Kooperation meh-

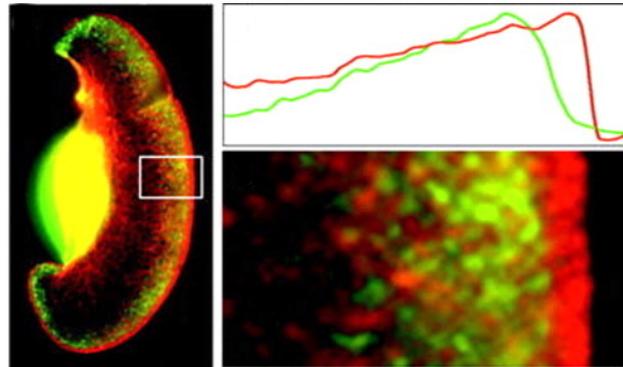


**Abbildung 2.20:** Aktinnetzwerk, gebildet durch den ARP2/3-Komplex in einer Keratozytzele. Aktin ist durch fluoreszierendes Phalloidin rot markiert, der ARP2/3-Komplex ist grün markiert. Die Überlappregion ist gelb dargestellt. Die höchste Konzentration des ARP2/3-Komplexes befindet sich an der Vorderfront des Lamellipodiums, wo die Aktinpolymerisation am aktivsten ist. Aus [60].

rerer Faktoren eine Rolle. Während die Neubildung von Aktinfilamenten überwiegend am Leitsaum der Zelle erfolgt, findet die Depolymerisation der Filamente hauptsächlich in den Regionen statt, die weit hinter dem Leitsaum liegen. Hier ist das o. g. Protein Kofilin entscheidend, das bevorzugt an ADP-Untereinheiten der Aktinfilamente bindet. Dies hat zur Folge, dass die am Leitsaum neu gebildeten Filamente, die meist noch ATP an ihre Untereinheiten gebunden haben, von Kofilin nicht depolymerisiert werden können. Kofilin kann allerdings die vom Leitsaum entfernten Filamente abbauen und somit einen wirksamen Prozess bereitstellen, der den Bewegungsmechanismus im Lamellipodium aufrechterhält. In Abbildung 2.21 sind die Aktinfilamente eines Keratozyten durch fluoreszierendes Phalloidin rot und Kofilin durch einen fluoreszierenden XAC-Antikörper grün markiert. Während das dichte Aktinnetzwerk im gesamten Lamellipodium zu finden ist, ist Kofilin am äußersten Rand des Leitsaumes nicht zu finden [60].

Ein weiterer Einfluss geht von Motorproteinen aus, die durch Kontraktion der Aktinfilamente verhindern, dass sich an der Seite des Lamellipodiums Ausstülpungen bilden können und diese so während der Bewegung zusammenhalten. Gleichzeitig werden dadurch kontraktile Kräfte erzeugt, die zum Zurückziehen der Hinterkante der Zelle erforderlich sind [63].

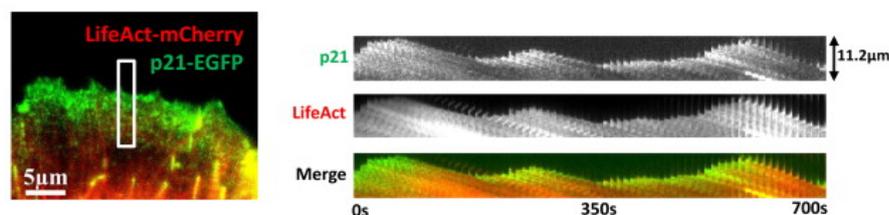
*Ryan et al.* zeigen ebenfalls, dass die Bewegungen am Leitsaum einer Zelle an eine anregbare Aktindynamik gekoppelt sind [11]. Unter einem anregbaren Medium versteht man in diesem Zusammenhang ein räumlich ausgedehntes, nichtlineares dynamisches System, das in der Lage ist, laufende Wellen ohne Dämpfung aufrecht zu erhalten. Anregbarkeit umfasst typischerweise das Zusammenspiel zwischen einem Aktivator (Beschleuniger) und einem Inhibitor (Hemmer). Der Aktivator kann sich schnell selbst verstärken und baut seinerseits den Inhibitor auf, der einen langsamem Abbau des Aktivators verursacht (*negative feedback*



**Abbildung 2.21:** Kofilin im Lamellipodium eines Keratozyten. (A) Aktinfilamente sind durch fluoreszierendes Phalloidin rot markiert, Kofilin durch einen fluoreszierenden XAC-Antikörper grün. (B) Die Vergrößerung zeigt, dass die unmittelbar an der Vorderkante des Leitsaumes gelegenen Aktinfilamente nicht mit Kofilin assoziiert sind. Das zugehörige Intensitätsprofil ist in (C) dargestellt. Aus [60].

loop) [64]. *Ryan et al.* belegen experimentell, dass die Nukleation von Aktinfilamenten durch einen autokatalytischen Mechanismus induziert wird. Zur Untersuchung wurden in XTC-Zellen Aktinfilamente mit LifeAct-mCherry und das Molekül p21, ein Teil des Arp2/3-Komplexes, mit EGFP fluoreszierend markiert. Die Messungen deuten darauf hin, dass die Konzentration von p21 einige Sekunden vor der Konzentration der Aktinfilamente nach oben schießt. Dies legt nahe, dass der Arp2/3-Komplex an der Aktivierung der Nukleation von Aktinfilamenten beteiligt sein muss. Weiterhin zeigt sich, dass der Arp2/3-Komplex in einer schmalen Region am Leitsaum lokalisiert ist als die Filamente. Die experimentellen Ergebnisse sind in Abbildung 2.22 dargestellt. Es gibt also einen starken Hinweis darauf, dass Aktinfilamente als Aktivator und das Nukleationsprotein p21 als Inhibitor fungieren [11].

Die „Treadmilling“-Dynamik eines verzweigten Netzes, gebildet durch den ARP2/3-Komplex, ist eine Möglichkeit, wie sich Zellen die Dynamik der Aktinfilamente zu eigen

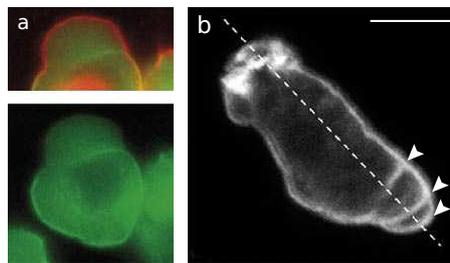


**Abbildung 2.22:** p21-EGFP/LifeAct-mCherry Messungen an XTC-Zellen zeigen, dass die Zunahme in der Dichte von Arp2/3 der der Aktinfilamente vorausgeht. Links: Momentaufnahme. Rechts: Zeitaufgelöste Entwicklung der Dichten in der weiß markierten Region. Aus [11].

machen können, um das Vorstülpen des Leitsaumes der Zellmembran voranzutreiben und sich damit fortzubewegen. Es gibt Hinweise darauf, dass sich langsam bewegende Zellen, die Fibroblasten enthalten, einen Mechanismus benutzen, der nicht vom ARP2/3-Komplex abhängt und trotzdem die koordinierte Polymerisation und Depolymerisation von Aktin zur Fortbewegung verwendet.

### 2.6.3 Zellbewegung durch Blebbing

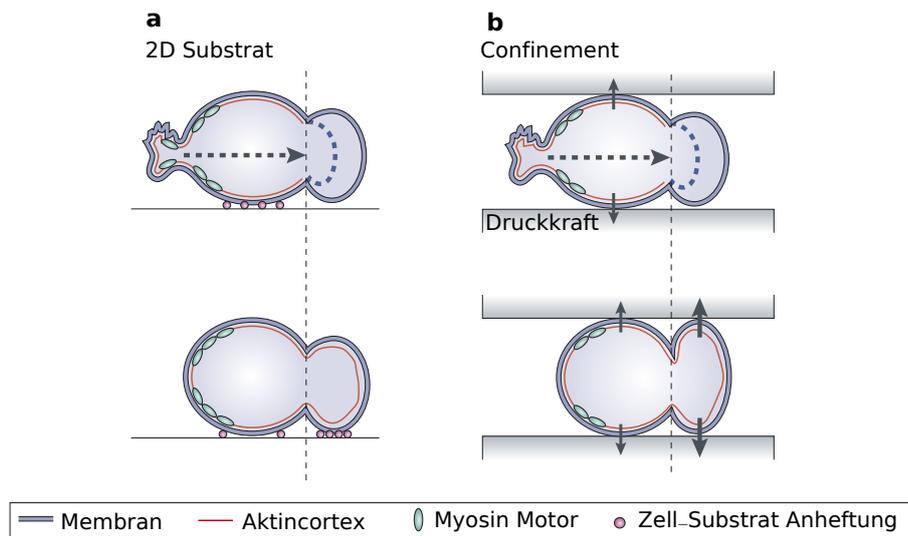
Bläschen (engl. *Blebs*) sind runde Membranausstülpungen, die durch Kontraktionen des Aktincortex entstehen. Obwohl sie oft als Kennzeichen für den Zelltod gelten, werden sie auch häufig bei der Zellbewegung beobachtet. *Blebs* unterscheiden sich von Ausstülpungen wie Lamellipodien und Filopodien dadurch, dass ihr Wachstum durch Druck getrieben wird und nicht durch die Polymerisierung von Aktinfilamenten. Bläschenbildung (engl. *Blebbing*) wurde am auffälligsten während der embryonalen Entwicklung von Amphibien und Fischen beobachtet. Untersuchungen an Zebrafischen haben zweifelsfrei gezeigt, dass primordiale Keimzellen (PGCs) *Blebbing* zur Fortbewegung benutzen (vgl. Abb. 2.23 (a)) [65].



**Abbildung 2.23:** Beispiele für *Blebbing* in Zellen. a) PGC-Zelle eines Zebrafischs. Die PGC-Zellmembran (rot) löst sich während des *Blebbing* vom Aktin-Zytoskelett (grün). b) Aktincortex einer *Dictyostelium discoideum* Zelle während des *Blebbing*. Die Zelle bewegt sich nach unten rechts. Die weißen Pfeile markieren aufeinanderfolgende *Blebs* und Bögen des Aktincortex am Leitsaum der Zelle. Der Maßstabsbalken beträgt 5  $\mu\text{m}$ . Aus [65].

*Blebs* wurden auch in *Dictyostelium discoideum* beobachtet, kurz nachdem die Zellen einem Lockstoff ausgesetzt wurden. *Dictyostelium discoideum* kann sowohl *Blebs* als auch Lamellipodien zur Fortbewegung benutzen (vgl. Abb. 2.23 (b)). Damit sich eine Zelle bewegen kann, muss sie eine Kraft auf das Substrat ausüben und ihre Masse verlagern. Bei der Zellbewegung mit Hilfe eines Lamellipodiums geschieht dies durch Kontraktion des hinteren Endes der Zelle und die Ausbildung von fokalen Kontakten zum Substrat. Diese fokalen Kontakte wurden im Zusammenhang mit *Blebbing* noch nicht untersucht. Es ist weitgehend unverstanden, wie der Zellkörper sich während des *Blebbings* bewegt. Klar ist, dass irgendeine Form der Wechselwirkung mit dem Substrat für die Bewegung

des Zellkörpers notwendig ist, die z. B. durch ein schwaches Haften am Substrat oder an benachbarten Zellen (vgl. Abb. 2.24 (a)) oder durch das Ausüben einer Kraft auf das Substrat senkrecht zur Bewegungsrichtung (vgl. Abb. 2.24 (b)) erreicht werden kann. Ein Unterschied zwischen beweglichen und unbeweglichen Zellen mit *Blebbing* ist, dass



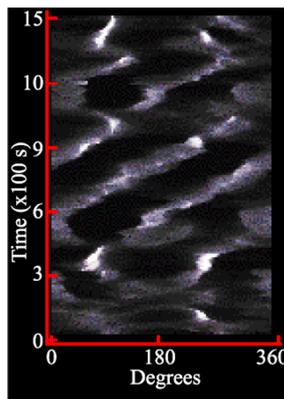
**Abbildung 2.24:** Zellbewegung durch *Blebbing*. a) In zweidimensionalen Kulturen muss die Zelle am Substrat haften. Wird ein neuer *Bleb* geformt und kommt in Kontakt mit dem Substrat, bilden sich neue Kontaktstellen aus und die Zelle kann ihre Masse vorwärts bewegen. b) In einer beschränkten Umgebung kann sich die Zelle auch ohne Kontaktstellen zum Substrat bewegen. Die Zelle übt eine Kraft senkrecht zur Bewegungsrichtung auf das Substrat aus und drückt sich so selbst vorwärts. Aus [65].

bewegliche Zellen die *Blebs* hauptsächlich am Leitsaum bilden. Die Reize die zur Beweglichkeit führen scheinen zellspezifisch zu sein. Es ist jedoch weitgehend unbekannt, wie äußere Signale die polarisierte Bildung von *Blebs* auslösen und es gibt unterschiedliche Erklärungsansätze [65].

## 2.7 Äußere Signale und Zytoskelettwellen können Zellen spontan polarisieren

Externe Signale können den für die Kriechbewegung von Zellen erforderlichen Bewegungsapparat beeinflussen. Die durch einen Gradienten einer diffusionsfähigen Substanz gelenkte Bewegung wird als Chemotaxis bezeichnet. Ein beliebter Modellorganismus zur Untersuchung der Einflüsse auf die Fortbewegungsrichtung von Zellen und deren Entwicklung ist *Dictyostelium discoideum*, eine spezielle Art aus der Klasse der Schleimpilze [66]. *Dictyostelium discoideum* zeigt ein unregelmäßiges Kriechen begleitet durch die Ausbildung

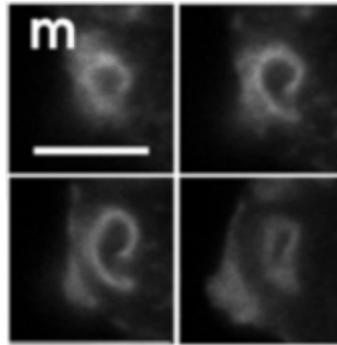
und das Zurückziehen von Ausstülpungen. Die unregelmäßigen Bewegungsmuster werden als amöboidale Bewegung bezeichnet und werden v. a. im Zusammenhang mit chemotaktischen Signalen untersucht [67]. Als einzellige Amöbe durchstreift der Schleimpilz lockere Bodenschichten und ernährt sich von Bakterien. Wird diese Nahrung knapp, setzt er cAMP (zyklisches Adenosin-Monophosphat) als chemisches Signal frei. Dadurch werden Artgenossen angelockt und bilden einen lockeren Zusammenschluss, ein sogenanntes Zellaggregat. Der Signalstoff cAMP wird pulsweise von zentralen Zellen freigesetzt und bildet daher im Zellaggregat Wellen. Unabhängig von cAMP konnten *Killich et al.* durch Experimente an unstimulierten Amöben zeigen, dass die Bewegung von *Dictyostelium discoideum* in Abwesenheit von cAMP nicht zufällig abläuft, sondern an die Ausbildung von wellenartigen Strukturen gekoppelt ist, die ihrerseits von raumzeitlichen Oszillationen der physikalisch-chemischen Reaktionen, die mit der Polymerisierung von Aktin verbunden sind, abhängen [68].



**Abbildung 2.25:** Laufende Wellen im Raum-Zeit-Plot der Zellbewegung von *Dictyostelium discoideum*. Der Abstand zwischen Zellmembran und Massenschwerpunkt ist gegen eine Winkelkoordinate aufgetragen. Zunehmende Zellkern-Zellmembran Abstände entsprechen den Graustufen von schwarz nach weiß. Aus [68].

Abbildung 2.25 zeigt ein Muster wechselwirkender, laufender Wellen in einem Raum-Zeit-Plot, wobei jeweils die Ausdehnung der vorragenden Ausstülpung der Zelle als Abstand zwischen Zellmembran und Massenschwerpunkt gegen eine Winkelkoordinate aufgetragen ist, die die Ausstülpung parametrisiert. Die Ausstülpungen werden durch Radialwellen von polymerisierendem Aktin erzeugt, das aus dem Zellinneren stammt. Während der Nukleation organisieren sich die Aktinwellen in einem sich vergrößernden Ring, der dann bei Berührung der Zellmembran zu einer Ausstülpung führt (vgl. Abb. 2.26).

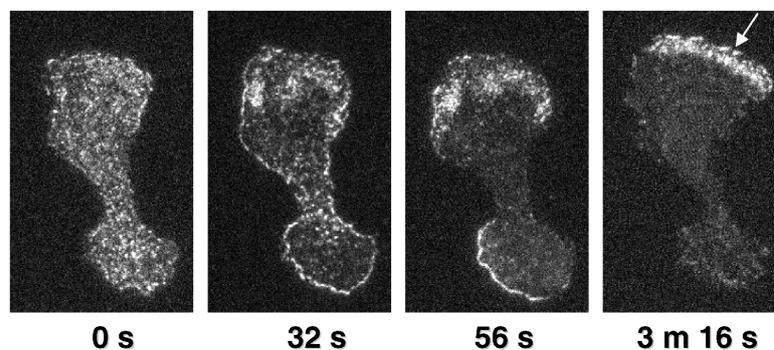
Auch die Visualisierung von *Dictyostelium discoideum* Zellen, in denen Aktin mit dem grün fluoreszierenden Protein (GFP) markiert wurde, zeigt, dass Ausstülpungen der Membran durch Radialwellen von polymerisierendem Aktin erzeugt werden, die aus dem Inneren



**Abbildung 2.26:** Fluoreszenzaufnahme von F-Aktin Wellenfronten in *Dictyostelium discoideum*. Gezeigt werden vier Aufnahmen einer Aktinwellenspirale im Pseudopodium mit einer vertikalen Ausdehnung von mindestens  $3\ \mu\text{m}$ . Die ersten drei Schnitte haben einen vertikalen Abstand von  $2,2\ \mu\text{m}$  zum vierten Schnitt. Der Maßstabsbalken beträgt  $5\ \mu\text{m}$ . Aus [69].

der Zelle stammen [14, 70]. Ähnliche Beobachtungen werden auch in Fibroblasten und Krebszellen von Mäusen gemacht [13]. Die Daten legen nahe, dass die Dynamik der Zellen durch spontane Aktinwellen gesteuert werden.

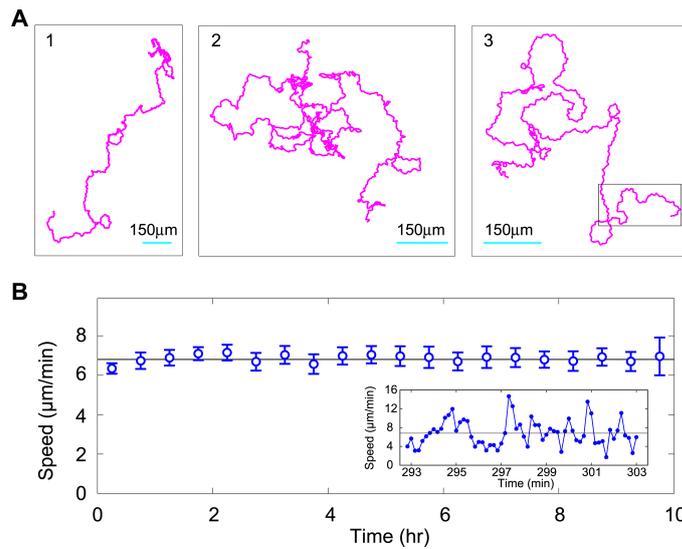
Ein weiterer wichtiger Hinweis auf die Bedeutung von Aktinwellen für die Zellbewegung findet sich in den Arbeiten von *Weiner et al.* über Experimente an menschlichen Neutrophilen, die mit einem Anteil von 50–65 % die am häufigsten vorkommende Art weißer Blutkörperchen sind. Neutrophile zeigen Aktinwellen, die mit der zytoplasmatischen Membran wechselwirken (vgl. Abb. 2.27). Dabei spielt das Hem-1 Protein, das zum Scar/WAVE-Komplex gehört, eine wichtige Rolle. Es hilft dabei, die Polymerisierungsdynamik von Aktin zu regulieren. Hem-1 stimuliert einerseits die Polymerisation von Aktin an der Vorderfront der Membran und Aktin löst andererseits das Hem-1 wieder von der Membran. Diese reziproke Wechselwirkung erzeugt laufende Wellen von nukleierenden Aktinfilamenten, die



**Abbildung 2.27:** HL-60 Zellen erzeugen ausgehend von Hem-1 Spots laufende Wellen. Aus [15].

zur Ausstülpung der Vorderfront der Membran und damit zur Fortbewegung der Zelle führen [15, 16].

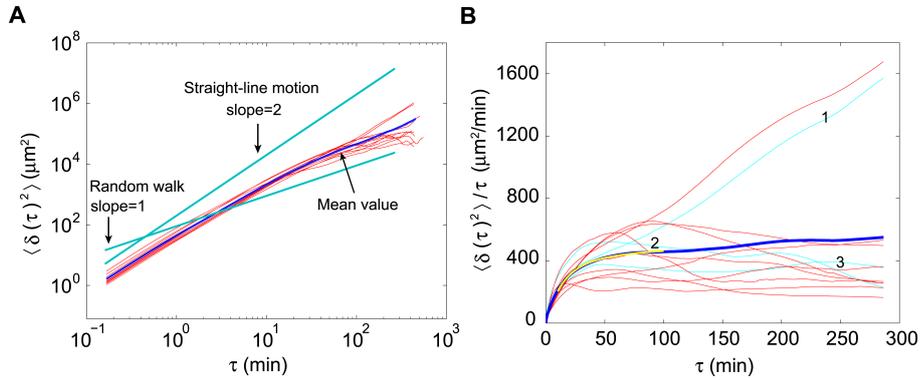
Bei der Beobachtung von kriechenden *Dictyostelium discoideum* Zellen stellt sich auch die Frage nach der bestmöglichen Charakterisierung der Bewegung und der Suchstrategie in Abwesenheit von chemischen Lockstoffen wie cAMP. *Li et al.* haben festgestellt, dass das amöboidale Verhalten sehr gut durch eine spezielle Art von zufälliger Bewegung beschrieben werden kann [71]. In Abbildung 2.28 sind die Trajektorien von drei repräsentativen *Dictyostelium discoideum* Zellen dargestellt, die in einem Zeitintervall von 8-10 h mit einer Stichprobenzeit von 10 s beobachtet wurden. Die Zellen behalten im zehnstündigen Beobachtungszeitraum ihre Geschwindigkeit bei, was darauf hindeutet, dass sie sich in einem stationären (zeitunabhängigen) Zustand befinden. Die mittlere Geschwindigkeit der Zellen beträgt  $7 \mu\text{m/s}$ . Auf der Zeitskala von Minuten zeigt die Zellgeschwindigkeit jedoch Schwankungen um den Mittelwert.



**Abbildung 2.28:** Zelltrajektorien und -geschwindigkeiten. (A) Drei typische 10 h Zelltrajektorien. (B) Die Zellen behalten im zehnstündigen Beobachtungszeitraum ihre Geschwindigkeit bei. Auf der Zeitskala von Minuten zeigt die Zellgeschwindigkeit jedoch Schwankungen um einen Mittelwert (siehe Einsatz). Aus [71].

Die mittlere quadratische Verschiebung (MSD) der einzelnen Zellen ist in Abbildung 2.29 als  $\langle \delta(\tau)^2 \rangle$  gegen  $\tau$  und  $\langle \delta(\tau)^2 \rangle / \tau$  gegen  $\tau$  zusammengefasst. Dabei bezeichnet  $\tau$  das Zeitintervall zwischen zwei Positionen und  $\delta(\tau)$  ist durch  $\delta(\tau) = |\mathbf{r}(t + \tau) - \mathbf{r}(t)|$  definiert, wobei  $\delta(\tau)^2$  für jede Trajektorie über alle Paare von Zeitpunkten gemittelt wurde. Für einen *Random Walk*, wie z. B. die Brownsche Bewegung, ist  $\langle \delta(\tau)^2 \rangle / \tau$  konstant. Die drei türkisfarbenen Kurven sind Messungen der Trajektorien, die in Abbildung 2.28

gezeigt werden und die roten Kurven beziehen sich auf neun weitere Trajektorien. Für  $\tau < 30$  min weicht die Bewegung signifikant von einem *Random Walk* ab und ist im Wesentlichen ballistisch, d. h. im Mittel bewegen sich die Zellen auf einer geraden Linie mit konstanter Geschwindigkeit. Für Zeitintervalle zwischen 10 und 100 min lassen sich die gemittelten Daten durch einen exponentiellen Übergang von gerichteter Bewegung zu einer zufälligen Bewegung mit  $\langle \delta(\tau) \rangle^2 = 2t_p v^2 (\tau - t_p (1 - \exp(-\tau/t_p)))$  annähern (gelb), wobei  $v = 5,4 \pm 0,1 \mu\text{m}/\text{min}$  eine charakteristische Geschwindigkeit und  $t_p = 8,8 \pm 0,1$  min eine charakteristische Persistenzzeit ist [71].



**Abbildung 2.29:** Mittlere quadratische Verschiebung. (A) Doppellogarithmische Darstellung der mittleren quadratischen Verschiebung in Abhängigkeit des Zeitintervalls  $\tau$ . (B) Darstellung des Verhältnisses von mittlerer quadratischer Verschiebung und Zeitintervall  $\tau$  als Funktion von  $\tau$ . Türkis: Daten der drei Trajektorien aus Abb. 2.28. Rot: weitere neun Trajektorien. Blau: Mittelwert aus allen zwölf Trajektorien. Aus [71].

*Li et al.* konstatieren weiter, dass Amöben eine lange Persistenzzeit aufweisen ( $\sim 10$  min), oberhalb der sie beginnen ihre Richtungserinnerung zu verlieren. Sie bewegen sich gerichtet über einen Zeitraum von 1-2 Minuten und ändern dann ruckartig ihre Bewegungsrichtung. Die Bewegung wird dadurch beeinflusst, dass sie sich an den letzten Richtungswechsel erinnern und stets von diesem weg weiter vorwärts kriechen. Die Bewegung besteht also aus geraden Anteilen und Richtungswechseln.



## 3 Physikalische Zugänge zur Beschreibung des Zytoskeletts

Wie wir in Kapitel 2 gesehen haben, deuten zahlreiche experimentelle Ergebnisse der letzten Jahre darauf hin, dass in vielen wichtigen zellulären Prozessen die zeitliche und räumliche Organisation der einzelnen Komponenten des Zytoskeletts eine zentrale Rolle spielt. Dabei werden die Strukturen eines Systems jeweils durch einfache, kurzreichweitige Wechselwirkungen identischer Konstituenten des Zytoskeletts erzeugt, wie zum Beispiel der Wechselwirkung zwischen Mikrotubuli und Motoren oder zwischen Aktinfilamenten und Nukleationsproteinen. Ein Verständnis der Dynamik des Zytoskeletts ist somit unerlässlich für das Verständnis zellulärer Prozesse und der Zellbewegung. Physikalische Betrachtungen können helfen, Mechanismen zellulärer Vorgänge aufzudecken und zu verstehen. Auf dem Weg zu einer theoretischen Beschreibung des Zytoskeletts haben sich drei Ansätze entwickelt, die in diesem Kapitel beleuchtet werden sollen.

### 3.1 Phänomenologisch makroskopische Beschreibungen

Unter dem Begriff eines makroskopischen Systems versteht man im üblichen Fall ein System, dessen charakteristische Skalen dem Alltag des Menschen entsprechen, d. h. typische Längen von 1 mm - 1 m und typische Zeitdauern von 1 s. Bei der Beschreibung des Zytoskeletts müssen die charakteristischen Skalen groß im Vergleich zu den molekularen Bestandteilen des Systems sein, und Fluktuationen müssen vernachlässigbar klein sein. Makroskopische Theorien gehen von einem rein phänomenologischen Standpunkt aus. Da zahlreiche Details der molekularen Dynamik von nachrangiger Bedeutung sind, sieht man im Gegensatz zum mikroskopischen Zugang von diesen Details ab. Phänomenologische Beschreibungen werden mit Hilfe von Feldvariablen formuliert. Bei einem phänomenologischen Zugang werden die Gleichungen auf der Basis von Symmetrien und Erhaltungsgrößen hergeleitet. Dabei spielen diese Symmetrieargumente und Erhaltungsgrößen eine zentrale Rolle, nicht jedoch das zugrunde liegende mikroskopische Bild. Zur phänomenologischen Beschreibung des Zytoskeletts hat sich ein Ansatz bewährt, der nachfolgend beschrieben wird.

*Kruse et al.* verwendeten diesen hydrodynamischen Ansatz beispielsweise, um die Kontraktionsfähigkeit und den retrograden Fluss in Lamellipodien einer kriechenden Zelle zu untersuchen. Dabei wird das Zytoskelett als aktives, polares Fluid angesehen [72]. Ein systematischer Weg, die dynamischen Gleichungen abzuleiten, besteht darin, um das thermodynamische Gleichgewicht herum zu entwickeln. Zur Herleitung der Gleichungen für ein aktives, polares Fluid betrachtet man zunächst die beiden Erhaltungsgrößen Masse und Impuls [73, 74, 75, 76]. Aus den Gesetzen der Massen- und Impulserhaltung ergeben sich

$$\partial_t \rho + \partial_\alpha (\rho v_\alpha) = 0 \quad (\text{Massenerhaltung}), \quad (3.1)$$

wobei  $\rho$  die Massendichte und  $\mathbf{v}$  die korrespondierende Geschwindigkeit des Schwerpunktes beschreiben und

$$\partial_t \rho v_\alpha - \partial_\beta \sigma_{\alpha\beta}^{\text{tot}} = f_{\text{ext},\alpha} \quad (\text{Impulserhaltung}) \quad , \quad (3.2)$$

mit dem Gesamtspannungstensor  $\sigma_{\alpha\beta}^{\text{tot}}$  und der externen Kraftdichte  $\mathbf{f}_{\text{ext}}$ . Die Orientierung der polaren Filamente wird in dieser Beschreibung durch ein Vektorfeld  $p_\alpha$  und das dazu konjugierte Feld  $h_\alpha$  beschrieben, das durch die Funktionalableitung der freien Energie  $\mathcal{F}$  nach dem Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$  gegeben ist. Die freie Energie  $\mathcal{F}$  des Systems lässt sich durch die zeitliche Änderung

$$\frac{d}{dt} \mathcal{F} = \int d^3 \mathbf{r} \left( \sigma_{\alpha\beta} u_{\alpha\beta} + \frac{Dp_\alpha}{Dt} h_\alpha + r \Delta \mu \right) \quad (3.3)$$

ausdrücken, wobei  $\sigma_{\alpha\beta}$  den deviatorischen Spannungstensor,  $r > 0$  die ATP-Hydrolyserate und  $\Delta \mu$  die Differenz der chemischen Potentiale von ATP und seinen Hydrolyseprodukten ADP und  $P_i$  bezeichnen. Der letzte Term fasst alle Prozesse zusammen, die unter Hydrolyse von ATP zu Entropieproduktion führen und trägt als aktive Komponente zur Entropieproduktion bei. Hierbei wurde die sogenannte konvektive, korotationelle Ableitung eingeführt, für die gilt

$$\frac{Dp_\alpha}{Dt} = \partial_t p_\alpha + v_\gamma \partial_\gamma p_\alpha + \omega_{\alpha\beta} p_\beta \quad , \quad (3.4)$$

mit der Vortizität  $\omega_{\alpha\beta} = \frac{1}{2}(\partial_\alpha v_\beta - \partial_\beta v_\alpha)$ , die dem antisymmetrischen Anteil des Tensors der Verzerrungsrate  $\partial_\alpha v_\beta$  entspricht. Der symmetrische Anteil hat die Form  $u_{\alpha\beta} = \frac{1}{2}(\partial_\alpha v_\beta + \partial_\beta v_\alpha)$ .

Der Integrand der Entropieproduktionsrate in Gleichung (3.3) ist als Summe von Produkten geschrieben, wobei in jedem Produkt ein generalisierter Fluss mit seiner konjugierten generalisierten Kraft multipliziert wird. Es werden im Folgenden der deviatorische Spannungstensor  $\sigma_{\alpha\beta}$ , die konvektive, korotationelle Ableitung  $Dp_\alpha/Dt$  und die ATP-Produktionsrate  $r$  als generalisierte Flüsse und der Tensor der Verzerrungsrate  $u_{\alpha\beta}$ , das konjugierte Feld  $h_\alpha$  und die Differenz der chemischen Potentiale  $\Delta\mu$  als dazu konjugierte generalisierte Kräfte angesehen. Nimmt man nun an, dass das Fluid inkompressibel ist und sich in der Nähe des thermodynamischen Gleichgewichts befindet, kann man im Rahmen einer linearen Antworttheorie die generalisierten Flüsse in Abhängigkeit der generalisierten Kräfte entwickeln. Zur Formulierung der konstituierenden Gleichungen werden die Flüsse als lineare Funktionen der Kräfte dargestellt. Damit erhält man für ein aktives, polares Fluid [73, 74, 75, 76]:

$$2\eta u_{\alpha\beta} = \sigma_{\alpha\beta} - \frac{\nu_1}{2}(p_\alpha h_\beta + p_\beta h_\alpha) - \bar{\nu}_1 p_\gamma h_\gamma \delta_{\alpha\beta} + \bar{\zeta} \delta_{\alpha\beta} \Delta\mu + \zeta p_\alpha p_\beta \Delta\mu + \zeta' p_\gamma p_\gamma \delta_{\alpha\beta} \Delta\mu \quad , \quad (3.5)$$

$$\frac{Dp_\alpha}{Dt} = \frac{1}{\gamma} h_\alpha + \lambda_1 p_\alpha \Delta\mu - \nu_1 p_\beta u_{\alpha\beta} - \bar{\nu}_1 u_{\beta\beta} p_\alpha \quad , \quad (3.6)$$

$$r = \Lambda \Delta\mu + \lambda_1 p_\alpha h_\alpha + \bar{\zeta} u_{\alpha\alpha} + \zeta p_\alpha p_\beta u_{\alpha\beta} + \zeta' p_\alpha p_\beta u_{\beta\beta} \quad , \quad (3.7)$$

mit den phänomenologischen Konstanten  $\eta$ ,  $\gamma$ ,  $\nu$ ,  $\nu_1$ ,  $\zeta$ ,  $\zeta'$  und  $\bar{\zeta}$ . Unter Berücksichtigung der entsprechenden Randbedingungen ist die Dynamik des Systems durch das Kräftegleichgewicht

$$0 = \partial_\beta \left( \sigma_{\alpha\beta} - \frac{1}{2}(h_\alpha p_\beta - h_\beta p_\alpha) \right) - n \partial_\alpha \mu - h_\gamma \partial_\alpha p_\gamma \quad (3.8)$$

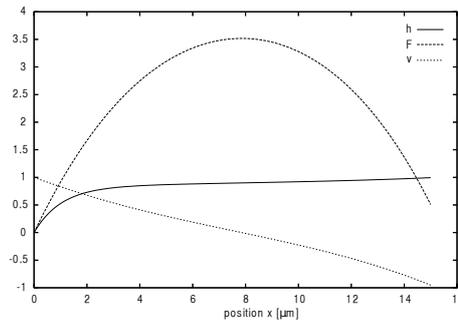
und die konstituierenden Gleichungen (3.5) - (3.7) vollständig bestimmt.

Unter Vernachlässigung von Inertialtermen, die für die Zellbewegung keine Rolle spielen, und weiteren Vereinfachungen führt das oben beschriebene Vorgehen auf einen Zusammenhang zwischen dem Tensor der Verzerrungsrate  $\sigma$  und der mittleren Geschwindigkeit im Fluid [72]. Geht man davon aus, dass sich das Lamellipodium nur in  $x$ -Richtung bewegt und invariant entlang der  $y$ -Achse ist, kann man sich auf die Ebene senkrecht zum Substrat beschränken. Nimmt man weiter an, dass der Polarisierungsvektor in Bewegungsrichtung orientiert ist und die Länge 1 hat und die Höhe  $h$  des Lamellipodiums klein gegenüber seiner Länge  $L$  ist, so erhält man

$$\partial_x v = \frac{1}{4\eta} \left( \frac{F}{h} + \zeta \Delta \mu \right) \quad , \quad (3.9)$$

wobei  $v$  die über die Höhe gemittelte Geschwindigkeit in  $x$ -Richtung und  $F$  die Kraft pro Längeneinheit in  $x$ -Richtung auf ein Querschnittselement ist.

Abbildung 3.1 zeigt, dass die Fluidgeschwindigkeit im vorderen Bereich der Zelle ( $x < 8 \mu\text{m}$ ) der Bewegungsrichtung entgegengesetzt ist, wohingegen sie im hinteren Bereich in dieselbe Richtung zeigt. Diese hydrodynamische Beschreibung ist in der Lage, die Dynamik des Aktin-Zytoskeletts zu erfassen und die Entstehung aktiver Kontraktionen zu erklären. Auch in [7] und [73] werden die dynamischen Gleichungen durch die Kombination von Erhaltungssätzen mit linearen, konstituierenden Gleichungen hergeleitet. In diesen Arbeiten wurde gezeigt, dass die hydrodynamische Formulierung Muster von Astern, Vertizes und Spiralen zeigen kann.



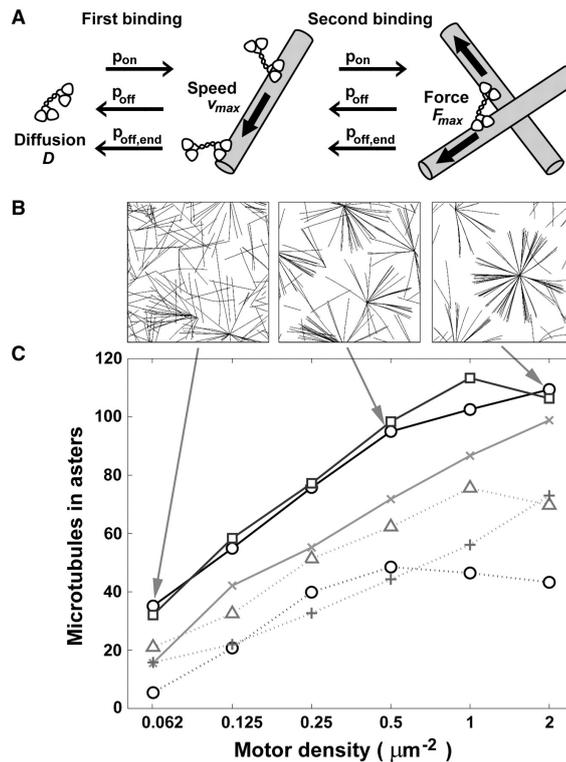
**Abbildung 3.1:** Numerische Lösung der Gleichungen eines aktiven polaren Fluids. Dargestellt werden die Kraftdichte  $F$ , die Höhe  $h$  des Fluids und dessen Geschwindigkeit  $v$  in  $x$ -Richtung. Aus [72].

Ein Vorteil dieser makroskopischen Theorie liegt in der Anwendbarkeit der hergeleiteten Gleichungen auf eine breite Klasse von Systemen, da nur Symmetrien und Erhaltungsgrößen Eingang gefunden haben. Ein großer Nachteil des phänomenologischen Ansatzes zur Beschreibung des Zytoskeletts liegt jedoch in der Schwierigkeit, die Ergebnisse im Hinblick auf die zugrundeliegenden mikroskopischen Details zu beziehen, da die Vielzahl phänomenologischer Parameter im Allgemeinen nicht unmittelbar mikroskopischen Parametern des Systems zugeordnet werden können [27]. Ein weiterer Nachteil bei der hydrodynamischen Beschreibung liegt darin, dass bei der linearen Entwicklung in Kräfte und Flüsse keine Nichtlinearitäten in den dynamischen Gleichungen auftreten können und diese bei Bedarf nachträglich ergänzt werden müssen.

## 3.2 Mikroskopische Beschreibungen

Im Gegensatz zu makroskopischen Systemen handelt es sich bei mikroskopischen Systemen, bei denen die Gesetze der Dynamik von Punktteilchen gelten, eher um charakteristische Skalen im atomaren Bereich. Mikroskopische Formulierungen beschreiben die Dynamik einzelner Zytoskelett-Elemente. Einzelne Filamente werden als elastische Stäbchen beschrieben, die wachsen und schrumpfen können und deren maximale Länge durch die begrenzte Anzahl von verfügbaren Monomeren beschränkt ist.

Theoretische Arbeiten von *Nédélec et. al* nutzten diesen Ansatz, um Systeme aus Filamenten und Motoren zu beschreiben [47, 49, 77, 78]. Motor-Komplexe werden durch zwei identische Motoren repräsentiert, die jeweils an ein oder zwei Mikrotubuli gebunden sein können oder frei diffundieren (vgl. Abb. 3.2 (A)) [47]. Die Motoren binden und lösen sich dabei stochastisch von den Mikrotubuli mit den Raten  $p_{\text{on}}$  und  $p_{\text{off}}$ . Beim Erreichen eines Mikrotubulus-Endes, lösen sich die Motoren mit einer endlichen Rate  $p_{\text{off, end}}$  ab. Motor-



**Abbildung 3.2:** Numerische Simulationen eines Systems aus Mikrotubuli und Motoren. (A) Schematische Darstellung des Modells. (B) Abhängigkeit der Intensität der Asterbildung von der Motorkonzentration. (C) Gesamtanzahl der Mikrotubuli in einer Aster in Abhängigkeit der Motorkonzentration für verschiedene kinetische Parameter. Parameterwerte [ $V(s^{-1})$ ;  $p_{\text{off}}(s^{-1})$ ;  $p_{\text{off, end}}(s^{-1})$ ] sind wie folgt: ( $\circ - \circ$ ) [1; 0,5; 2,5]; ( $\square$ ) [1; 1; 2,54]; ( $\times$ ) [1; 5; 2,5]; ( $\circ \cdots \circ$ ) [0,2; 0,5; 2,5]; ( $\diamond$ ) [0,2; 0,5; 0,5]; (+) [0,2; 0,5; 0,05]. Aus [47].

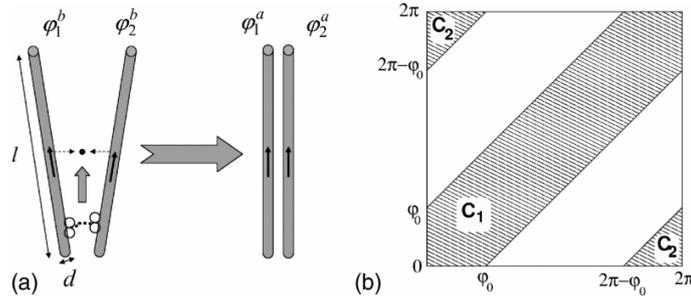
Komplexe, die an zwei Mikrotubuli gebunden sind, üben eine Kraft auf die Mikrotubuli aus, die sie bewegt. Das System ist in der Lage Astern und Vertices zu erzeugen, die in Experimenten mit Mikrotubuli-Kinesin-Mischungen entdeckt wurden. Eine Untersuchung der Motorkonzentration zeigte, dass für sehr kleine Dichten keine geordneten Strukturen auftreten. Mit steigender Motorkonzentration kommt es zur Bildung von Astern, wie in Abbildung 3.2 (B) gezeigt. Wie sich weiter zeigte, führt eine Verringerung der Prozessivität  $v/p_{\text{off}}$ , d. h. der mittleren Distanz, die ein Motor auf dem Mikrotubulus zurücklegt, bevor er sich ablöst, zu einer verminderten Ausbildung von Astern für alle Motorkonzentrationen (vgl. Abb. 3.2 (C)).

Durch die Beschreibung einzelner Zytoskelett-Elemente können experimentell gefundene Details der Struktur und der Wechselwirkung zwischen Elementen einfach mit in das System einfließen und die Simulationsergebnisse leicht interpretiert werden. Der Nachteil der mikroskopischen Betrachtungsweise liegt jedoch zum Einen in der Vielzahl von Freiheitsgraden, die zur Beschreibung eines Ensembles von Partikeln mit mehreren Freiheitsgraden nötig sind. Mehr noch beschränkt die Rechenzeit die Anzahl der simulierten Elemente erheblich. Ein weiterer Nachteil liegt in der konkreten Form der Gleichungen, welche die Dynamik der Teilchen festlegt. Sie ist meist sehr stark an Details des beschriebenen Systems gekoppelt und es ist schwierig, Ähnlichkeiten und Verbindungen zu anderen physikalischen Systemen zu erkennen [27].

### 3.3 Mesoskopische Meanfield-Beschreibungen

Mesoskopische Meanfield-Beschreibungen betrachten Dichten, welche die Wahrscheinlichkeit beschreiben, Teilchen in einem bestimmten Zustand zu einer bestimmten Zeit zu finden. Zu jeder mikroskopischen Beschreibung existiert eine eindeutige mesoskopische Beschreibung und umgekehrt [27]. Für die Beschreibung des Zytoskeletts gibt es eine Vielzahl von Forschungsarbeiten, die auf dieser Methode basieren. Zwei etablierte Möglichkeiten zur Herleitung einer mesoskopischen Beschreibung für das Zytoskelett sollen nachfolgend diskutiert werden. Die erste beruht auf der Herleitung der dynamischen Gleichungen aus Übergangswahrscheinlichkeiten, die mit den zahlreichen Zustandsänderungen eines Teilchens verknüpft sind, ähnlich der Herleitung hydrodynamischer Gleichungen aus der Boltzmann-Gleichung. Die Boltzmann-Gleichung ist eine mesoskopische Gleichung, die zwischen der mikroskopischen Beschreibung einzelner Teilchen und der makroskopischen Beschreibung steht. Die zweite Methode beruht auf der Herleitung der dynamischen Gleichungen ausgehend von Erhaltungssätzen, wie der Impulserhaltung, ähnlich wie bei der Herleitung der Navier-Stokes-Gleichung. Die Navier-Stokes-Gleichung im engeren Sinne ist der Impulssatz als Anwendung der newtonschen Axiome für ein Kontinuum.

Zur ersten Methode. *Aranson et al.* beschrieben die raumzeitliche Organisation eines Systems aus Mikrotubuli, die mit molekularen Motoren wechselwirken können [79]. Ausgehend von einem stochastischen Modell inelastischer, polarer Stäbchen wurde ein Satz von Gleichungen für die Konzentration und Orientierung der Stäbchen hergeleitet. Ausgangspunkt ist die Formulierung einer Master-Gleichung für die miteinander wechselwirkenden inelastischen, polaren Stäbchen. Die Stäbchen werden durch ihren Schwerpunkt  $\mathbf{r}$  und ihren Orientierungswinkel  $\phi$  beschrieben und haben alle die konstante Länge  $\ell$  und einen konstanten Durchmesser  $d \ll \ell$ .



**Abbildung 3.3:** (a) Darstellung einer Motor-basierten zwei Stäbchen-Wechselwirkung. (b) Integrationsgebiet  $C_{1,2}$ . Aus [79].

Betrachtet man zunächst nur die Dynamik der Orientierung der wechselwirkenden Stäbchen, so lässt sich die inelastische Wechselwirkung zwischen Motoren und Mikrotubuli durch instantane Zusammenstöße beschreiben, bei denen je zwei Stäbchen ihre Orientierung ändern. Demnach gilt für die Orientierungswinkel  $\varphi_{1,2}^b$  vor und  $\varphi_{1,2}^a$  nach dem Stoß

$$\begin{pmatrix} \varphi_1^a \\ \varphi_2^a \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \gamma & 1 - \gamma \\ 1 - \gamma & \gamma \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \varphi_1^b \\ \varphi_2^b \end{pmatrix}, \quad (3.10)$$

wobei  $\gamma$  die Inelastizität der Stöße beschreibt (vgl. Abb. 3.3). Der Winkel zwischen zwei Stäbchen wird demnach bei einem Stoß um einen Faktor  $2\gamma - 1$  reduziert.  $\gamma = 0$  entspricht somit einem vollkommen elastischen Stoß, bei dem die Stäbchen ihre Winkel  $\varphi_1$  und  $\varphi_2$  austauschen und  $\gamma = 1/2$  entspricht einem vollkommen inelastischen Stoß, bei dem beide Stäbchen nach dem Stoß die gleiche Orientierung  $(\varphi_1 + \varphi_2)/2$  haben. Die Wahrscheinlichkeitsverteilung  $P(\varphi)$  lässt sich in Form einer Master-Gleichung schreiben

$$\partial_t P(\varphi) = D_r \partial_\varphi^2 P(\varphi) + g \int_{C_1} d\varphi_1 d\varphi_2 P(\varphi_1) P(\varphi_2) \quad (3.11)$$

$$\begin{aligned} & \times [\delta(\varphi - \varphi_1/2 - \varphi_2/2) - \delta(\varphi - \varphi_2)] \\ & + g \int_{C_2} d\varphi_1 d\varphi_2 P(\varphi_1) P(\varphi_2) \quad (3.12) \end{aligned}$$

$$\times [\delta(\varphi - \varphi_1/2 - \varphi_2/2 - \pi) - \delta(\varphi - \varphi_2)] ,$$

wobei  $g$  die Kollisionrate proportional zur Zahl der Motoren bezeichnet und  $D_r$  eine effektive Diffusionskonstante ist, die thermischen Fluktuationen in der Orientierung der Stäbchen Rechnung trägt. Die beiden Integrationsgebiete  $C_1$  und  $C_2$  ergeben sich aus Symmetrieüberlegungen und sind in Abbildung 3.3 dargestellt. Erweitert man Gleichung 3.11 um die räumliche Position  $\mathbf{r}$  der Stäbchen, erhält man eine modifizierte Master-Gleichung, die eine interessante Instabilität zeigt. *Aranson et al.* stellten fest, dass ein anfänglich ungeordnetes System geordnet wird und die entsprechende Instabilität durch Motoren hervorgehoben wird und für beliebig kleine Dichten von Mikrotubuli auftreten kann. Die Instabilität in der Orientierung führt zur Ausbildung von Vortizes und Asten, wie man sie in Experimenten beobachten kann [79].

Zur zweiten Methode. *Kruse et al.* beschrieben die Gleichungen einer von Myosin getriebenen Kontraktion von Aktin-Filament-Bündeln [80, 81]. Die Wechselwirkung zwischen Filamenten entgegengesetzter Orientierung kann zu laufenden Wellen propagierender Dichtemaxima führen. Zur Herleitung der Gleichungen starteten sie mit einer Kräftegleichgewichts-Beziehung. Geht man von einer homogenen Verteilung der Motoren und konstanter Filamentlänge aus, so ist die Kraft  $f$ , die von einem Filament auf ein anderes ausgeübt wird, allein eine Funktion des Filamentabstandes  $\xi$ . Die Gesamtkraft auf ein Filament am Ort  $x$  lässt sich somit als Integral entlang des Bündels formulieren:

$$f(x) = -\eta v(x) - \eta D \partial_x c(x) + \int d\xi c(x + \xi) f(\xi) \quad , \quad (3.13)$$

wobei  $c$  die Filamentdichte,  $v$  die Filamentgeschwindigkeit,  $\eta$  den Reibungskoeffizienten mit der umgebenden Flüssigkeit und  $D$  einen Diffusionskoeffizienten zur Berücksichtigung zufälliger Fluktuationen bezeichnen [27]. Somit spürt jedes Filament das gemittelte Kraftfeld der umgebenden Filamente, was den Gedanken des Meanfield-Ansatzes widerspiegelt. Die Filamentgeschwindigkeit erhält man, indem man Inertialterme vernachlässigt und die Gesamtkraft gleich Null setzt

$$v = \frac{1}{\eta} \left[ -\eta D \partial_x c(x) + \int d\xi c(x + \xi) f(\xi) \right] \quad . \quad (3.14)$$

Zusammen mit der Kontinuitätsgleichung  $\partial_t c = -\partial_x v c$  erhält man somit unmittelbar die dynamische Gleichung für die Zeitentwicklung der Dichte der Filamente

$$\partial_t c(x) = D \partial_x^2 c(x) - \partial_x \left[ \frac{1}{\eta} c(x) \int d\xi c(x + \xi) f(\xi) \right] \quad . \quad (3.15)$$

Diese elementare Vorgehensweise zur Beschreibung der Dynamik von Aktin-Filamentbündeln, stellt die allgemeine Vorgehensweise zur Herleitung einer mesoskopischen Meanfield-Beschreibung auf der Basis von Impuls- und Massenerhaltung dar. Eine Verallgemeinerung dieser Herangehensweise in zwei Raumdimensionen wird in [82, 83, 84] vorgestellt.

Die Stärken des mesoskopischen Ansatzes liegen in der Beschreibung des Systems durch die Formulierung eines Satzes aus partiellen Differentialgleichungen, so dass die konventionellen Methoden der Theorie dynamischer Systeme für die Untersuchung der Lösungen anwendbar sind. Beispielsweise kann der Parameterraum mit Hilfe einer linearen Stabilitätsanalyse untersucht werden. Ein Nachteil dieser Variante ist häufig das Auftauchen von Integraltermen in den Gleichungen, deren Berechnung lange numerische Rechenzeiten benötigt. Es besteht jedoch die Möglichkeit, die Gleichungen durch die Wahl geeigneter Ordnungsparameter für numerische Berechnungen zu vereinfachen [18, 27, 85]. Dabei macht man sich Techniken der Multipolentwicklung in der Elektrodynamik zu eigen. Zur Vereinfachung des Integranden in 3.15 führt man eine Taylor-Entwicklung von  $c(x + \xi)$  um  $x$  durch. Das Integral lässt sich somit als  $C_1 \partial_x c(x) + C_2 \partial_x^2 c(x)$  mit  $C_1 = \int d\xi f(\xi) \xi$  und  $C_2 = \int d\xi f(\xi) \xi^2 / 2$  schreiben und man erhält für die Zeitentwicklung der Dichte

$$\partial_t c(x) = -\partial_x \left[ \frac{1}{\eta} c(x) \left( C_1 \partial_x c(x) + C_2 \partial_x^2 c(x) \right) \right] + D \partial_x^2 c(x) \quad . \quad (3.16)$$

Dieser Ansatz ist gültig, falls sich die Filamentdichte  $c$  auf einer weitaus größeren Skala ändert als der Integrandkern  $f$ , was nicht immer möglich ist sicherzustellen [27].

Motiviert durch die Beispiele und experimentellen Daten der vorangegangenen Kapitel und die Tatsache, dass Aktinwellen und Aktinpolymerisation wichtige Prozesse bei der Zellfortbewegung aber auch in vielen anderen biologischen Prozessen sind, soll in dieser Arbeit ein Aktin-Zytoskelett-System aus Filamenten im Wechselspiel mit Nukleationsproteinen in einem mesoskopischen Meanfield-Ansatz untersucht werden.

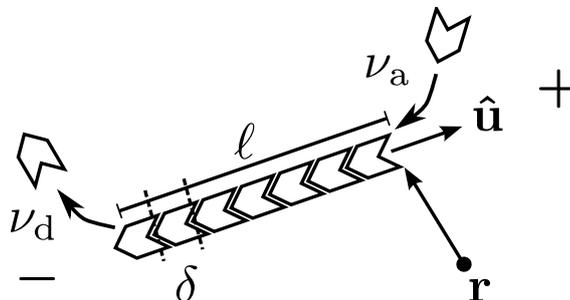


# 4 Theoretische Beschreibung des Aktin-Zytoskeletts

## 4.1 Kinematische Beschreibung des Aktinfilament-Aufbaus

Der theoretische Ansatz startet mit einer mesoskopischen Beschreibung der Dynamik des Aktin-Zytoskeletts. Dieser Ansatz soll die wesentlichen Aspekte der Aktindynamik bei der Kriechbewegung von Zellen erfassen und erhebt nicht den Anspruch, einen vollständigen Zugang zu allen Prozessen des Zytoskeletts zu gewähren. Er steht in engem Zusammenhang zu dem in [86] vorgestellten System. Da die Filamente wesentlich kürzer sind als ihre Persistenzlänge, sehen wir sie als starre Stäbchen an. Die Position im Raum wird durch einen Punkt entlang des Filamentes - wir wählen das Plus-Ende - und seine Orientierung, die in Richtung des Plus-Endes zeigt, eindeutig beschrieben. Der Zustand des Systems wird durch die Dichte  $c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \ell, t)$  der Plus-Enden der Aktinfilamente beschrieben, die von der Position  $\mathbf{r}$ , der Filamentorientierung  $\hat{\mathbf{u}}$ , wobei  $\hat{\mathbf{u}}$  in Richtung des Plus-Endes zeigt und  $\hat{\mathbf{u}}^2 = 1$  gilt, der Filamentlänge  $\ell$  und der Zeit  $t$  abhängt (vgl. Abb. 4.1). Hier sei darauf hingewiesen, dass zur Lokalisierung der Filamente auch ohne Einschränkung die Minus-Enden hätten verwendet werden können.

Es soll nun zunächst die Dynamik der Filamentlänge erläutert werden, bevor die räumliche Dynamik des Systems zur vollständigen Beschreibung integriert wird. Die Entstehung



**Abbildung 4.1:** Schematische Darstellung der Freiheitsgrade eines Filamentes: Ortsvektor  $\mathbf{r}$  (zeigt auf das Plus-Ende), Richtungsvektor  $\hat{\mathbf{u}}$  sowie Längen  $\delta$  eines Monomers und  $\ell$  des Gesamtfilamentes. Mit  $\nu_a$  und  $\nu_d$  werden die Polymerisations- bzw. Depolymerisationsraten der Treadmilling-Dynamik bezeichnet.

und der Zusammenbau eines Aktinfilamentes ist ein komplizierter Vorgang, der in Abschnitt 2.3.1 ausführlich beschrieben wurde. Er hängt im Wesentlichen davon ab, ob und welche Nukleotide an die Aktin-Untereinheiten gebunden sind und welche Proteine die Dynamik beeinflussen [87]. Die Filamentlänge  $\ell$  ist i. Allg. nicht konstant. Sie ändert sich durch die Hinzunahme oder das Entfernen von Monomeren der Länge  $\delta$  (vgl. Abb. 4.1). Wir gehen davon aus, dass am Plus-Ende nur Untereinheiten hinzugefügt (Polymerisation) und am Minus-Ende nur Untereinheiten abgelöst (Depolymerisation) werden können, was einer „Treadmilling“-Dynamik entspricht. Die Raten für die Polymerisierung am Plus-Ende und die Depolymerisierung am Minus-Ende werden mit  $\nu_a$  und  $\nu_d$  bezeichnet. Spezielle Proteine können die Raten für das Hinzufügen und Ablösen von Untereinheiten beschleunigen oder verlangsamen. Im beschriebenen Fall gehen wir davon aus, dass die Filamente im Mittel am Plus-Ende wachsen und am Minus-Ende schrumpfen. In Abwesenheit von Hilfsproteinen ist die mittlere Wachstumsrate am Plus-Ende niedriger als die mittlere Schrumpfrate am Minus-Ende, was ein im Mittel schrumpfendes Filament zur Folge hat [88, 89, 90]. Capping-Proteine sind dagegen bspw. in der Lage, das Ablösen von Untereinheiten am Minus-Ende des Filamentes zu verhindern. Sie bewirken somit eine Verlängerung des Filamentes und führen schlussendlich zu einem Nettowachstum. Um das System so einfach wie möglich zu halten, werden diese Proteine nicht explizit berücksichtigt, dem Prozess wird jedoch Rechnung getragen, indem die Wachstumsrate am Plus-Ende  $\nu_a$  stets größer als die Schrumpfrate  $\nu_d$  am Minus-Ende angenommen wird,  $\nu_a > \nu_d$ .

Darüber hinaus können sich Filamente mit einer Rate  $k_d$  spontan auflösen, was den in Abschnitt 2.3.1 beschriebenen „Katastrophen“ Rechnung trägt. Äquivalent dazu könnte man annehmen, dass der Filamentabbau auf viel schnelleren Zeitskalen abläuft als die anderen relevanten Prozesse. Dadurch erreicht man, dass die Filamente nicht unbegrenzt wachsen können.

Das Filamentwachstum startet mit der Bildung eines Nukleus, der aus drei Aktinmonomeren besteht [18]. In unserem Modell wird die spontane Bildung eines solchen Nukleus vernachlässigt, da sie unter physiologischen Bedingungen ein äußerst seltenes Ereignis darstellt [87] und nur die Bildung neuer Filamente berücksichtigt, die durch Nukleationsproteine hervorgerufen wird. Wenn  $c_i$ , mit  $i = 0, 1, 2, \dots$ , die Verteilung der Filamente mit Länge  $i\delta$  beschreibt, repräsentiert die Länge 0 gerade einen o. g. Nukleus. Für die zeitliche Veränderung dieser Verteilung erhalten wir somit

$$\frac{d}{dt}c_i = -\nu_a c_i + \nu_a c_{i-1} - \nu_d c_i + \nu_d c_{i+1} - k_d c_i \quad , \quad (4.1)$$

für  $i > 0$ . Im Allgemeinen hängen die Polymerisationsrate  $\nu_a$  und die Depolymerisationsrate  $\nu_d$  von der Konzentration der freien Aktinmonomere und physikalischer Größen, wie

Temperatur und pH-Wert ab. Im Folgenden wird davon ausgegangen, dass diese Raten konstant sind und ein unbegrenztes Reservoir an Monomeren existiert.

Auf Längenskalen, die weitaus größer als die Länge  $\delta$  sind, kann Gleichung 4.1 durch folgende partielle Differentialgleichung approximiert werden

$$\partial_t c(\ell) = -\partial_\ell (v_a - v_d) c(\ell) - k_d c(\ell) \quad , \quad (4.2)$$

wobei  $v_a = \nu_a \delta$  und  $v_d = \nu_d \delta$  die Polymerisations- bzw. Depolymerisationsgeschwindigkeiten an Plus- und Minus-Ende sind.

Wir nehmen nun an, dass der Filamentfluss an der Stelle  $\ell = 0$  und damit die Rate der Nukleation proportional zur lokalen Dichte der aktiven Nukleationsproteine  $n_a$  ist:

$$(v_a - v_d) c(\ell = 0) = j_\ell|_{\ell=0} = \dot{\nu} n_a \quad .$$

Wir wählen also für die Dichte der Nuklei  $c(\ell = 0) = \nu n_a$ , wobei  $\nu$  eine Konstante ist, die o. B. d. A. auf  $\nu = 1$  gesetzt werden kann. Diese Wahl ist gerechtfertigt, wenn die Filamente ihre endgültige Länge  $\ell$  in einer Zeit erreichen, die schnell im Vergleich zu anderen Prozessen ist.

Die stationäre Lösung von Gleichung (4.2) ist durch eine Exponentialfunktion gegeben

$$c(\ell) = n_a \exp\left(-\frac{k_d}{v_a - v_d} \ell\right) \quad , \quad (4.3)$$

womit die mittlere Länge  $\langle \ell \rangle = (v_a - v_d)/k_d$  proportional zur Differenz zwischen Polymerisations- und Depolymerisationsgeschwindigkeit  $v_a - v_d$  und umgekehrt proportional zur Rate  $k_d$  ist. Dieser Ansatz ist nur dann sinnvoll, wenn wie angenommen  $v_a > v_d$  ist. Im umgekehrten Fall muss man Gleichung (4.1) bis zur zweiten Ordnung entwickeln und erhält dann für die Zeitentwicklung der Dichte

$$\partial_t c(\ell) = -\partial_\ell (v_a - v_d) c(\ell) + \partial_\ell^2 \frac{(v_a + v_d)}{2} c(\ell) - k_d c(\ell) \quad . \quad (4.4)$$

Die Längenverteilung der Filamente ist immer noch exponentiell, wobei für die mittlere Länge

$$\langle \ell \rangle = \frac{v_d - v_a}{v_a + v_d} + \sqrt{\frac{(v_d - v_a)^2}{(v_a + v_d)^2} + \frac{2\nu_d}{v_a + v_d}}$$

gilt.

Nimmt man nun die Ortsabhängigkeit hinzu, so wird der Zustand des Systems durch die Dichte der Plus-Enden der Filamente  $c$  beschrieben, die von der Position im Raum, der Orientierung und der Länge abhängt,  $c \equiv c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \ell, t)$ . Ihre Zeitentwicklung ist gegeben durch

$$\partial_t c = D\Delta c - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c - (v_a - v_d) \partial_\ell c - k_d c \quad . \quad (4.5)$$

Für die Randbedingung im  $\ell$ -Raum gilt

$$c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \ell = 0) = \nu n_a(\mathbf{r}) \quad , \quad (4.6)$$

wobei  $n_a$  die Dichte der aktiven Nukleationsproteine ist.

Die Diffusionskonstante  $D$  hängt i. Allg. von der Filamentlänge  $\ell$  ab, wird jedoch hier der Einfachheit halber als isotrop angesehen [18]. Sie trägt sowohl Fluktuationen in der Position des Plus-Endes der Filamente Rechnung als auch der stochastischen Natur des Hinzufügens von Monomeren an das Filamentende. Ebenso vernachlässigt wird die Rotationsdiffusion. Geht man davon aus, dass die Filamente sehr steif und durch Verschlingungen miteinander stark vernetzt sind, ist kein signifikanter Einfluss durch Rotationsdiffusion zu erwarten.

Die unmittelbare numerische Analyse von Gleichung (4.5) mit der Finiten-Differenzen-Methode würde eine Diskretisierung der Gleichung auf einem vierdimensionalen Gitter erfordern, was numerisch unpraktisch ist. Zur weiteren Vereinfachung des Systems und zur Steigerung der numerischen Effizienz kann man zwei neue Ordnungsparameter einführen, die eine wesentliche Vereinfachung des Systems ermöglichen, ohne dabei nähern zu müssen. In einem ersten Schritt soll die Längenabhängigkeit von  $c$  ausintegriert werden. Dazu definiert man die Dichte  $c^-$  der Minus-Enden und die Gesamtaktindichte  $T$  am Ort  $\mathbf{r}$  für Filamente mit Orientierung in Richtung  $\hat{\mathbf{u}}$ :

$$c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) = \int_0^\infty d\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi) \quad , \quad (4.7)$$

$$T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) = \int_0^\infty d\ell \int_0^\ell d\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \ell) \quad . \quad (4.8)$$

Angewendet auf Gleichung (4.5) erhält man damit:

$$\partial_t c^- = D\Delta c^- - \nabla \cdot v_d \hat{\mathbf{u}} c^- - k_d c^- + \nu n_a \quad , \quad (4.9)$$

$$\partial_t T = D\Delta T - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} T + (v_a - v_d) c^- - k_d T \quad . \quad (4.10)$$

Um das großräumige Verhalten des Systems zu untersuchen, legen wir nun den Hauptaugenmerk auf makroskopische Dichten und Polarisationsfelder. Dazu entwickeln wir in einem zweiten Schritt die Abhängigkeit der Dichten  $c^-$  und  $T$  von  $\hat{\mathbf{u}}$  bezüglich der Momente der Orientierung. Bezeichnet man mit  $\rho^-(\mathbf{r})$  und  $\mathbf{p}^-(\mathbf{r})$  bzw.  $T_{\text{tot}}$  und  $\mathbf{p}_{\text{tot}}$  die entsprechenden ersten bzw. zweiten Momente der Entwicklung für  $c^-$  und  $T$ , so lassen sich diese als

$$\rho^-(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (4.11)$$

$$\mathbf{p}^-(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}} c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (4.12)$$

$$T_{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (4.13)$$

$$\mathbf{p}_{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}} T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad (4.14)$$

schreiben. Diese Größen entsprechen gerade den beiden ersten Moden einer Fourierentwicklung, die zur Beschreibung der Filamentverteilung ausreichen. Kennt man alle Moden, kann man daraus die vollständige Verteilung berechnen. Wendet man diese Entwicklung an, ergibt sich aus Gleichungen (4.9) und (4.10)

$$\partial_t T_{\text{tot}} = D\Delta T_{\text{tot}} - v_a \nabla \cdot \mathbf{p}_{\text{tot}} + (v_a - v_d)\rho^- - k_d T_{\text{tot}} \quad , \quad (4.15)$$

$$\partial_t \mathbf{p}_{\text{tot}} = D\Delta \mathbf{p}_{\text{tot}} - \frac{1}{2} v_a \nabla T_{\text{tot}} + (v_a - v_d)\mathbf{p}^- - k_d \mathbf{p}_{\text{tot}} \quad , \quad (4.16)$$

$$\partial_t \rho^- = D\Delta \rho^- - v_d \nabla \cdot \mathbf{p}^- - k_d \rho^- + \nu n_a \quad , \quad (4.17)$$

$$\partial_t \mathbf{p}^- = D\Delta \mathbf{p}^- - k_d \mathbf{p}^- - \frac{1}{2} v_d \nabla \rho^- \quad (4.18)$$

unter Vernachlässigung von Termen der Ordnung 2 und höher in  $\hat{\mathbf{u}}$ . Die genaue Herleitung der Gleichungen (4.15) - (4.18) ist in Anhang A gezeigt.

Betrachtet man nun den Fall  $k_d L \gg v_d$  und  $k_d L^2 \gg D$ , wobei  $L$  eine typische Längenskala bezeichnet, auf der sich die Dichte von  $\rho^-$  ändert. Dadurch erhalten wir, dass  $\mathbf{p}^- \rightarrow \mathbf{0}$  und damit vernachlässigt werden kann. Aus Gleichung (4.17) erhält man  $\rho^- = \nu n_a / k_d$ , womit die Zeitentwicklung für  $T_{\text{tot}}$  nun lautet

$$\partial_t T_{\text{tot}} = D\Delta T_{\text{tot}} - v_a \nabla \cdot \mathbf{p}_{\text{tot}} - k_d T_{\text{tot}} + \alpha n_a \quad , \quad (4.19)$$

wobei  $\alpha = (v_a - v_d)\nu/k_d$  den Nukleationsfaktor definiert. Lässt man der Übersicht halber

den tiefgestellten Index „tot“ in den Gleichungen (4.16) und (4.19) weg, erreicht man die endgültige Form der dynamischen Gleichungen zur Beschreibung des Aktin-Zytoskeletts

$$\partial_t T = D\Delta T - v_a \nabla \cdot \mathbf{p} - k_d T + \alpha n_a \quad (4.20)$$

$$\partial_t \mathbf{p} = D\Delta \mathbf{p} - k_d \mathbf{p} - v_a \nabla T \quad . \quad (4.21)$$

Die ursprüngliche dynamische Gleichung (4.5) für die Filamentdichte erfasst dieselben Prozesse, die in den Referenzen [85, 86] beschrieben wurden. Allerdings bezog sich die Filamentdichte in den zitierten Arbeiten auf den Schwerpunkt und nicht auf die Plus-Enden der Filamente. Die Abhängigkeit von der Richtung  $\hat{\mathbf{u}}$  wurde in [85] beibehalten, wohingegen in [86] eine Momententwicklung bzgl. der Filamentlänge  $\ell$  betrachtet wurde. Die Unterschiede zu den in dieser Arbeit gemachten Untersuchungen beeinflussen jedoch die Dynamik des Aktin-Zytoskeletts nicht qualitativ.

## 4.2 Kinematische Beschreibung der Nukleationsproteine

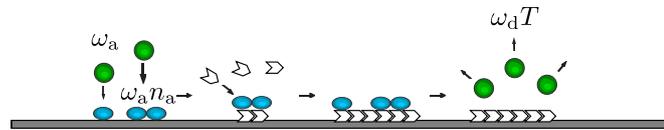
In diesem Abschnitt soll die Dynamik der sog. Nukleationsproteine erläutert werden. Der Auf- und Abbau von Aktinfilamenten wird durch Nukleationsproteine kontrolliert und gesteuert. Die spezifischen Eigenschaften der unterschiedlichsten Arten von Nukleatoren in echten biologischen Zellen sollen in dieser Arbeit vernachlässigt werden. Wir beschränken uns auf die Repräsentation der Prozesse bei der Keimbildung durch ein Protein, das in zwei Zuständen existieren kann. Im aktiven Zustand katalysiert es die Bildung neuer Aktinfilamente und ist an die Membran gebunden, die auf der Unterlage haftet. Seine Dichte wird durch  $n_a$  beschrieben. Im inaktiven Zustand bewegen sie sich frei im Zytoskelett. Die Dichte der inaktiven Proteine wird durch  $n_i$  gekennzeichnet. Die Zeitentwicklung der Dichten  $n_a(\mathbf{r}, t)$  und  $n_i(\mathbf{r}, t)$  ist durch

$$\partial_t n_a = D_a \Delta n_a + \omega_a (1 + \omega_1 n_a^2) n_i - \omega_d T n_a \quad (4.22)$$

$$\partial_t n_i = D_i \Delta n_i - \omega_a (1 + \omega_1 n_a^2) n_i + \omega_d T n_a \quad . \quad (4.23)$$

gegeben. Die Gesamtanzahl der aktiven und inaktiven Proteine im System ist erhalten, d. h.  $N = \int d^2\mathbf{r} (n_a(\mathbf{r}) + n_i(\mathbf{r})) = \text{konst.}$  Die jeweils ersten Terme auf der rechten Seite beschreiben die Diffusion der Proteine mit den effektiven Diffusionskonstanten  $D_a$  und  $D_i$ . Da die aktiven Nukleatoren oft mit größeren Proteinkomplexen oder der Membran verbunden sind, nehmen wir an, dass  $D_a$  viel kleiner als  $D_i$  ist. Die Nukleatoren werden mit der spontanen Rate  $\omega_a$  aktiviert. Gleichzeitig verstärken die bereits aktivierten Proteine

die Aktivierung der noch inaktiven. Diese zusätzliche Rate wird durch  $\omega_1 n_a^2$  beschrieben. Der Kooperativitätsterm ist der Term niedrigster Ordnung, mit dem es möglich ist, eine Instabilität des homogenen, isotropen Zustands zu erzeugen [27]. Die Deaktivierung der Proteine wird in Übereinstimmung mit experimentellen Beobachtungen an Neutrophilen [15] und *Dictyostelium discoideum* [91] durch die neu gebildeten Aktinfilamente induziert. Die entsprechende Rate wird durch  $\omega_d T$  bezeichnet. Eine spontane Deaktivierung der Nukleatoren wird vernachlässigt. Die relevanten Prozesse der Dynamik der Nukleatoren ist in Abbildung 4.2 dargestellt.



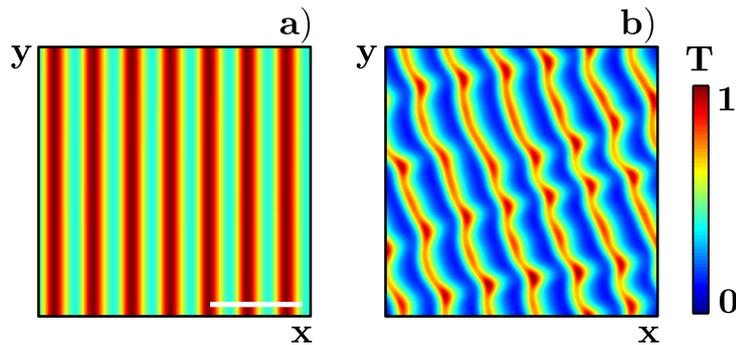
**Abbildung 4.2:** Relevante Prozesse der Dynamik der Nukleatoren. Inaktive Nukleatoren (grün) können aktiviert werden (blau). Aktive Nukleatoren erzeugen neue Aktinfilamente, die wiederum die Nukleatoren deaktivieren. Spontane Aktivierung mit Rate  $\omega_a$ , kooperative Aktivierung mit Rate  $\omega_1 n_a$  und Deaktivierung mit Rate  $\omega_d T$ .

Zur numerischen Lösung wird eine dimensionslose Form der Gleichungen (4.20) - (4.23) verwendet, die in Anhang B angegeben ist. Dabei wird der Ort mit  $\lambda = \sqrt{D_1 \omega_a^{-1}}$  und die Zeit mit  $\tau = \omega_a^{-1}$  skaliert. Dimensionslose Parameter werden durch Tilden angezeigt.

### 4.3 Spontane Wellen können erzeugt werden

Aktinwellen wurden in der Vergangenheit in zahlreichen biologischen Organismen experimentell beobachtet. Man geht davon aus, dass diese Wellen dafür verantwortlich sind, die Komponenten des Zytoskeletts so zu organisieren, dass Zellbewegung möglich wird [92, 65, 87]. Das Entstehen der Wellen kann dabei sowohl durch chemische Stoffe induziert werden als auch spontan geschehen. Für das spontane Auftreten von Wellen im Zytoskelett gibt es bereits zahlreiche Hinweise [15, 19, 86, 93, 94].

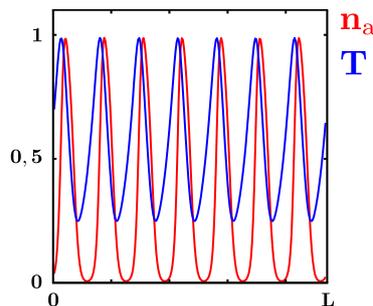
Das dynamische System aus den Gleichungen (4.19) - (4.23) ist in der Lage spontane Wellen zu erzeugen [85, 86]. Für kleine Werte der Deaktivierungsrate der Nukleatoren  $\tilde{\omega}_d$  befindet sich das System in einem stabilen, homogenen und isotropen Zustand. Beim Überschreiten des kritischen Wertes von  $\tilde{\omega}_{d,krit.} = 0,14$  wird die Symmetrie gebrochen und es bilden sich oszillatorische Lösungen aus. Ein Beispiel linearer Wellenfronten zeigt Abbildung 4.3 (a). Diese Lösungen propagieren als laufende Wellen im Modellgebiet mit periodischen Randbedingungen. Je nach Wahl der Anfangsbedingungen kann die Welle in verschiedene Richtungen laufen. Eine kleine asymmetrische Störung bzw. Fluktuation zerstört die am Anfang möglicherweise vorhandene Symmetrie. Man sagt, es kommt zur spontanen Symmetriebrechung. Diese entscheidet, welche Propagationsrichtung die Wellen im System einnehmen. Bei allen Simulationen wurde der Anfangszustand der Verteilung der freien Nukleatoren in der Nähe des homogenen, stationären Zustandes gewählt und mit einer kleinen zufälligen Störung überlagert.



**Abbildung 4.3:** Aktindynamik für verschiedene Werte von  $\tilde{\omega}_d$ ,  $\tilde{v}_a$  und  $\tilde{n}_i^0$ . Momentaufnahme der Aktindichte  $T$  zur Zeit  $t = 0,34\tilde{\omega}_a^{-1}$  für a)  $\tilde{\omega}_d = 0,2$ ,  $\tilde{v}_a = 0,02$  und  $\tilde{n}_i^0 = 120$ , b) für  $\tilde{\omega}_d = 0,4$ ,  $\tilde{v}_a = 0,02$  und  $\tilde{n}_i^0 = 120$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 4.6 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Das Entstehen und Aufrechterhalten der Wellenbewegung kann anschaulich erklärt werden. In den planaren Wellen gibt es einen Bereich aktiver Nukleatoren an der Vorderfront und einen Bereich von Aktinfilamenten an der Rückflanke. Die aktiven Nukleatoren beginnen

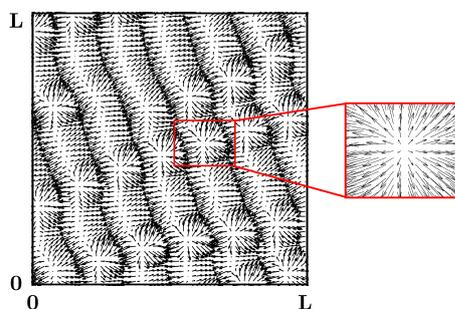
neue Aktinfilamente zu nukleieren. Freie Nukleatoren binden wegen der Kooperativität bevorzugt unmittelbar vor den bereits aktiven Nukleatoren auf der Membran und beginnen ebenfalls mit der Nukleation neuer Aktinfilamenten. Die bereits gebildeten Aktinfilamente verursachen zeitverzögert das Ablösen und somit die Deaktivierung der Nukleatoren, die erneut vor den aktiven in Propagationsrichtung der Welle binden und aktiviert werden. Dieser sich wiederholende Prozess hält die Bewegung der linearen Wellenfront aufrecht. Die Simulationen zeigen, dass die Dichtemaxima der Aktinfilamente unmittelbar hinter den Maxima der Dichten der aktiven Nukleatoren liegen (vgl. Abb. 4.4).



**Abbildung 4.4:** Schnitt durch den in Abbildung 4.3 (a) gezeigten Zustand. Aktive Nukleatoren  $n_a$  sind rot und Aktinfilamente  $T$  blau eingefärbt. Parameter sind wie in Abb. 4.3 (a) gewählt.  $L = 0,525\lambda$ .

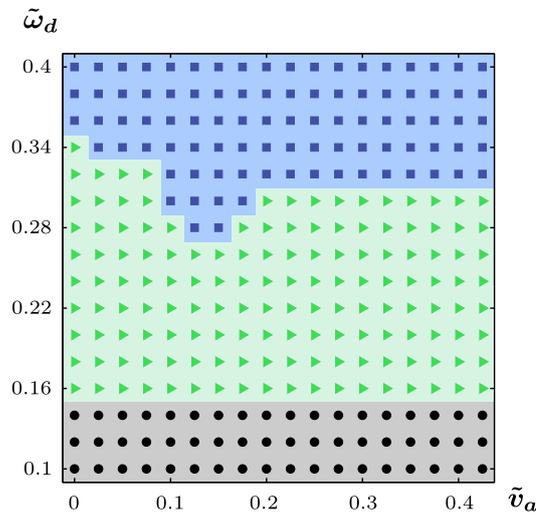
Erhöht man die Deaktivierungsrate  $\tilde{\omega}_d$  der Nukleatoren weiter, so werden die linearen Wellenfronten instabil. Sie brechen auf und es bilden sich in den Fronten „Blobs“ hoher Dichte, wie sie in Abbildung 4.3 (b) dargestellt sind. Das Polarisationsfeld eines jeden „Blobs“ hat eine Singularität (vgl. Abb. 4.5), die dem Maximum der Dichte der Aktinfilamente und der aktiven Nukleatoren in Bewegungsrichtung hinterherhinkt. Die Dichte der aktiven Nukleatoren eines „Blobs“ weist auch hier eine ähnliche Form wie die Dichte der Aktinfilamente auf und ist zu letzterer in Bewegungsrichtung verschoben.

Um ein zusammenhängendes Bild der Zustände zu bekommen soll der Phasenraum des



**Abbildung 4.5:** Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$  des in Abbildung 4.3 (b) gezeigten Zustands. Parameter sind wie in Abb. 4.3 (b) gewählt.  $L = 0,525\lambda$ .

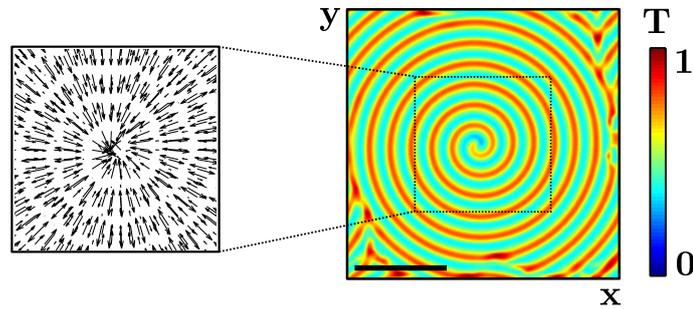
Systems bestehend aus den Gleichungen (4.19) - (4.23) in Bezug auf zwei wichtige Parameter angeschaut werden. Indem wir die Parameterwerte für die Deaktivierungsrate  $\tilde{\omega}_d$  der Nukleatoren und die Polymerisationsgeschwindigkeit  $\tilde{v}_a$  der Aktinfilamente variieren, sind wir in der Lage ein systematisches Bild der entsprechenden Schnitte durch den Phasenraum zu erhalten. In Abbildung 4.6 sind die Zustände des Systems in Bezug auf die Dynamik der Aktinfilamente klassifiziert. Dabei markieren schwarze Punkte die Bereiche homogener, stationärer Zustand, grüne Dreiecke die Bereiche, in denen sich lineare Wellenfronten ausbilden und blaue Quadrate Bereiche, in denen die Wellenfronten aufbrechen und Aktin-„Blobs“ entstehen. Dabei hängt der kritische Wert der Deaktivierungsrate  $\tilde{\omega}_d$  der Nukleatoren für die Entstehung von Aktin-„Blobs“ hoher Dichte von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $\tilde{v}_a$  der Aktinfilamente ab.



**Abbildung 4.6:** Phasenraum zu den Gleichungen (4.20) - (4.23) bezogen auf die Aktin-Dynamik als Funktion der dimensionslosen Ablöserate der Nukleatoren  $\tilde{\omega}_d$  und der dimensionslosen Polymerisationsgeschwindigkeit der Aktinfilamente  $\tilde{v}_a$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 angegeben. Punkte: homogener, stationärer Zustand; Dreiecke: lineare Wellenfronten; Quadrate: aufbrechende Wellenfronten mit Aktin-„Blobs“.

Ändert man die anfängliche Dichte der freien Nukleatoren entwickelt das System Spirallösungen. Eine Momentaufnahme der Spirale aus Aktinfilamenten ist in Abbildung 4.7 dargestellt. Wegen der periodischen Randbedingungen, ist die Spirale in unseren Simulationen allerdings nicht persistent. Sie beginnt mit sich selbst wechselzuwirken. Zur besseren Analyse der Spirallösung ist es deswegen nötig, die Ausbildung der Spirale in einer beschränkten Geometrie zu untersuchen (siehe dazu Abschnitt 6.4).

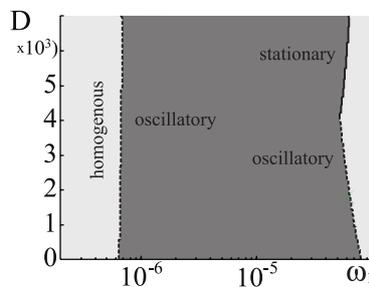
Das System aus der ursprünglichen dynamischen Gleichung (4.5) für die Filamentdichte und den dynamischen Gleichungen für die Nukleatoren (4.22) und (4.23) wurde bereits in [86] untersucht, wobei zur Vergrößerung der Gleichungen eine Momententwicklung bzgl.



**Abbildung 4.7:** Momentaufnahme der Aktindichte  $T$  zur Zeit  $t = 0,34\tilde{\omega}_a^{-1}$  für  $\tilde{\omega}_d = 0,4$ ,  $\tilde{v}_a = 0,024$  und  $\tilde{n}_i^0 = 250$  und Ausschnitt aus dem Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 4.6 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

der Filamentlänge  $\ell$  betrachtet wurde, welche die Dynamik des Systems nicht qualitativ beeinflusst. Eine lineare Stabilitätsanalyse zeigte bereits die Existenz laufender Wellen (vgl. Abb. 4.8). Für genügend kleine Werte von  $\omega_1$  ist der homogene, isotrope Zustand stabil. Übersteigt die Kooperativität  $\omega_1$  jedoch einen kritischen Wert, wird er instabil. Interessanterweise zeigte sich, dass der stationäre Zustand für hinreichend große Werte von  $\omega_1$  erneut stabil ist. Für beide Stabilitätsgrenzen existiert ein kritischer Wert von  $D$ , unterhalb dessen die Bifurkation oszillatorisch ist, wohingegen sie für größere Werte stationär ist.

Wie wir in diesem Abschnitt gesehen haben, kann das Aktin-Zytoskelett-System oszillatorische Zustände erzeugen, die sich bei periodisch gewählten Randbedingungen als laufende Wellen darstellen. Wir können also Phänomene reproduzieren, wie sie in verschiedenen Experimenten beobachtet wurden (vgl. Kapitel 2). Im nächsten Kapitel wollen wir nun diese Dynamik an ein Phasenfeld koppeln, das die Zellmembran, also einen beweglichen Rand, repräsentiert, um das theoretische System besser mit experimentellen Beobachtungen vergleichen zu können.



**Abbildung 4.8:** Stabilitätsdiagramm des homogenen, stationären Zustandes in Abhängigkeit von  $D$  und  $\omega_1$ . Stabile Regionen sind hellgrau, instabile dunkelgrau eingefärbt. Gepunktete Linien markieren oszillatorische Instabilitäten, durchgezogene Linien stationäre Instabilitäten. Aus [86].



## 5 Phasenfeld-Beschreibung räumlich abgegrenzter Aktin-Dynamik

In Kapitel 4 wurde gezeigt, dass das Aktin-Zytoskelett-System spontan laufende Wellen erzeugen kann. In Zellen wird das Zytoskelett jedoch von der Zellmembran oder Zellwand begrenzt. Sowohl das Kriechen von Zellen als auch die Ausbildung zellulärer Strukturen, wie Lamellipodien, beruht auf Wechselwirkungen zwischen dem Zytoskelett und der Zellmembran. Eine physikalische Beschreibung solcher Phänomene ist nur möglich durch das Einführen eines beweglichen Randes, der die Zellmembran repräsentiert. In diesem Kapitel wird das Verhalten des Aktin-Zytoskelett-Systems in beschränkten Domänen untersucht und ein neuartiger Ansatz vorgestellt, der die gewöhnliche Beschreibung eines mikroskopischen Systems mit der Dynamik eines Phasenfeldes zur Darstellung der Zellmembran verbindet [95, 96, 97, 98]. Das Phasenfeld wird in dieser Beschreibung als eine Art Markierungsfeld der Zelle verstanden. Die numerische Simulation mit Hilfe der Phasenfeldmethode bietet ein Werkzeug, um die faszinierende Wechselwirkung zwischen Zytoskelettwellen und der Zellbewegung direkt nachzuvollziehen. Die in Kapitel 5 und 6 besprochenen Ergebnisse wurden bereits in [99] veröffentlicht.

### 5.1 Der Phasenfeld-Ansatz

Betrachten wir nun das System aus Aktinfilamenten, die sich unter Regulierung von Nukleationsproteinen auf- und wieder abbauen. Die Filamente werden durch ein Phasenfeld auf einen begrenzten, räumlichen Bereich beschränkt. Das Phasenfeld markiert dabei das Innere einer Zelle, eines Zellfragmentes oder eines Vesikels. Der Einfachheit halber wird dieser Bereich im Folgenden als „Zelle“ bezeichnet. Wir beschränken uns weiterhin auf eine zweidimensionale Beschreibung und vernachlässigen Veränderungen in senkrechter Richtung zur Oberfläche. Diese Annahme ist geeignet für Zellen mit einer einigermaßen konstanten Höhe von einigen hundert Nanometern, kann jedoch auch zur Beschreibung von Zellbewegung in drei Dimensionen genutzt werden [100].

Der Phasenfeldformalismus ist eine zweckgünstige Methode um Multiphasen-Systeme wie z. Bsp. feste und flüssige Phasen oder das Innere und Äußere eines Systems zu beschreiben

[101, 102]. Insbesondere wurde er benutzt um die unterschiedlichsten Aspekte der Zellbewegung zu untersuchen. Dazu gehören zum einen Arbeiten zur Struktur und Form von Zellen [96, 98] und zum anderen Studien zur Wirkung von Adhäsionsmolekülen auf die Bewegung [95, 97, 103, 104].

Die Schwierigkeit bei der Beschreibung einer räumlich begrenzten Aktin-Dynamik liegt nicht in der Lösung der intrinsischen Gleichungen, sondern vielmehr in der Unterscheidung der beiden Phasen innen und außen und der Kopplung der inneren Dynamik an einen frei beweglichen Rand. Die numerische Behandlung von Systemen mit frei beweglichen Rändern stellt auch heute noch eine Herausforderung dar. Lösungsansätze reichen von „*sharp interface*“-Methoden, „*moving boundary*“-Methoden, über „*level set*“-Methoden bis zu Phasenfildmethoden. Jede dieser Methoden hat innerhalb gewisser physikalischer Problembereiche ihre jeweiligen Vor- und Nachteile. Auch heute ist noch keine vollkommen befriedigende Lösung der Problematik gefunden worden.

Bei den „*sharp interface*“-Modellen wird die Grenze zwischen innen und außen - die Berandung der Zelle - als scharfe Sprungfläche verstanden, an der die Dichten oder andere Parameter beim Überschreiten der Grenze diskontinuierlich ihre Werte ändern. In der Numerik wird das gekrümmte Diskretisierungsgitter in jedem Zeitschritt an die Membran angepasst, um die notwendige Sprungbedingung an den freien Rändern anzubringen.

In theoretischen Untersuchungen von *Dobrovinski et al.* wurde eine „*moving boundary*“-Methode verwendet [85]. Hierbei wurde die Berandung, die numerische Darstellung der Zellmembran, durch ein Potential  $V$  repräsentiert. Die Zeitentwicklung des Randes  $\Gamma$  wurde durch die dynamische Gleichung

$$\dot{\Gamma} = -\xi \frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \Gamma}$$

beschrieben, wobei die freie Energie der Membran mit

$$\mathcal{F} = \int_{\Gamma} d\mathbf{r} \kappa H^2 / 2 + \tau \Gamma + P \Omega + \int_{\Omega} d\mathbf{r} V(\mathbf{r}, \Gamma) c_0(\mathbf{r})$$

berechnet wurde. Hierbei bezeichnen  $\kappa$  die Biegesteifigkeit der Membran,  $\tau$  die Oberflächenspannung der Membran,  $H$  die mittlere Krümmung der Membran,  $P$  die Druckdifferenz zwischen innerem und äußerem Druck,  $\xi$  einen Reibungskoeffizienten,  $\Omega$  die Oberfläche und  $c_0$  die Gesamtdichte der Plus-Enden von Filamenten im System. In den dynamischen Gleichungen für die Filamente wurde ein zusätzlicher Term benötigt, der den Kräften, die von der Membran auf die Filamente ausgeübt werden, Rechnung trägt. Diese Kraft führt zu einem zusätzlichen Fluss proportional zur Dichte der Filamente, einem phänomenologischen Reibungskoeffizienten und der Kraft durch die Membran. In diesem Fall

erfahren die Filamente eine Kraft proportional zu  $-\nabla V$ . Diese Methode zeigt deutliche Vorteile durch die sehr genaue Darstellung der Berandung, hat allerdings den Nachteil sehr rechenintensiv zu sein.

Die sog. „*level set*“-Methode stellt einen weiteren Ansatz in Verbindung mit einem „*sharp interface*“-Modell dar [105]. Die Berandung wird hier in einer impliziten Darstellung durch die Null-Fläche einer charakteristischen Funktion ohne scharfe Gradienten dargestellt. Die Nullstellenmenge eines  $(n - 1)$ -dimensionalen Randes  $\Gamma$  in einem  $n$ -dimensionalen Raum wird über die  $n$ -dimensionale Hilfsfunktion  $\phi(\mathbf{r}, t)$  beschrieben:

$$\Gamma(\mathbf{r}, t) = \{\mathbf{r} \mid \phi(\mathbf{r}, t) = 0\} \quad .$$

Bewegt sich der Rand in Richtung seiner Normalen mit Geschwindigkeit  $\mathbf{v}(\mathbf{r}, t)$ , so lässt sich die Bewegung über eine Differentialgleichung für die Hilfsfunktion darstellen:

$$\dot{\phi} = -\mathbf{v} \cdot |\nabla \phi| \quad .$$

Zur Darstellung der Bewegung des Randes  $\Gamma$  zu verschiedenen Zeitpunkten der Bewegung genügt es also, die Nullstellenmenge der Hilfsfunktion  $\phi$  zu verfolgen [105].

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Phasenfeld-Ansatz stellen wir die Berandung der Zelle implizit durch ein Phasenfeld dar, das zwischen den Bereichen reiner Phase einen ausgeschmierten Bereich mit klar definiertem Profil fester Breite aufweist. Das mathematisch sogenannte freie Randwertproblem, das die Bedingungen an der scharfen Phasengrenze formuliert, wird über den Phasenfeldformalismus auf eine diffuse Grenzfläche abgebildet. Statt der rein numerischen Motivation geht die Ausschmierung der Grenze in dieser Beschreibung direkt durch eine zusätzliche Phasenfelddynamik in die dynamischen Gleichungen ein. Die Form der Berandung wird durch das Wechselspiel verschiedener Kräfte bestimmt. Dazu gehören Oberflächenspannung, Biegesteifigkeit und der Druck in der Zelle. Die Oberflächenenergie ist dabei proportional zum Umfang  $S$  der Zelle und lässt sich durch

$$\mathcal{H}_{\text{ten}} = \gamma S = \gamma \int d\mathbf{r} \frac{1}{\epsilon} \left[ \frac{(\epsilon |\nabla \psi|)^2}{2} + V \right] \quad (5.1)$$

beschreiben, wobei  $\gamma$  die Oberflächenspannung und  $\epsilon$  den Parameter zur Kontrolle der Breite der Berandung bezeichnen. Das Potential  $V$  mit  $V(\psi) = \psi^2(1 - \psi)^2/4$  ist ein Doppelmuldenpotential und legt die energetisch stabilen Werte des Phasenfeldes auf  $\psi = 0$  und  $\psi = 1$  fest. Der erste Term auf der rechten Seite beschreibt die Energieerhöhung,

proportional zu  $\epsilon$ , die mit einer Variation des Phasenfeldes verknüpft ist. Dieser, in Analogie zu einer Oberflächenspannung definierte Energiebeitrag, verursacht z. B. die Minimierung des Bereichs zwischen den beiden Gebieten konstanter Phase. Beide Terme konkurrieren miteinander. Während der erste Term einen möglichst flachen und glatten Übergang bevorzugt, strebt der zweite Term ein stufenförmiges Profil an.

Der zur Biegesteifigkeit gehörende Energiebeitrag lässt sich nach Helfrich in der Form

$$\mathcal{H}_{\text{bend}} = \frac{\kappa}{2} \int d\mathbf{r} \frac{1}{\epsilon} \left[ \epsilon \nabla^2 \psi - \frac{1}{\epsilon} V' \right]^2 \quad (5.2)$$

angeben, wobei  $\kappa$  die Biegesteifigkeit bezeichnet. Abhängig von den Phasenfeldparametern stellt sich daher zwischen Gebieten reiner Phasen ein Profil fester Breite ein, das die freie Energie  $\mathcal{F}[\psi]$  des Phasenfeldes minimiert [98, 101, 106, 107].

Im nächsten Abschnitt beginnt die Beschreibung des Systems, indem die Dynamik des Phasenfeldes  $\psi$  erläutert wird und anschließend die dynamischen Gleichungen für die Dichte der Aktinfilamente  $T$ , das Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$  und die Dichten der aktiven und inaktiven Nukleationsproteine  $n_a$  und  $n_i$  vorgestellt werden.

## 5.2 Dynamik des Phasenfeldes

Der Phasenfeldformalismus dient in dieser Arbeit zur Veranschaulichung des Einflusses von Polymerisationswellen auf die Zellbewegung. Das Phasenfeld  $\psi$  selbst ist ein reellwertiges, positives Hilfs- oder Markierungsfeld, das das Innere vom Äußeren der Zelle abgrenzt und dessen Verteilung innen-außen durch eine charakteristische Funktion im Wertebereich  $[0,1]$  beschrieben wird. Der Innenraum entspricht  $\psi \rightarrow 1$ , wohingegen der Außenraum durch  $\psi \rightarrow 0$  definiert wird. Das Phasenfeld variiert kontinuierlich zwischen diesen beiden Werten. Seine Dynamik genügt der Gleichung [96, 98, 103, 104]

$$\partial_t \psi = D_\psi \Delta \psi + f(\psi, \delta) - \beta \mathbf{p} \cdot \nabla \psi \quad . \quad (5.3)$$

Der Wert des Phasenfeldes unterscheidet sich nur im Bereich der Membran von den Werten reiner Phase. Dieser Umstand kann dazu verwendet werden, die Position der Membran numerisch zu bestimmen. Mit dem Ausdruck

$$\mathbf{n} = -\nabla \phi / |\nabla \phi| \quad (5.4)$$

lässt sich ein Normalenvektor an die Membran definieren. Die Nullstellen der Funktion  $f$  charakterisieren die beiden Phasen innen ( $\psi = 1$ ) und außen ( $\psi = 0$ ). Sie hat die kubische Form

$$f(\psi, \delta) = \kappa \psi (1 - \psi) (\psi - \delta) \quad , \quad (5.5)$$

so dass das Phasenfeld in Abhängigkeit des Anfangswertes  $\psi_0$  in eine der beiden reinen Phasen ( $\psi = 0$  oder  $\psi = 1$ ) relaxiert. Für Anfangswerte  $\psi_0 < \delta$  bewegt sich das System in den Zustand  $\psi = 0$ , für Anfangswerte  $\psi_0 > \delta$  in den entgegengesetzten Zustand  $\psi = 1$ . Zur Anpassung der Zeitskala zwischen der intrinsischen Dynamik des Aktin-Zytoskeletts und der des Phasenfeldes wird ein zusätzlicher Parameter  $\kappa$  eingeführt. Er legt die Zeitskala fest, auf der das Markierungsfeld die beiden Zustände 0 und 1 erreicht. Damit die Größe der Zelle im Mittel konstant bleibt, wird die Größe  $\delta$  eingeführt. Sie fungiert als Zwangsbedingung und ihre Werte hängen vom Phasenfeld selbst ab. Der Zusammenhang ist durch die Beziehung

$$\delta = \frac{1}{2} + \epsilon \left( \int d^2 \mathbf{r} \psi(\mathbf{r}) - A_0 \right) \quad , \quad (5.6)$$

festgelegt, wobei  $A_0$  die initiale Fläche der Zelle definiert. Dadurch soll nicht erreicht werden, dass die Fläche der Zelle invariabel fixiert wird, sondern ein Kollaps bzw. ein unbegrenztes Wachstum soll vermieden werden. Letztendlich fluktuiert die Fläche der Zelle

um den Wert  $A_0$  [96]. Die Oberflächenspannung und Elastizität der Zellmembran spiegeln sich im Wert des Parameters  $\epsilon > 0$  wider. Er bestimmt die Stärke der Zwangsbedingung. Unterschiedliche Werte von  $\epsilon$  können durch Reskalierung von  $A_0$  und  $D_\psi$  ebenfalls erreicht werden, wodurch der genaue Wert von  $\epsilon$  jedoch irrelevant wird. Die Abhängigkeit der Fläche  $A = \int d^2\mathbf{r} \psi$  von  $\epsilon$  ist in Abbildung 6.19 gezeigt. Da Zellbewegung im überdämpften Fall stattfindet, vernachlässigt man Inertialterme in den dynamischen Gleichungen.

Der effektive Diffusionsterm in Gleichung (5.3) legt die Breite zwischen den Gebieten reiner Phasen  $\psi = 0$  und  $\psi = 1$  fest. Daher steht der Wert der Konstanten  $D_\psi$  im Zusammenhang mit der Oberflächenspannung der Membran. Gleichung (5.3) minimiert den in Gleichung (5.1) definierten Anteil der Oberflächenspannung an der freien Energie. Betrachtet man die Variationsableitung der freien Energie, so erhält man über den Zusammenhang

$$\partial_t \psi = -\frac{\delta \mathcal{F}}{\delta \psi} = \gamma \left[ \epsilon \Delta \psi - \frac{1}{\epsilon} \psi (\psi - 1) \left( \psi - \frac{1}{2} \right) \right] \equiv D_\psi \Delta \psi + f(\psi, \delta) \quad (5.7)$$

die ersten beiden Terme auf der rechten Seite der Zeitentwicklung von  $\psi$ . Der in Gleichung (5.2) definierte Anteil der Biegesteifigkeit an der freien Energie führt zu Ableitungen höherer Ordnung in  $\psi$ . Der Einfachheit halber vernachlässigen wir in dieser Beschreibung mögliche Beiträge der Biegesteifigkeit der Membran auf die Dynamik des Phasenfeldes. Eine Berücksichtigung wäre jedoch grundsätzlich möglich. Die wichtigste Frage besteht darin, wie die Dynamik des Aktin-Zytoskeletts an das Phasenfeld gekoppelt wird. Der dritte Term auf der rechten Seite von Gleichung (5.3) koppelt die Polymerisationsdynamik der Aktinfilamente über das Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$  an das Phasenfeld. Wir nehmen an, dass Filamente, die mit ihrem Plus-Ende in Richtung der Zellmembran zeigen, die Membran weiter nach außen schieben, wohingegen Filamente, die mit ihrem Minus-Ende an der Zellmembran lokalisiert sind, diese nach innen ziehen können. Es wurde bereits suggeriert, dass molekulare Motoren im Wechselspiel mit Aktinfilamenten ein Ziehen an der Membran induzieren können [108]. Wir beschreiben jedoch der Einfachheit halber ein System ohne molekulare Motoren. Der Parameter  $\beta$  bestimmt die Stärke der Kopplung zwischen den Aktinfilamenten und der Membran. Er hängt im Wesentlichen von Eigenschaften der Oberfläche, auf der die Zelle kriecht, sowie der Polymerisierungsrate von Aktin ab [95, 103]. In Kapitel 6 zeigen wir, dass in den Lösungen das Polarisationsfeld an der Membran immer nach außen zeigt und folglich dafür verantwortlich ist, die Membran nach außen zu schieben. Dies steht im Gegensatz zu Systemen mit molekularen Motoren, die kontrahierende Spannungen im Zytoskelett erzeugen [72, 96].

### 5.3 Kopplung der Aktin- und Nukleotoren-Dynamik an das Phasenfeld

Es verbleibt nun die Gleichungen (4.20) bis (4.23) an das oben beschriebene Phasenfeld  $\psi$  zu koppeln. Um die Aktin-Dynamik auf das Innere der Zelle zu begrenzen, multiplizieren wir die Polymerisations- und Degradierungsterme der Gleichungen (4.20) für die Aktindichte  $T$  und (4.21) für das zugehörige Polarisationsfeld  $\mathbf{p}$  mit dem Phasenfeld  $\psi$ . Analog werden in den Gleichungen (4.22) für die aktiven und (4.23) für die inaktiven Nukleotoren,  $n_a$  und  $n_i$ , die Aktivierungs- und Deaktivierungs-Prozesse auf das Zellinnere beschränkt. Die vollständigen, gekoppelten Gleichungen lauten demnach:

$$\partial_t T = D\Delta T - k_d\psi T - v_a\psi\nabla\cdot\mathbf{p} + \alpha\psi n_a \quad (5.8)$$

$$\partial_t \mathbf{p} = D\Delta \mathbf{p} - k_d\psi \mathbf{p} - v_a\psi\nabla T \quad (5.9)$$

$$\partial_t n_a = D_a\Delta n_a + \omega_a\psi(1 + \omega_1 n_a^2)n_i - \omega_d\psi T n_a \quad (5.10)$$

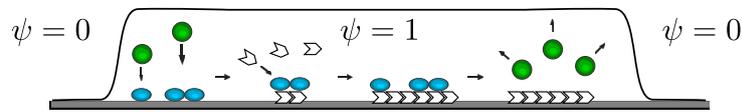
$$\partial_t n_i = D_i\Delta n_i - \omega_a\psi(1 + \omega_1 n_a^2)n_i + \omega_d\psi T n_a \quad (5.11)$$

Da in den Gleichungen (5.10) und (5.11) die Diffusionsterme nicht direkt an das Phasenfeld  $\psi$  gekoppelt werden, können die Nukleotoren aus der Zelle heraus transportiert werden. Um dies zu verhindern werden im numerischen Integrationsschema Nukleotoren, die aus dem Zellinneren hinaus diffundieren, in jedem Zeitschritt entfernt, indem  $n_a|_{\psi<\bar{\psi}} = 0$  und  $n_i|_{\psi<\bar{\psi}} = 0$  gesetzt wird, wobei o.B.d.A.  $\bar{\psi} = 10^{-2}$  gilt. Da es sich bei der Gesamtzahl der Nukleotoren um eine Erhaltungsgröße handelt, wird ein zusätzlicher Term zu den Dichten der Nukleotoren hinzugefügt, der den Verlust außerhalb der Zelle wieder ausgleicht:

$$n_a = n_a + \frac{\psi N_a}{\int d^2\mathbf{r} \psi(\mathbf{r})} \quad (5.12)$$

$$n_i = n_i + \frac{\psi N_i}{\int d^2\mathbf{r} \psi(\mathbf{r})} \quad (5.13)$$

Hierbei sind  $N_a = \int d^2\mathbf{r} n_a|_{\psi<\bar{\psi}}$  und  $N_i = \int d^2\mathbf{r} n_i|_{\psi<\bar{\psi}}$  die entsprechende Anzahl der außerhalb der Zelle degradierten aktiven bzw. inaktiven Nukleotoren. Wir haben unterschiedliche Möglichkeiten den Verlust an Nukleotoren auszugleichen untersucht und festgestellt, dass alle unten beschriebenen Zustände unabhängig von der gewählten Methode erzeugt werden können. Ebenso sind die Diffusionsterme in den Gleichungen (5.8) und (5.9) nicht unmittelbar an das Phasenfeld  $\psi$  gekoppelt. In ähnlicher Weise könnten die Aktindichte  $T$  und die Orientierung  $\mathbf{p}$  aus der Zelle hinaus reichen. Da man in den Simulationen für den Diffusionskoeffizienten  $D = 0$  wählt, ändert der beschriebene Effekt die Lösungen



**Abbildung 5.1:** Schematische Darstellung der Dynamik im Innern der Zelle. Das Innere der Zelle wird durch Werte des Phasenfeldes von  $\psi = 1$  repräsentiert. Inaktive Nukleatoren (grün) können in diesem Bereich aktiviert werden (blau). Aktive Nukleatoren erzeugen neue Aktinfilamente, die wiederum die Nukleatoren deaktivieren.

allerdings nicht qualitativ und demzufolge brauchen diese Felder nicht explizit degradiert zu werden.

Bevor im nächsten Kapitel die Ergebnisse der numerischen Simulationen diskutiert werden, soll zunächst noch auf das Kräftegleichgewicht im beschriebenen System eingegangen werden.

## 5.4 Kräftegleichgewicht

Das Zytoskelett ist dazu in der Lage, Kraftdipole zu erzeugen. Gibt es keine äußeren Kräfte, muss folglich der Impulsfluss durch die Zellmembran einer Zelle verschwinden. Im Kriechfall, der hier betrachtet wird, bedeutet dies, dass die Summe aller internen Kräfte, die auf das Zytoskelett wirken, verschwinden. Im beschriebenen Fall kann das Zytoskelett Impulse sowohl mit der Umgebung über Wechselwirkung mit der Zellmembran als auch mit der Unterlage, auf der es sich bewegt, austauschen. Zusätzlich könnten noch Reibungskräfte auftreten, die durch die Wechselwirkung der Zelle mit der sie umgebenden Flüssigkeit entstehen. Diese Kräfte sind allerdings so klein, dass sie nachfolgend vernachlässigt werden können. In diesem Abschnitt werden die dynamischen Gleichungen hinsichtlich des Kräftegleichgewichtes untersucht, obwohl in der mikroskopischen Beschreibung Kräfte nicht explizit auftreten. Dazu nehmen wir an, dass die Zelle fest auf dem Substrat haftet und wir vernachlässigen Flüsse relativ zur Unterlage.

Zur Beschreibung der großskaligen Strukturen kann der Übergang zwischen den beiden reinen Phasen im sog. „sharp interface“-Grenzfall durch eine scharfe Grenzfläche ersetzt werden, d. h.  $D_\psi = 0$ . Man betrachtet nun das Kräftegleichgewicht in einer Situation für sehr kleine  $D_\psi$ , also nahe des beschriebenen Grenzfalles. An der Membran müssen drei Kräfte berücksichtigt werden. Zunächst wird die Oberflächenspannung  $\gamma$  betrachtet. Sie

ist proportional zum Diffusionskoeffizienten und führt zu einer Kraftdichte entlang der Membran. Die Kraftdichte  $\mathbf{f}_{\text{ten}}$  lässt sich als

$$\mathbf{f}_{\text{ten}} = \gamma\chi\mathbf{n} \quad (5.14)$$

beschreiben, wobei  $\chi$  die Krümmung der Membran und  $\mathbf{n}$  den nach außen zeigenden Normalenvektor  $\mathbf{n} = -\nabla\phi/|\nabla\phi|$  bezeichnet [98]. Auch das Zytoskelett übt eine Kraft  $\mathbf{f}_{\text{pol}}$  auf die Membran aus. Für sie gilt:

$$\mathbf{f}_{\text{pol}} = \xi\beta(\mathbf{n} \cdot \mathbf{p})\mathbf{n} \quad (5.15)$$

Zuletzt werden dissipative Kräfte durch  $\xi v$  aufgefangen, wobei  $v$  die lokale Geschwindigkeit der Zellmembran und  $\xi$  ein effektiver Reibungskoeffizient ist. Lokal erhält man damit für die Membran folgenden kinematischen Zusammenhang:

$$\xi\mathbf{v} = \mathbf{f}_{\text{ten}} + \mathbf{f}_{\text{pol}}. \quad (5.16)$$

Wie bereits erwähnt muss die Summe aller Kräfte, die auf das Zytoskelett einwirken, verschwinden, um globales Kräftegleichgewicht zu erreichen. Unter den gemachten Annahmen kann man nur die Zug- und Membrankräfte betrachten, die auf die Aktinfilamente wirken. Für diese gilt

$$\mathbf{F}_{\text{tract}} + \oint d\ell \mathbf{f}_{\text{mem}} = 0, \quad (5.17)$$

wobei die Integration entlang der Membran ausgeführt wird und  $\mathbf{f}_{\text{mem}} = -\mathbf{f}_{\text{pol}} = \mathbf{f}_{\text{ten}} - \xi\mathbf{v}$  gilt. An dieser Stelle soll erwähnt werden, dass Zugkräfte auf die Position der Membran beschränkt sind. Dies lässt sich hauptsächlich darauf zurückführen, dass man keine kontrahierenden Kräfte berücksichtigt, die durch das Wechselspiel von molekularen Motoren mit dem Aktinnetzwerk entstehen [103].



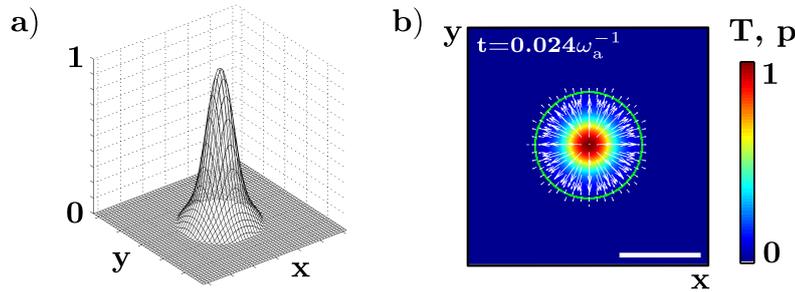
## 6 Bewegungsmuster werden durch spontane Polymerisationswellen erzeugt

In diesem Kapitel untersuchen wir die Gleichungen (5.3) - (5.11) durch numerische Integration in zwei Dimensionen auf einem quadratischen Gitter mit periodischen Randbedingungen. Der in dieser Arbeit verwendete Phasenfeld-Ansatz hat es ermöglicht, meinen numerischen Code bis zu einem hohen Grad zu parallelisieren. Darüber hinaus wurde die Rechenzeit durch die Nutzung von Grafikkarten zur Berechnung um das 100-fache reduziert. Zum Einsatz von Grafikkarten sei an dieser Stelle auf Anhang C verwiesen. Um die Rechenzeit gering zu halten, ist man bei einer numerischen Simulation an einer Diskretisierung des Phasenfeld-Überganges durch möglichst wenige Gitterpunkte interessiert. Zusätzlich muss jedoch bei vorgegebener Diskretisierung auf ein sauber erhaltenes Übergangsprofil zwischen innen und außen geachtet werden.

Als Anfangszustand für die numerischen Simulationen nutzen wir ein quadratisches Gebiet der Fläche  $A_0$ , in dem  $\psi = 1$  gesetzt wird. Außerhalb dieses Gebietes gilt  $\psi = 0$ . Die Anfangsdichte der inaktiven Nukleatoren ist im Bereich mit  $\psi = 1$  homogen verteilt und mit einer zufälligen Störung von 30% versehen. Zur Lösung der Gleichungen wurde eine pseudo-spektrale Methode benutzt. In den folgenden Abschnitten werden die verschiedenen Zustände, die das Zytoskelett-System erzeugen kann, diskutiert.

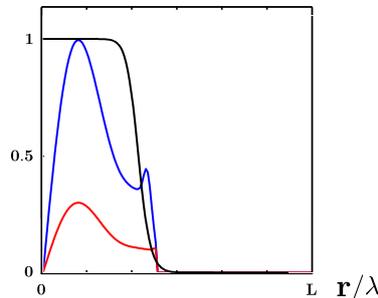
### 6.1 Stationärer Zustand

Abhängig von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  der Filamente und den Raten  $\omega_a$  und  $\omega_d$  der Nukleatoren, werden unterschiedliche Zustände im Zytoskelett-System erreicht. Die einfachste Form ist der stationäre Zustand. Solange die Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  oder die Ablöserate  $\omega_d$  klein genug ist, geht das System in einen kreisförmigen symmetrischen Zustand über. In diesem Fall nimmt die Dichte der Filamente und die Amplitude der zugehörigen Polarisation monoton vom Mittelpunkt der Zelle her ab. Die axialsymmetrische Dichteverteilung ist in Abbildung 6.1 dargestellt. Der Polarisationsvektor zeigt radial nach außen entsprechend einem Punktdefekt der Ladung +1 im Mittelpunkt



**Abbildung 6.1:** Symmetrischer Zustand der Aktin-Verteilung und Polarisation von Lösungen zu den Gleichungen (5.3)-(5.11) für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,12$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 angegeben. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0.19 \lambda$ .

der Zelle. Das Gleiche gilt für die Dichte der aktiven und inaktiven Nukleatoren. Auch sie nehmen monoton von der Mitte nach außen hin ab. In diesem Zustand existiert ein zeitlich konstanter Fluss von Nukleatoren vom Mittelpunkt der Zelle hin zur äußeren Berandung. Der Diffusionsstrom der Aktinfilamente  $T$  und der aktiven Nukleatoren  $n_a$  in Abhängigkeit vom Abstand  $r$  vom Dichtemaximum ist in Abbildung 6.2 gezeigt. Einige der hier gemachten Beobachtungen finden sich auch in den unten diskutierten Lösungen wieder. Dazu zählen z. B. die Lokalisation der Zentren der Punktdefekte des Polarisationsfeldes in der Nähe von Maxima der Dichte der Filamente bzw. der Nukleatoren. Aus den gewählten Parameterwerten lässt sich schließen, dass Terme, die  $\tilde{k}_d$  und  $\tilde{\alpha}$  enthalten, die Dynamik der dimensionslosen Gleichungen (B.1) und (B.2) dominieren. Dies führt dazu, dass  $\tilde{\mathbf{p}} \approx 0$  und  $\tilde{T} \approx \tilde{\alpha} \tilde{n}_a$ . Nimmt man die Terme der nächst höheren Ordnung für die Polarisation  $\mathbf{p}$  hinzu, so sieht man, dass Ableitungen in  $T$  die Quellen der Polarisation  $\mathbf{p}$  sind, was die Existenz topologischer Punktdefekte an den Orten maximaler Dichte in den präsen-

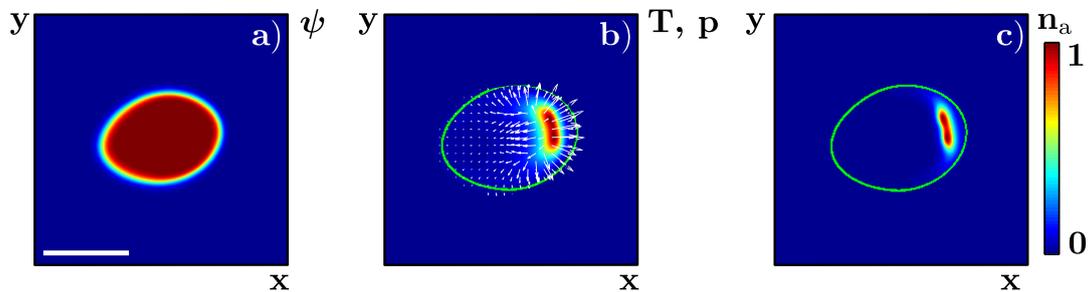


**Abbildung 6.2:** Diffusionsstrom der Aktinfilamente  $T$  (blau) und der aktiven Nukleatoren  $n_a$  (rot) sowie Phasenfeld  $\psi$  (schwarz) in Abhängigkeit vom Abstand  $r$  vom Dichtemaximum im stationären, symmetrischen Zustand für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,12$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 angegeben.

tierten numerischen Lösungen erklärt. Weiterhin sind die Dichteprofile der Filament- und Nukleatorenverteilung im Wesentlichen gleich. Änderungen der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  und/oder der Ablöserate  $\omega_d$  der Nukleatoren führen dazu, dass die Symmetrie des stationären Zustands spontan gebrochen wird. Bei den Bewegungszuständen kann man zwischen gerichtet und ungerichtet bewegten Zuständen differenzieren. Die einzelnen Zustände werden nun präsentiert, bevor Schnitte durch den Phasenraum des Systems gezeigt werden.

## 6.2 Gerichtete Bewegung

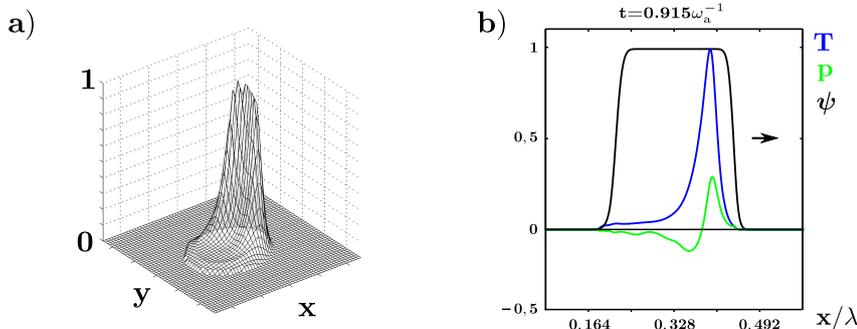
Das System ist für große Werte von  $v_a$  und  $\omega_d$  in der Lage, spontan die Symmetrie des kreisförmigen, stationären Zustands zu brechen. Es entsteht ein Zustand gerichteter Bewegung, der in Abbildung 6.3 gezeigt ist. In diesem Zustand der Bewegung sind sowohl die Nukleatoren als auch die Aktinfilamente am Leitsaum der Zelle lokalisiert. Das Polarisationsfeld hat einen topologischen Defekt am Ort maximaler Aktindichte. Der Polarisationsvektor zeigt an der Vorderflanke der Zelle in Richtung der Bewegung, wohingegen er am rückwärtigen Ende in die entgegengesetzte Richtung gerichtet ist (vgl. Abb. 6.3 und 6.4).



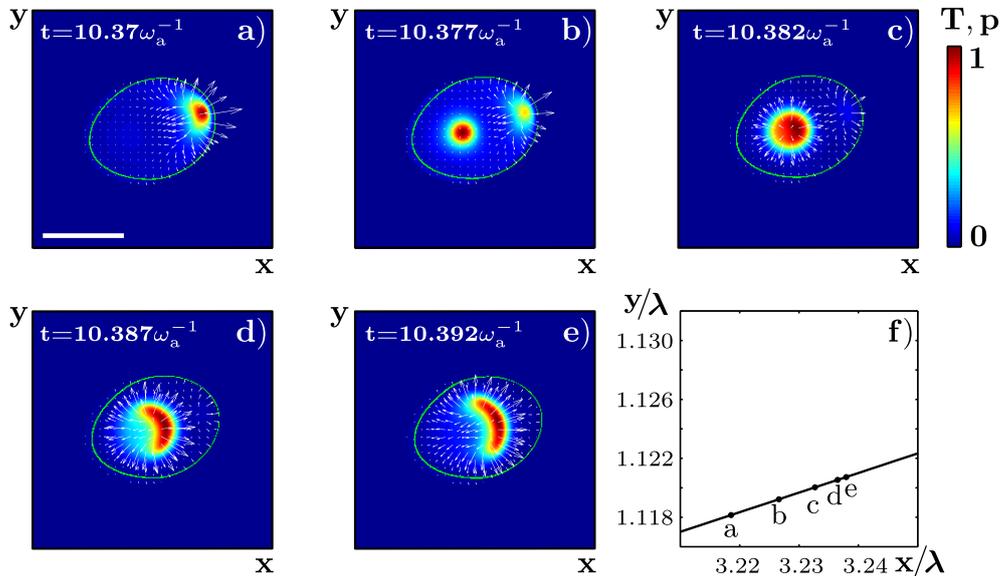
**Abbildung 6.3:** Momentaufnahme eines gerichtet bewegten Zustands (Gleiten) als Lösung der Gleichungen (5.3)-(5.11). a) Phasenfeld  $\psi$ , b) Aktindichte  $T$  und Polarisation  $\mathbf{p}$  (weiße Pfeile) und c) Dichte der aktiven Nukleatoren  $n_a$ . In (b) und (c) markiert die grüne Linie die Lokalisation der Membran entsprechend eines Wertes von  $\psi = 0,05$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 mit  $\tilde{\omega}_d = 0,36$  und  $\tilde{v}_a = 0,39$  angegeben. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Da die Aktindichte eine variierende Anzahl von Maxima hat, kann man konstatieren, dass die Zahl der Punktdefekte des Polarisationsfeldes nicht erhalten ist. An dieser Stelle soll auch festgestellt werden, dass die Felder keine solitären Wellen bilden, sondern sich ständig ändern. Dies steht im Gegensatz zu den Zuständen gerichteter Bewegung, die in [85] untersucht wurden. Im oben beschriebenen Zustand lösen sich die Bereiche, die reich an Nukleatoren sind, periodisch auf und entstehen von Neuem im Innern der Zelle nahe des Mittelpunkts. Von dort aus wandern sie wieder in Richtung der Vorderflanke der Zelle

(vgl. Abb. 6.5). Analog dazu lassen sich die Aktinfilamente beschreiben, die als „Blobs“ vom Zentrum der Zelle hin zur Vorderflanke der Zelle wandern.

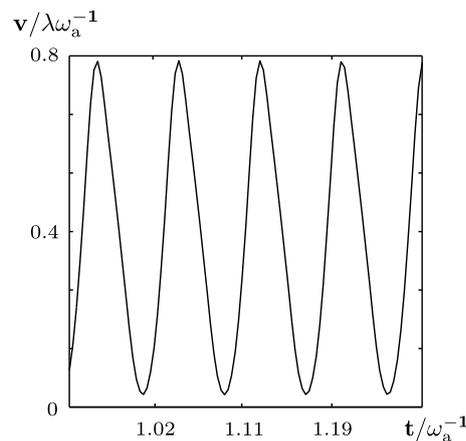


**Abbildung 6.4:** Momentaufnahme von Schnitten eines gerichtet bewegten Zustands (Gleiten) als Lösung der Gleichungen (5.3)-(5.11). a) Aktindichte  $T$ . b) Schnitt entlang der Symmetrieachse. Aktinfilamente  $T$  sind blau und das Phasenfeld  $\psi$  ist schwarz eingefärbt. Die Polarisation (grün) zeigt an der Vorderflanke in Richtung der Bewegung (positiv) und am rückwärtigen Ende in die entgegengesetzte Richtung (negativ). Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.



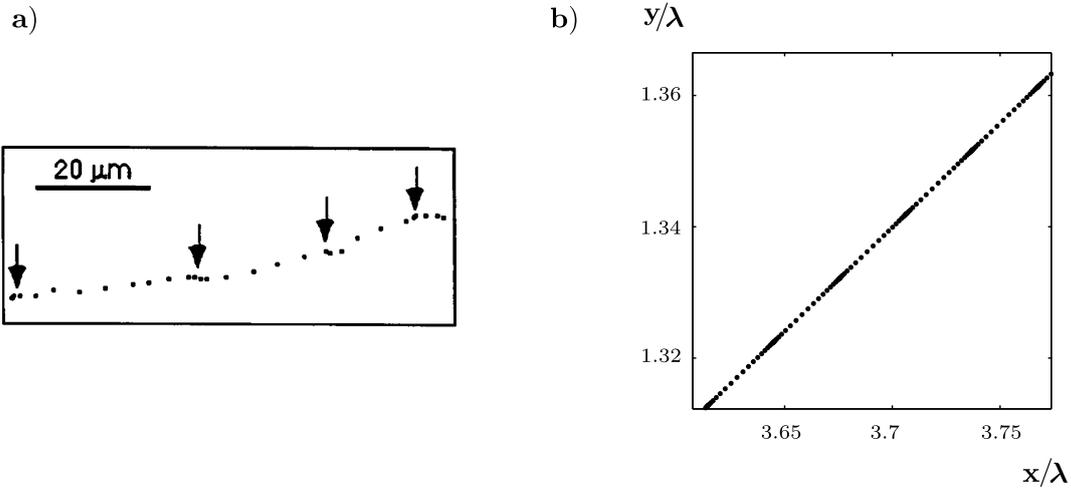
**Abbildung 6.5:** Aktindynamik im gerichteten Bewegungszustand. a)-e) Aufeinanderfolgende Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$  und der Polarisation  $p$  (weiße Pfeile). f) Entsprechende Trajektorie des Phasenfeld-Schwerpunktes. Die Buchstaben markieren die Position der Zelle zu den entsprechenden Zeiten der nebenstehenden Momentaufnahmen (a)-(e). Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Diese periodischen Änderungen in der Dichteverteilung führen unmittelbar zu einer oszillatorischen Änderung der Kraft auf die Zelle. Aus dieser Tatsache ergeben sich stabile periodische Oszillationen in der Fortbewegungsgeschwindigkeit der Zelle, wie in Abbildung 6.6 gezeigt. Solche resultierenden Geschwindigkeitsoszillationen konnten auch in *Dictyostelium discoideum* festgestellt werden [109]. Beobachtungen des Schwerpunktes einer sich bewegenden *Dictyostelium discoideum* Zelle zeigen ein periodisches Verhalten. Wegstrecken persistenter Bewegung werden durch kurze Stopps unterbrochen, an denen sich die Zelle in eine neue Richtung orientiert oder umkehrt. Viele bewegliche Zellen zeigen ein oszillatorisches, periodisches Verhalten. In Abbildung 6.7 ist ein Vergleich zwischen experimentellen und theoretischen Daten dargestellt. Gezeigt wird auf der linken Seite die typische Bewegung des Zellschwerpunktes einer *Dictyostelium discoideum* Zelle. Der zeitliche Abstand zwischen den Messpunkten beträgt 12 s. Die Bewegung stoppt nahezu an Punkten, die mit schwarzen Pfeilen markiert wurden. Auf der rechten Seite ist die Trajektorie des Schwerpunktes von  $\psi$  des in Abbildung 6.3 dargestellten gerichtet bewegten Zustands gezeichnet. Der zeitliche Abstand zwischen zwei Stichproben ist dabei konstant. Periodische Änderungen der Migrationsgeschwindigkeit wurden ebenfalls in Neutrophilen beobachtet [110], allerdings vermutlich als Konsequenz von  $\text{Ca}^{2+}$ -Oszillationen in der Zelle. *Mandeville et al.* fanden einen Zusammenhang zwischen der  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in einzelnen Zellen und deren Geschwindigkeit. Messungen haben ergeben, dass  $\text{Ca}^{2+}$ -Peaks mit einer Zunahme der Bewegungsgeschwindigkeit assoziiert sind, wohingegen geringe  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentrationen zu einer Verringerung der Geschwindigkeit führen.



**Abbildung 6.6:** Absolutwert der Geschwindigkeit der Zelle als Funktion der Zeit. Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

Im beschriebenen Zustand ist die durchschnittliche Geschwindigkeit der Zelle weitgehend unabhängig von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$ . Stattdessen hängt sie empfindlich von der Filament-Nukleationsrate  $\alpha$  und den Aktivierungs- und Deaktivierungsraten  $\omega_a$

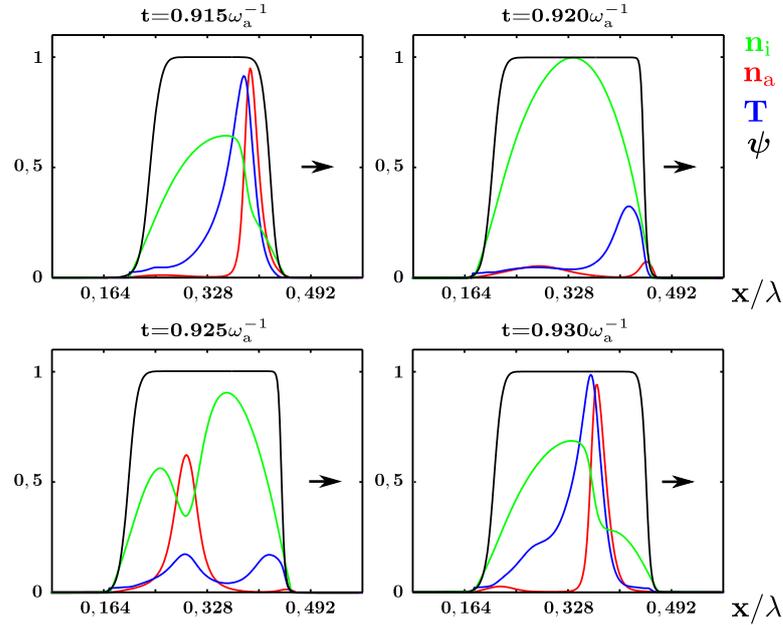


**Abbildung 6.7:** (a) Typische Bewegung des Zellschwerpunktes einer *Dictyostelium discoideum* Zelle. Der zeitliche Abstand zwischen den Messpunkten beträgt 12s. Die schwarzen Pfeile markieren Punkte, an denen die Bewegung nahezu stoppt. Aus [109]. (b) Trajektorie des Schwerpunkts von  $\psi$  eines gerichtet bewegten Zustands (Gleiten) als Lösung der Gleichungen (5.3)-(5.11). Alle Parameterwerte sind wie in Abb. 6.3 angegeben.

bzw.  $\omega_d$  der Nukleatoren ab. Dieses Verhalten kann ausführlich begründet werden, wenn man sich die dimensionslose Form der Gleichungen (5.3) - (5.11) anschaut, die in Anhang B hergeleitet werden. Für die gewählten Parameter werden die Aktindichte  $T$  und die zugehörige Polarisation  $\mathbf{p}$  von der Dichte der aktiven Nukleatoren  $n_a$  dominiert. Diese Eigenschaft legt weiter nahe, dass die genauen Einzelheiten des Polymerisierungsprozesses keine große Bedeutung für das Verhalten des Gesamtsystems haben. Zahlreiche Arbeiten zeigen ebenfalls, dass die spontane Bildung von Wellen unabhängig von der Polymerisierungsdynamik ist [17, 18, 85, 86]. Unterschiedliche Systeme für die Dynamik der Filamente im Zusammenspiel mit Nukleationsproteinen wurden in [15, 19, 93, 94] untersucht. Alle zeigten die Entstehung spontaner Polymerisierungswellen in der Zelle.

Eine weitere Übereinstimmung der experimentellen Daten mit den numerischen Resultaten erhält man, wenn man sich Schnitte durch die zweidimensionalen Dichtefelder von Filamenten  $T$  und aktiven bzw. inaktiven Nukleatoren  $n_a$  und  $n_i$  anschaut. Die räumliche Verteilung zeigt deutlich, dass die Dichte der aktiven Nukleatoren am Leitsaum der Zelle lokalisiert ist, wohingegen sich die Filamentdichte räumlich gesehen daran anschließt. Die experimentellen Daten von *Ryan et al.* haben genau dies belegt (vgl. Abb. 2.22). Momentaufnahmen von Schnitten entlang der Symmetrieachse der in Abbildung 6.3 dargestellten gerichteten Bewegung sind in Abbildung 6.8 gezeigt.

Die Wellengeschwindigkeit wie auch die Migrationsgeschwindigkeit der Zelle werden hauptsächlich durch die Aktivierungs- und Deaktivierungsrate  $\omega_a$  und  $\omega_d$  der Nukleatoren sowie

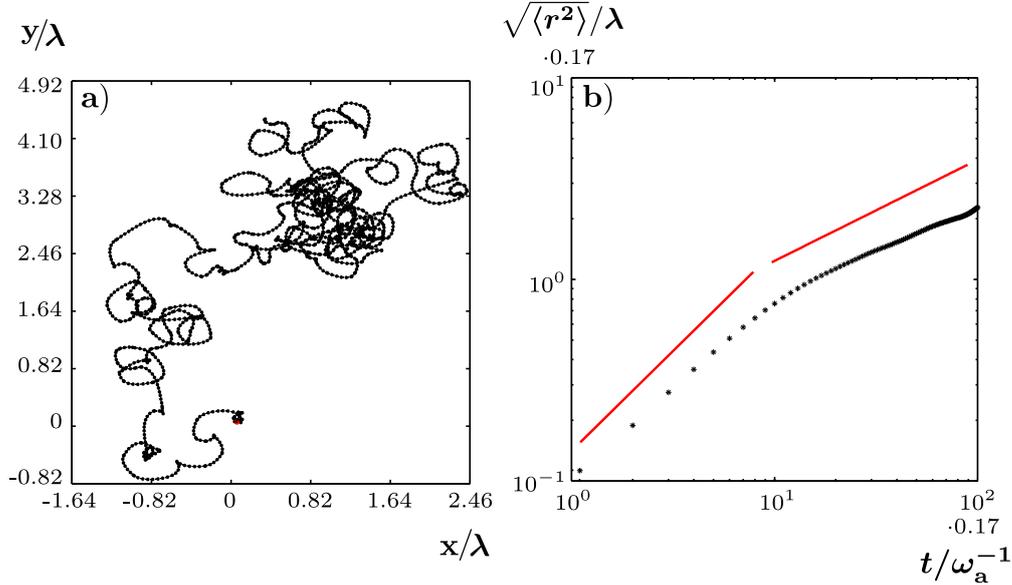


**Abbildung 6.8:** Momentaufnahmen von Schnitten entlang der Symmetrieachse der in Abbildung 6.3 dargestellten gerichteten Bewegung. Aktive Nukleatoren  $n_a$  sind rot, inaktive Nukleatoren  $n_i$  grün, Aktinfilamente  $T$  blau und das Phasenfeld  $\psi$  schwarz eingefärbt. Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

die Nukleationsrate  $\alpha$  der Filamente bestimmt. Beide Geschwindigkeiten sind weitgehend unabhängig von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$ . Dennoch können Änderungen der Polymerisationsgeschwindigkeit zu qualitativen Änderungen in der Art der Zellbewegung führen, die im nachfolgenden Abschnitt erläutert werden.

### 6.3 Irreguläre Bewegung

Verringert man die Polymerisationsgeschwindigkeit der Filamente von  $\tilde{v}_a = 0,39$  auf  $\tilde{v}_a = 0,27$  ändert sich der Zustand des Systems qualitativ. Die Zelle bewegt sich weiterhin, allerdings ist ihre Trajektorie nicht länger gerade. Wie in Abbildung 6.9 zu sehen ist, besteht sie aus kreisförmig gekrümmten Segmenten. Diese werden durch Punkte unterbrochen, an denen sich die Bewegungsrichtung der Zelle diskontinuierlich ändert. An dieser Stelle soll besonders darauf hingewiesen werden, dass die zufällige Bewegung Ergebnis der deterministischen dynamischen Gleichungen (5.3) - (5.11) ohne Hinzufügen von zufällig verteilten Störungen ist.

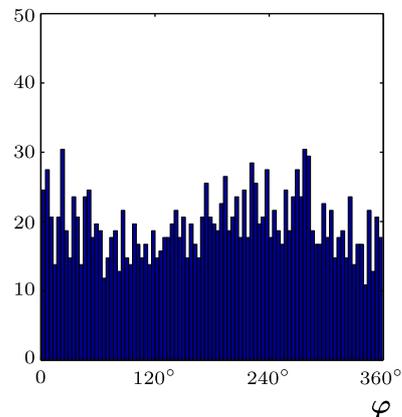


**Abbildung 6.9:** Irreguläre Bewegung als Lösung der Gleichungen (5.3)-(5.11). a) Trajektorie des Schwerpunkts von  $\psi$  in einem Zeitintervall von  $300 \omega_a^{-1}$ . b) Wurzel aus der mittleren quadratischen Verschiebung der Trajektorie aus (a). Die roten Linien entsprechen Steigungen von 1 und  $1/2$ . Der Wert der Polymerisationsgeschwindigkeit ist  $\tilde{v}_a = 0,27$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

Die Trajektorie der Bewegung kann durch Berechnung der Wurzel der mittleren quadratischen Verschiebung (RMSD) über die Beziehung

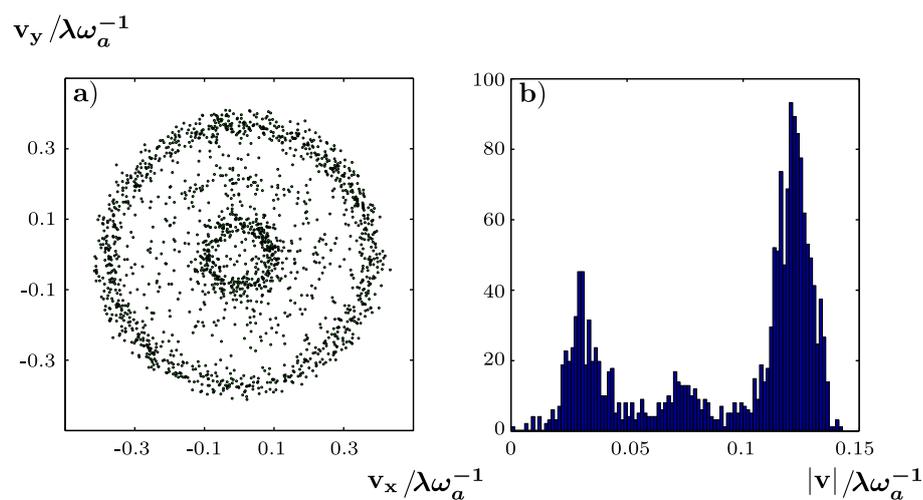
$$\sqrt{\langle r^2(t) \rangle} = \left( \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \cdot \int_0^T |\mathbf{r}(t' + t) - \mathbf{r}(t')|^2 dt' \right)^{1/2} \quad (6.1)$$

näher charakterisiert werden (vgl. Abb. 6.9 (b)). Auf einer kurzen Zeitskala von  $t \lesssim 1,7 \omega_a^{-1}$  wächst die RMSD linear in der Zeit. Danach gibt es einen Übergang hin zu einem Bereich, in dem die RMSD mit einem Exponenten nahe bei aber etwas kleiner als  $1/2$  wächst. Die Abweichung von  $1/2$  könnte aufgrund der endlichen Größe („*finite-size*“-Effekt) entstehen. Wir können schließen, dass die Bewegung innerhalb der numerischen Genauigkeit der Berechnungen in diesem Zustand subdiffusiv ist und als *Random Walk* beschrieben werden kann. Unterstützt wird dies weiterhin durch die Geschwindigkeits-Autokorrelationsfunktion, die schnell abfällt. Außerdem sind die Krümmungsrichtungen der Kreissegmente der Trajektorie gleichwahrscheinlich verteilt. Dadurch dass weder die eine noch die andere Krümmungsrichtung bevorzugt wird, ist der *Random Walk* unverzerrt. Die Verteilung der Winkel zwischen Tangentenvektoren an die Trajektorie der Bewegung und der x-Achse sind in Abbildung 6.10 dargestellt. Eine Vorzugsrichtung lässt sich daraus nicht erkennen, womit die Bewegung isotrop ist.



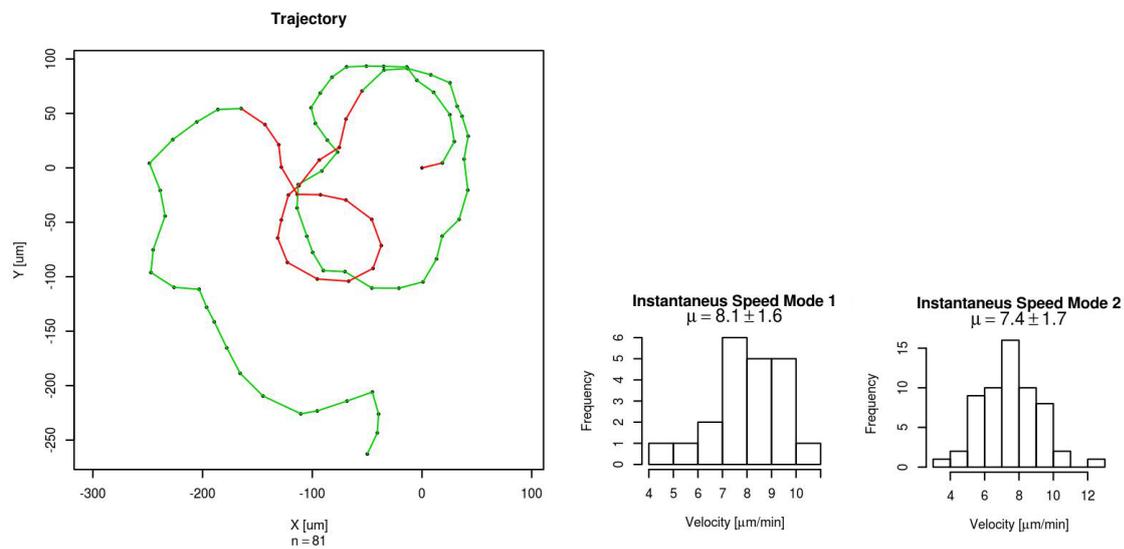
**Abbildung 6.10:** Verteilung der Winkel  $\varphi$  zwischen Tangentenvektoren an die Trajektorie der irregulären Bewegung aus Abb. 6.9 und der x-Achse.

Zur weiteren Analyse wollen wir uns die Verteilung der Geschwindigkeiten zur irregulären Bewegungstrajektorie aus Abbildung 6.9 näher anschauen. Trägt man die Geschwindigkeitsvektoren in einem Graphen auf, so lassen sich zwei Regime der Bewegung identifizieren. Die Zelle bewegt sich auf den Kreissegmenten mit einer Geschwindigkeit von im Mittel  $0,12 \lambda \omega_a^{-1}$ , wohingegen sie in den Punkten, in denen sie die Bewegungsrichtung ändert, nur eine Propagationsgeschwindigkeit von im Mittel  $0,03 \lambda \omega_a^{-1}$  erreicht. Ein Polardiagramm der Geschwindigkeitsvektoren sowie ein Histogramm der Beträge der isotropen Vektoren sind in Abbildung 6.11 dargestellt.



**Abbildung 6.11:** Polardiagramm und Verteilung der Geschwindigkeitsvektoren zur Trajektorie der irregulären Bewegung aus Abb. 6.9. a) Auftragung nach Betrag und Richtung. b) Histogramm der Beträge der Geschwindigkeitsvektoren.

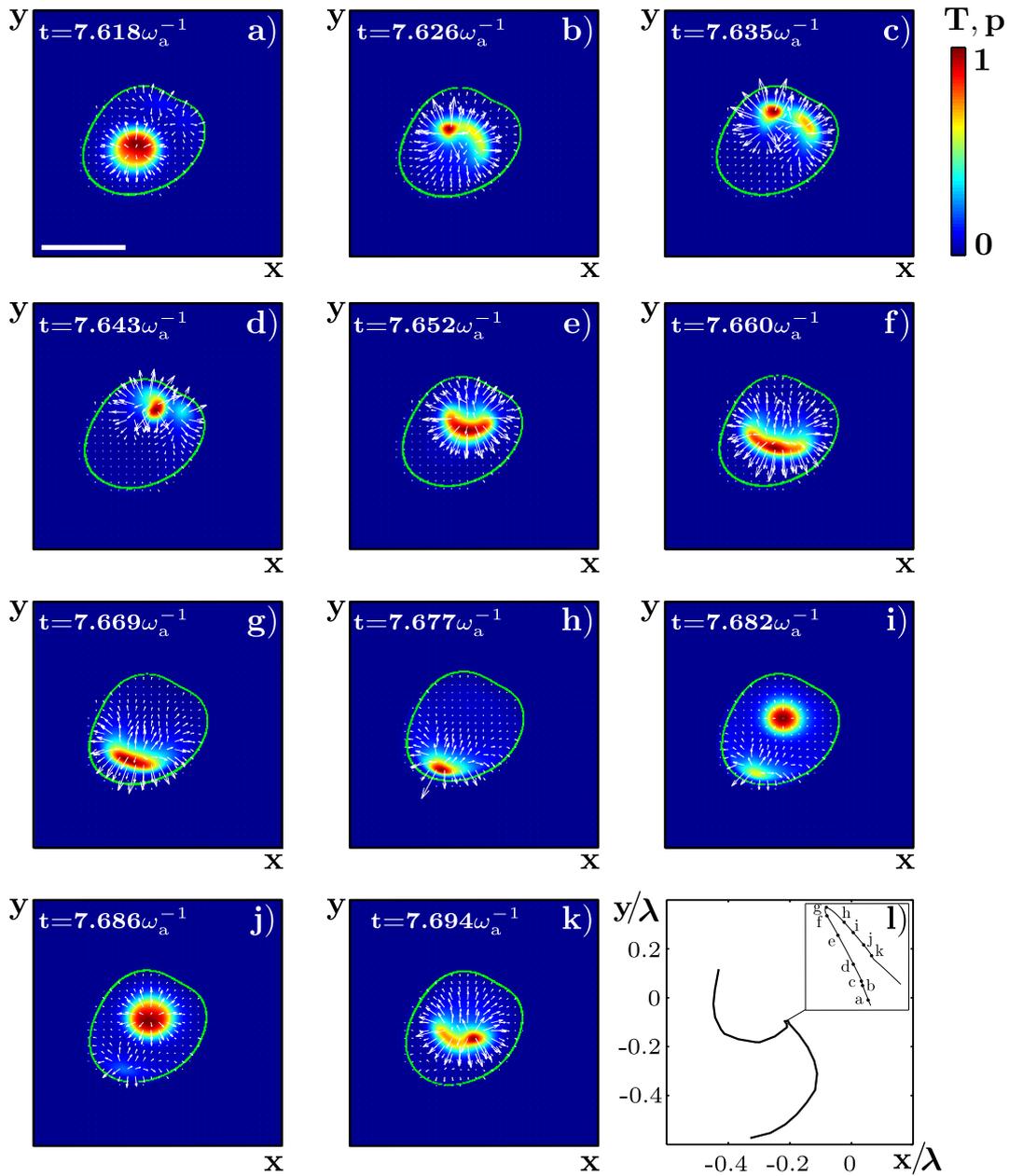
Bemerkenswerterweise stehen diese Ergebnisse im Einklang mit experimentellen Beobachtungen an dendritischen Zellen. Dendritische Zellen sind spezielle Zellen des Immunsystems. Sie sind beispielsweise in der Lage bakterielle Antigene aufzunehmen und eine primäre Immunantwort zu induzieren, indem sie T-Lymphozyten ihre Antigene präsentieren und auf diese Weise aktivieren. Die Trajektorie einer dendritischen Zelle ist in Abbildung 6.12 dargestellt. Die Bewegung erfolgt auf irregulären kreisförmigen Bahnen. Die kreisförmigen Anteile können geschlossen oder segmentförmig sein. Insbesondere lassen sich auch hier zwei Regime der Bewegung ausmachen, die jeweils mit einer entsprechenden Geschwindigkeit korrespondieren.



**Abbildung 6.12:** Bewegungstrajektorie einer dendritischen Zelle auf Fibronectin zwischen zwei Platten im Abstand von  $3 \mu m$  und Histogramm der Geschwindigkeiten. Aufnahmeintervall  $\Delta t = 3min$  [111].

Um ein besseres Verständnis der Prozesse zu erhalten, die zur Bildung eines irregulär bewegten Zustandes beitragen, betrachten wir nun die Aktindichte-Verteilung  $T$  im Übergangsbereich zwischen zwei unterschiedlich gekrümmten Segmenten der Bewegungstrajektorie. In Abbildung 6.13 erkennt man, dass sich das Dichtefeld der Filamente jeweils wieder auf einen Bruchteil der ganzen Zelle verdichtet. Im Gegensatz zu den Aktin-„Blobs“ im sich gerichtet bewegenden Zustand fehlt hier jedoch eine laterale Symmetrie. Stattdessen bewegen sich die Dichtefelder spiralförmig entlang der Membran, was zu den gekrümmten Segmentanteilen der Trajektorie in Abbildung 6.9 führt. Ähnlich zu dem in Abschnitt 6.2 beschriebenen Zustand lösen sich die Dichtefelder auf und es entstehen neue „Blobs“ im Zentrum der Zelle, die sich dann wieder zu einer spiralförmigen Bewegung zusammensetzen. Ein Zusammenhang zwischen der Orientierung zweier aufeinanderfolgender Spiralwellen konnte nicht festgestellt werden. Folglich kann sich die Richtung der Bewegung diskontinuierlich ändern. Wie in Abbildung 6.13 (b),(c) zu sehen ist, können die „Blobs“ in zwei oder mehrere Anteile aufbrechen. Dieses zusätzliche Merkmal der Dynamik führt typischerweise zu Änderungen im Krümmungsradius der gekrümmten Segmente der Trajektorie.

Die Aktin-„Blobs“ können sich zu Spiralwellen entwickeln, wenn die Fläche  $A_0$  der Zelle ausreichend groß ist. Daher ist zu vermuten, dass die irreguläre Bewegung aus einer intrinsischen und nicht-trivialen Dynamik der Spiralwellen resultiert. Eine solche nicht-triviale Dynamik ist bereits von anregbaren Systemen mit verzögerter Hemmstoff-Produktion [112] oder mehr als zwei Komponenten [113] und von oszillatorischen Medien [114, 115] bekannt.

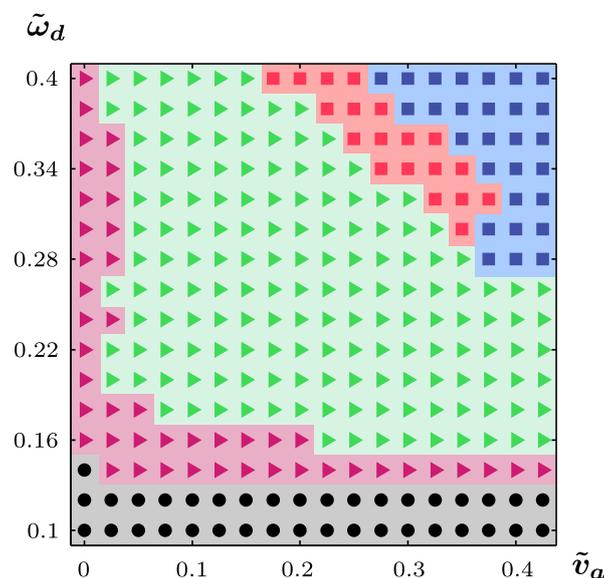


**Abbildung 6.13:** Detailansicht eines Richtungswechsels in der Bewegungstrajektorie aus Abb. 6.9. a)-k) Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$  und der Polarisation  $p$ . l) Die entsprechenden Punkte in der Trajektorie des Schwerpunktes des Phasenfeldes  $\psi$ . Einsatz: Vergrößerung eines Teils der Trajektorie. Die Buchstaben markieren die Position der Zelle zu den entsprechenden Zeiten der nebenstehenden Momentaufnahmen (a)-(k). Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

## 6.4 Überblick über die Bewegungsmuster

In diesem Abschnitt soll der Phasenraum des Systems in Bezug auf zwei wichtige Parameter angeschaut werden, um ein systematisches Verständnis der auftretenden Zustände zu erhalten. Indem wir die Parameterwerte für die Deaktivierungsrate  $\omega_d$  der Nukleatoren und die Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  der Aktinfilamente variieren, sind wir in der Lage, ein Bild der entsprechenden Schnitte durch den Phasenraum zu zeichnen.

In Abbildung 6.14 sind die Zustände des Systems in Bezug auf die Aktindynamik im Innern der Zelle klassifiziert. Wie bereits in den vorherigen Abschnitten erläutert, kann die Aktin-



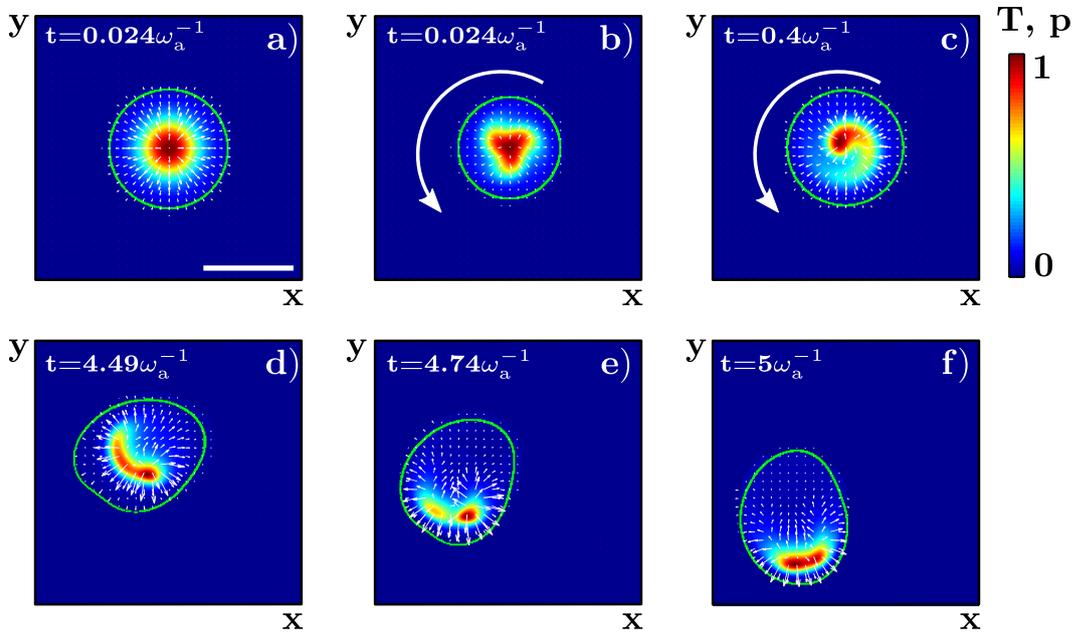
**Abbildung 6.14:** Phasenraum zu den Gleichungen (5.3) und (5.8)-(5.11) bezogen auf die Aktindynamik als Funktion der dimensionslosen Ablöserate der Nukleatoren  $\tilde{\omega}_d$  und der dimensionslosen Polymerisationsgeschwindigkeit der Aktinfilamente  $\tilde{v}_a$ . Punkte: axialsymmetrische, stationäre Zustände; Quadrate: periodisch entstehende und verschwindende „Blobs“ mit (blau) und ohne (rot) axiale Symmetrie; Dreiecke: stabile (magenta) und instabile (grün) Spiraldynamik. Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

Verteilung stationär oder axialsymmetrisch sein, sie kann sich in Spiralen organisieren oder Aktin-„Blobs“ hoher Dichte bilden, die ständig entstehen und wieder verschwinden.

Bei den Zuständen, in denen die Aktinfilamente Spiralwellen bilden, kann man erneut zwei Klassen unterscheiden: stabile und instabile Spiralen. Die Einteilung in eine der beiden Klassen erfolgt über das Verhalten der Spiralen. Stabile Spiralen haben einen festgelegten Rotationssinn, wohingegen instabile Spiralen unablässig aufbrechen, verschwinden und an anderer Stelle abermals durch erneute Nukleation von Aktinfilamenten entstehen. Zwei

Beispiele der unterschiedlichen Formen stabiler Spirale sind in den Abbildungen 6.15 (b),(c) dargestellt.

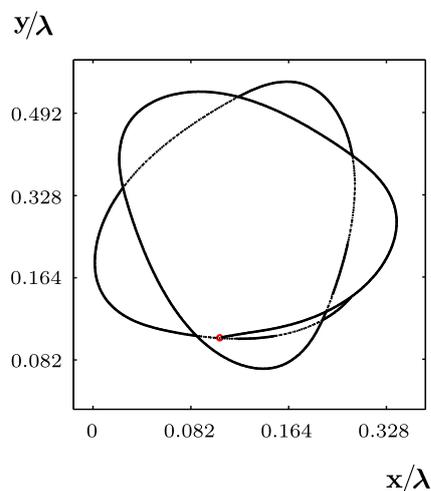
Die Aktin-„Blobs“ können entweder axialsymmetrisch organisiert sein, wie in Abschnitt 6.2 beschrieben, oder nicht. Im asymmetrischen Zustand spiralisiert die Aktindichte entlang der Zellmembran. Diese Bewegung ist in den Abbildungen 6.15 (d)-(f) verdeutlicht. Das Erscheinen und Verschwinden der Aktin-„Blobs“ ist nicht nur im axialsymmetrischen Zustand periodisch in der Zeit, sondern offensichtlich auch im allgemeinen Fall. Ob der Übergang von Aktin-Spiralen zu Aktin-„Blobs“, die sich entlang der Membran bewegen, eine Bifurkation oder einen kontinuierlichen Übergang darstellt, kann aus den numerischen Simulationen nicht eindeutig geschlossen werden.



**Abbildung 6.15:** Aktinverteilung und Polarisation der Lösungen zu Gleichungen (5.3)-(5.11) für unterschiedliche Werte von  $\tilde{v}_a$  und  $\tilde{\omega}_d$ . a) Axialsymmetrischer Zustand für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,12$ . b) Stabile rotierende Verteilung für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,14$ . c) Stabile Spiralen für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,16$ . Die großen weißen Pfeile zeigen die Rotationsrichtung an. d-f) Aufeinanderfolgende Momentaufnahmen eines unsymmetrischen Aktin-„Blobs“ für  $\tilde{v}_a = 0,24$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,38$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Wie die Simulationen gezeigt haben, korrespondieren die verschiedenen Zustände der internen Aktin-Dynamik jeweils mit unterschiedlichen Bewegungsmustern der Zelle. Dieser Zusammenhang soll nachfolgend erläutert werden. Der Schwerpunkt der Zelle, der für die Berechnung der Trajektorien der Bewegung verwendet wird, berechnet sich jeweils aus dem Phasenfeld  $\psi$  über die Beziehung  $\mathbf{r}_s = \int d^2\mathbf{r} \mathbf{r} \psi(\mathbf{r}) / \int d^2\mathbf{r} \psi(\mathbf{r})$ . Im stationären, symmetrischen Zustand bewegt sich der Schwerpunkt offensichtlich nicht. Auch im Fall der Ausbildung stabiler rotierender Spiralen bewegt sich der Schwerpunkt der Zelle nicht.

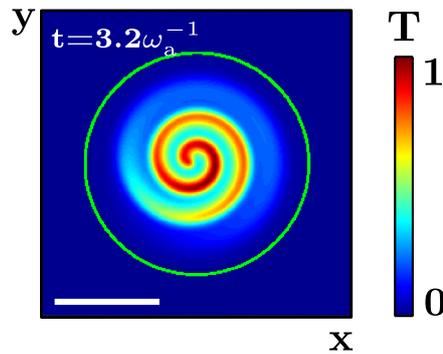
Im Bereich der instabilen Spiralen werden irreguläre Bewegungsmuster erzeugt, wie in Abschnitt 6.3 beschrieben. Bewegt man sich von der Stabilitätsgrenze der Spiralen weg, nimmt die zugehörige effektive Diffusionskonstante zu. Für instabile Aktin-„Blobs“ werden erneut regelmäßigeren Orbits erzeugt. Der Schwerpunkt der Zelle bewegt sich auf Bahnen, die an Lissajous-Figuren erinnern. Ein Beispiel für diesen Bereich des Phasenraums ist in Abbildung 6.16 dargestellt. Nähert sich die Periode für ein Umkreisen entlang dem Umfang der Zelle der Lebenszeit eines Aktin-„Blobs“ an, geht die Form der Trajektorie in einen Kreis über. Letztlich sind die Zustände mit axialsymmetrischen Aktin-„Blobs“, die für große Werte von  $v_a$  und  $\omega_d$  erreicht werden, mit einer gerichteten Zellbewegung verknüpft. Dieser Zustand wurde bereits ausführlich in Abschnitt 6.2 behandelt.



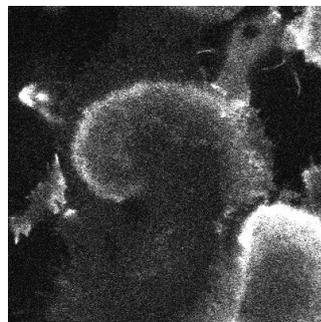
**Abbildung 6.16:** Entsprechende Trajektorie des Schwerpunkts der Zelle. Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

Zur vollständigen Analyse des Systems werden nachfolgend die Einflüsse der übrigen, wichtigen Parameter auf die erzeugten Zustände diskutiert. Die Abhängigkeit von der Aktivierungsrate  $\omega_a$  der Nukleatoren und der Nukleationsrate  $\alpha$  der Aktinfilamente ist ähnlich zu den oben beschriebenen Abhängigkeiten von der Deaktivierungsrate  $\omega_d$  und der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$ . Da die Dichteverteilung der Aktinfilamente jener der aktiven Nukleatoren dicht folgt, haben Änderungen im Wert von  $\alpha$  ähnliche Auswirkungen auf die Dynamik des Systems wie Veränderungen in  $\omega_d$ . Wie man an den dynamischen Gleichungen (5.8) - (5.11) sieht, taucht in den Gleichungen der Nukleatoren-Dynamik stets das Produkt  $\omega_d T$  auf und es gilt weiter  $T \propto \alpha$ . Im Gegensatz dazu führt eine Erhöhung des Wertes von  $\omega_a$  zu ebensolchen Effekten, die auch durch eine Erniedrigung des Wertes von  $\omega_d$  erreicht werden können.

Die beschriebene Dynamik der Zelle hängt weiter von der Größe, respektive der Fläche  $A_0$  der Zelle ab. Unter einem kritischen Wert für  $A_0$ , der von der Wahl der übrigen Parameter abhängt, bleibt die Zelle immobil und geht in einen stationären Zustand über. Überschreitet die Zellfläche diesen kritischen Wert, geht sie zunächst in einen dynamischen Zustand zufälliger Bewegung über. Sie kann auch abhängig von der Parameterwahl einen Zustand mit festem Schwerpunkt aber periodischen Fluktuationen in der Ausdehnung der Zellmembran annehmen. Bei weiterer Vergrößerung der Zelle entstehen Aktin-„Blobs“ und das System geht in den Zustand gerichteter Bewegung über. Interessanterweise wird der Schwerpunkt der Zelle für sehr große Flächen  $A_0$  wieder ortsfest und im Inneren bildet die Aktindichte eine gut entwickelte Spirale aus, die in Abbildung 6.17 zu sehen ist. Diese ist qualitativ mit Spiralen von F-Aktin zu vergleichen, die in *Dictyostelium discoideum* Zellen fluoreszenzmikroskopisch aufgenommen wurden (vgl. Abb. 6.18) [116].

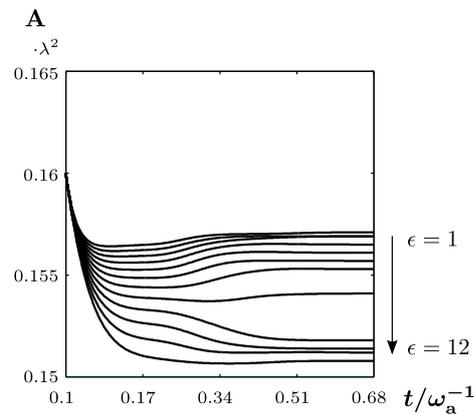


**Abbildung 6.17:** Spirallösung bei Zellfläche  $A_0\lambda^{-2} = 0,06$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B mit  $\tilde{v}_a = 0,4$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,36$  angegeben.

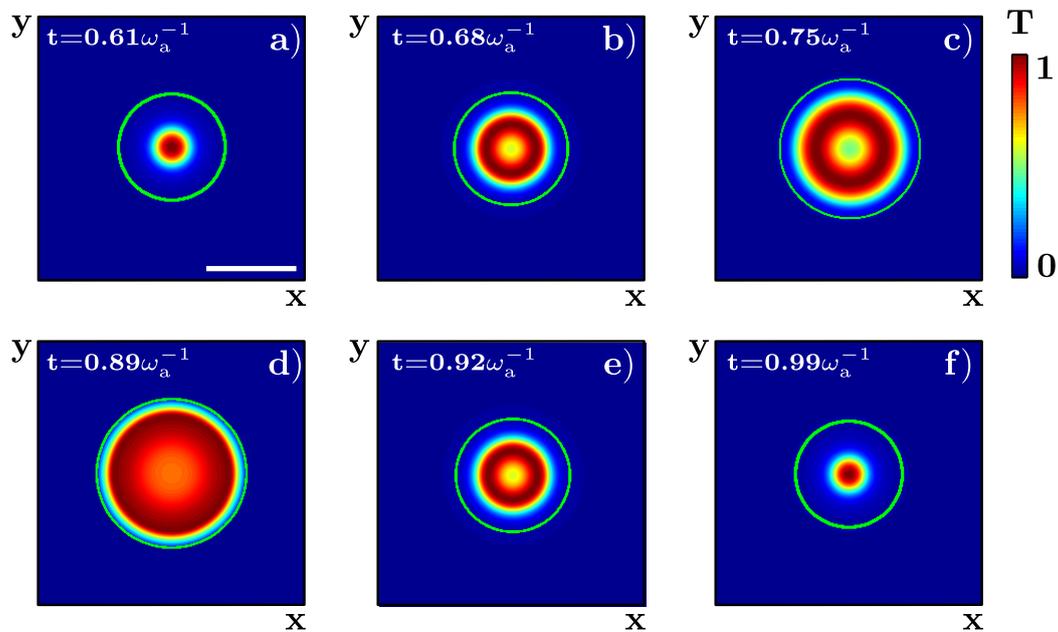


**Abbildung 6.18:** Spiralwelle in einer *Dictyostelium discoideum* Zelle. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme, in der LimE, ein Protein, das an F-Aktin bindet, markiert wurde [116].

Schließlich beeinflusst auch der Parameter  $\epsilon$  die Zellfläche. Die Zeitentwicklung der Zellfläche  $A$  in Abhängigkeit von  $\epsilon$  ist in Abbildung 6.19 dargestellt. Je kleiner der Wert von  $\epsilon$  gewählt wird, umso stärker nehmen die Fluktuationen der Fläche um  $A_0$  zu. Unter einem kritischen Wert von  $\epsilon$  ist die kreisförmige Form der Zelle stabil. In diesem Fall ändert sich die Zellfläche  $A_0$  periodisch entsprechend einem „*breather*“-Zustand des Aktin-Zytoskeletts, wie bspw. in [27] beschrieben. Momentaufnahmen eines solchen Zustandes sind in Abbildung 6.19 dargestellt.

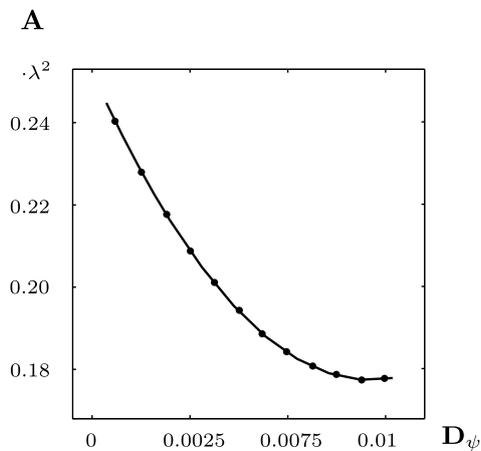


**Abbildung 6.19:** Abhängigkeit der Fläche  $A$  der Zelle vom Parameter  $\epsilon$  für  $\tilde{v}_a = 0,15$  und  $\tilde{\omega}_d = 0,12$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 angegeben.



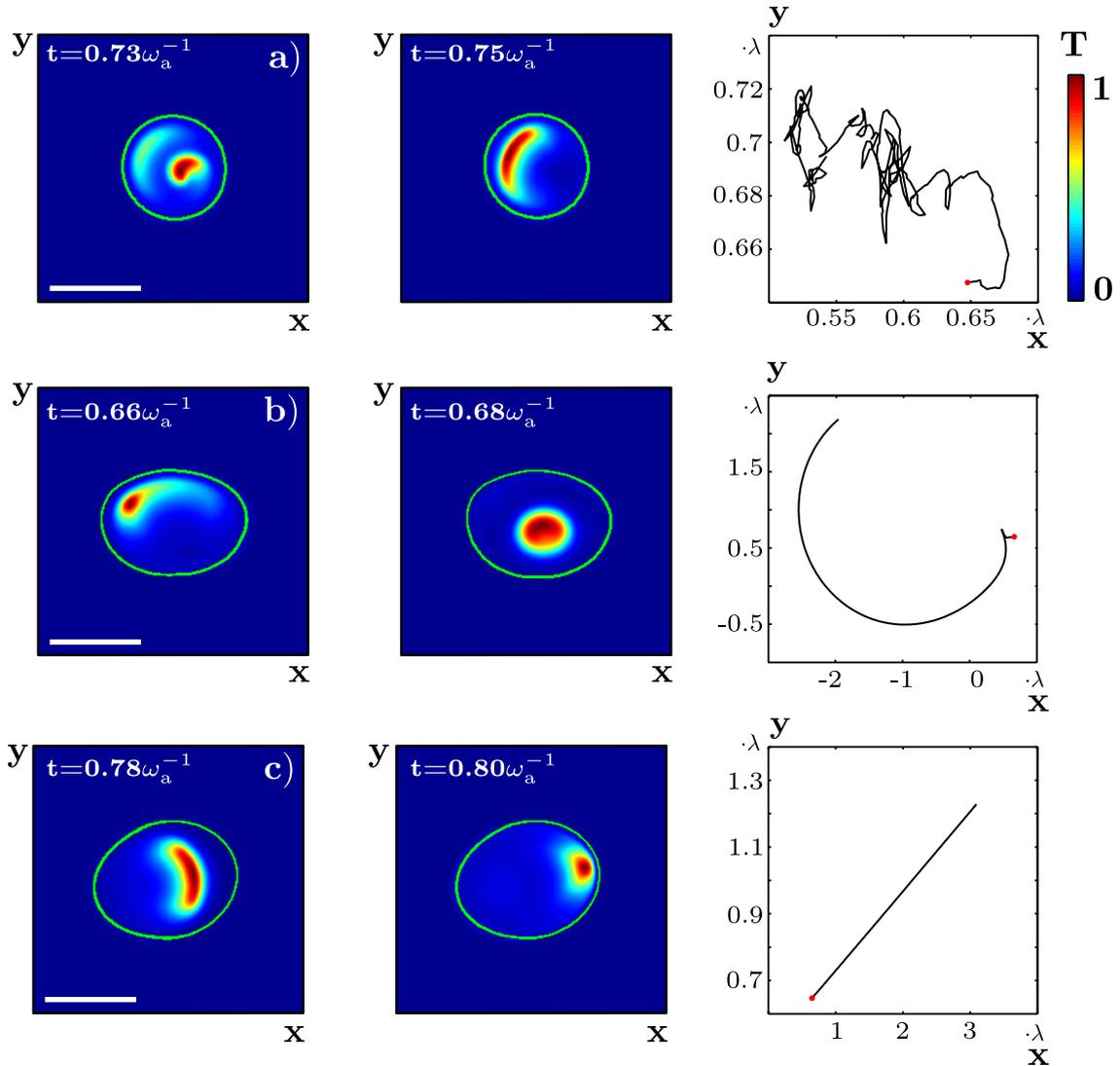
**Abbildung 6.20:** *Breather*-Zustand. Momentaufnahmen der Aktindichte für  $\epsilon = 0,5$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Darüber hinaus beeinflussen auch die zum Phasenfeld  $\psi$  gehörigen Parameter die vom System erzeugten Zustände. Wie bereits in Kapitel 5 erklärt, kann die Breite des Bereiches zwischen innen und außen über den Diffusionskoeffizienten  $D_\psi$  reguliert werden. Für Werte  $D_\psi \rightarrow 0$  erreicht das Phasenfeld den „*sharp-interface*“-Limes. Durch Erhöhung des Wertes von  $D_\psi$  wird eine Ausschmierung des Zellrandes erreicht, die als Konsequenz auch eine Verkleinerung der Zellfläche mit sich bringt. Für die Parameterwerte aus Tabelle B.1 führt ein Anstieg in  $D_\psi$  von 0,0005 auf 0,01 zu einer Abnahme der Fläche von 0,24  $\lambda^2$  auf 0,17  $\lambda^2$  (vgl. Abb. 6.21).



**Abbildung 6.21:** Zellfläche als Funktion von  $D_\psi$ . Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt.

Naheliegender ist auch ein erheblicher Einfluss des Kopplungsparameters  $\beta$  der Aktindynamik an das Phasenfeld  $\psi$  auf das Verhalten des Systems. Er beschreibt die Wechselwirkung zwischen den Aktinfilamenten im Inneren und der Zellmembran. Änderungen in  $\beta$  führen abhängig von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  zu Änderungen des Zustands des Systems. Ähnlich wie durch Variation in den Werten der Aktivierungsrate  $\omega_a$  der Nukleatoren und der Nukleationsrate  $\alpha$  der Aktinfilamente können alle oben beschriebenen Zustände des Phasenraumes erzeugt werden. Eine Erhöhung des Wertes von  $\beta$  generiert die gleiche Folge von Zuständen, die auch durch eine gleichzeitige Erhöhung von  $v_a$  und  $\omega_d$  erreicht werden kann. Die für kleine Werte von  $\beta$  entstehenden instabilen Spirallösungen gehen zunächst in periodisch erscheinende und wieder verschwindende Aktin-„Blobs“ über, die erst unsymmetrisch sind, für große Werte von  $\beta$  allerdings eine axiale Symmetrie aufweisen und zu einer gerichteten Bewegung der Zelle führen (vgl. Abb. 6.22).



**Abbildung 6.22:** Aktinverteilung der Lösungen zu Gleichungen (5.3)-(5.11) für unterschiedliche Werte von  $\tilde{\beta}$ . a) Aufeinanderfolgende Momentaufnahmen einer instabilen Spirale und zugehörige Trajektorie für  $\tilde{\beta} = 8 \cdot 10^{-4}$ . b) Aufeinanderfolgende Momentaufnahmen eines unsymmetrischen Aktin-„Blobs“ und zugehörige Trajektorie für  $\tilde{\beta} = 4 \cdot 10^{-3}$ . c) Aufeinanderfolgende Momentaufnahmen eines symmetrischen Aktin-„Blobs“ und zugehörige Trajektorie für  $\tilde{\beta} = 8 \cdot 10^{-3}$ . Die Trajektorien wurden mit Hilfe des Schwerpunkts von  $\psi$  in einem Zeitintervall von  $9 \omega_a^{-1}$  berechnet. Alle anderen Parameter sind wie in Abb. 6.3 gewählt. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .



## 7 Zellen bewegen sich auf strukturierten Oberflächen

Die meisten lebenden Zellen bewegen sich in dreidimensionalen, strukturierten Umgebungen. Damit ihre Bewegung in diesen Umgebungen geleitet werden kann, sind sie auf äußere Signale wie mechanische Eigenschaften oder topographische Strukturen angewiesen. Sie sind in der Lage sowohl auf Reize mechanischer wie auch chemischer Art zu reagieren. Dazu empfangen sie Informationen aus ihrer Umgebung und verarbeiten diese weiter. T-Zellen, hochspezialisierte Killerzellen im menschlichen Immunsystem, spielen eine wichtige Rolle bei der Vernichtung von Bakterien und Viren, aber auch im Kampf gegen Krebs. Sie gehen gezielt auf die Jagd nach einem speziellen Zelltyp. Sobald sie mit ihrem Ziel in Kontakt kommen, zerstören sie es, indem sie die Zellwand ihres Opfers perforieren. Wie diese Zellen dabei Signale ihrer Außenwelt wahrnehmen, intern verarbeiten und in gerichtete Bewegung übersetzen, ist weitgehend unerforscht.

Externe Stimuli verursachen eine Polarisierung der Zelle durch die Umordnung ihres Zytoskeletts. Wie genau das Zytoskelett auf äußere Reize reagiert, wie es an der Signalverarbeitung partizipiert und wie Informationen über Umgebungsbedingungen gesammelt werden, ist noch wenig verstanden. In diesem Kapitel wird die Wechselwirkung einer Zelle mit einer strukturierten Oberfläche untersucht. Alle in diesem Kapitel gezeigten experimentellen Untersuchungen wurden von Doris Heinrich, vorher LMU München, heute Leiden University Netherlands durchgeführt.

### 7.1 Die Topographie der Oberfläche wird durch ein Phasenfeld repräsentiert

Stellt man sich die Oberfläche als zweidimensionale Struktur vor, lässt sich ihre Geometrie mit Hilfe eines Phasenfeldes  $\Psi$  abbilden, das einer Potentiallandschaft entspricht. Die Strukturen auf der Oberfläche definieren dabei Hindernisse, welche die Bewegung der Zelle einschränken. Gebiete, in denen sich die Zelle frei bewegen kann, entsprechen einem Wert von  $\Psi = 0$ . Aus dem Potential lässt sich eine Kraft ableiten, welche die Aktinfilamente von den Hindernissen wegdrückt.

In den Gleichungen für die Zeitentwicklung der Filamente und der Nukleatoren wird ein zusätzlicher konvektiver Term eingefügt, der den Einfluss der topographischen Struktur auf die Zelle berücksichtigt. Für die dynamischen Gleichungen ergibt sich die Form:

$$\partial_t T = D\Delta T - k_d\psi T - v_a\psi\nabla \cdot \mathbf{p} + \alpha\psi n_a - \eta_T\nabla \cdot (T\nabla\Psi) \quad (7.1)$$

$$\partial_t \mathbf{p} = D\Delta\mathbf{p} - k_d\psi\mathbf{p} - v_a\psi\nabla T \quad (7.2)$$

$$\partial_t n_a = D_a\Delta n_a + \omega_a\psi(1 + \omega_1 n_a^2)n_i - \omega_d\psi T n_a - \eta_{na}\nabla \cdot (n_a\nabla\Psi) \quad (7.3)$$

$$\partial_t n_i = D_i\Delta n_i - \omega_a\psi(1 + \omega_1 n_a^2)n_i + \omega_d\psi T n_a - \eta_{ni}\nabla \cdot (n_i\nabla\Psi) \quad , \quad (7.4)$$

wobei  $\eta_T$ ,  $\eta_{na}$  und  $\eta_{ni}$  effektive Mobilitätskonstanten bezeichnen. Der letzte Term in Gleichungen (7.1), (7.3) und (7.4) beschreibt die Wechselwirkung der Hindernisse mit den Aktinfilamenten und den Nukleationsproteinen. Wir nehmen an, dass die Kraft  $\mathbf{f}$ , die von den Hindernissen ausgeübt wird, durch eine effektive Reibungskraft der Filamente bzw. Nukleatoren ausgeglichen wird, die proportional zu den entsprechenden Geschwindigkeiten von Filamenten bzw. Nukleatoren ist. Damit lässt sich der resultierende Fluss als  $\eta\mathbf{f}T$ ,  $\eta\mathbf{f}n_a$  bzw.  $\eta\mathbf{f}n_i$ , schreiben.

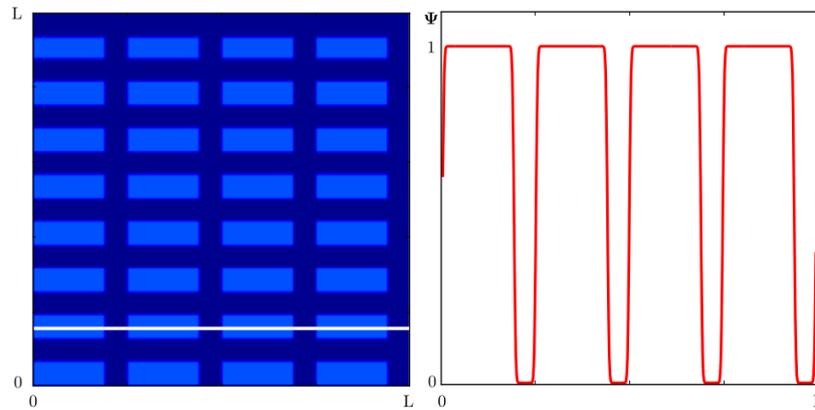
Die Kraftdichte  $\mathbf{f}$  lässt sich unmittelbar bestimmen, was anhand der Gleichung für die Filamente gezeigt werden soll. Wir gehen davon aus, dass die Wechselwirkung zwischen Filamenten und den Hindernissen durch ein Potential  $V$  beschrieben werden kann, das gerade dem Phasenfeld  $\Psi$  entspricht. Die Stärke der Wechselwirkung hängt folglich vom Abstand  $d$  der Plus-Enden der Filamente von den Hindernissen ab. Die Kraft auf die Filamente ergibt sich damit zu

$$\mathbf{f} = -\hat{\mathbf{u}}(\hat{\mathbf{u}} \cdot \mathbf{n})V'(d) = -\hat{\mathbf{u}}(\hat{\mathbf{u}}\nabla\Psi) \quad , \quad (7.5)$$

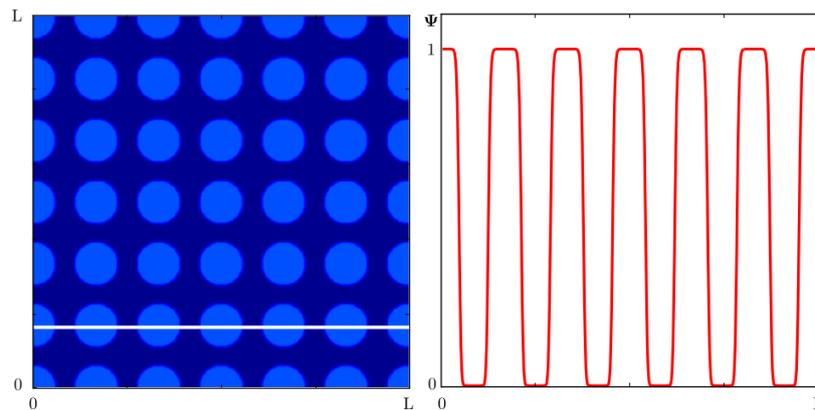
wobei  $\mathbf{n} = -\nabla\phi/|\nabla\phi|$  einen Normalenvektor an die Hindernisse definiert. Entwickelt man die Abhängigkeit der Dichten von  $\hat{\mathbf{u}}$  bezüglich der Momente der Orientierung, wie in Abschnitt 4.2 beschrieben, so erhält man die in Gleichung (7.1) verwendete Form.

In diesem System kann die Höhe des Potentials bzw. der Wert des Phasenfeldes  $\Psi$  mit der Höhe der Hindernisse assoziiert werden. Für ein niedriges Potential bewegen sich die Zellen nur oben auf den Hindernissen. Ist der Wert des Potentials hoch, bewegen sie sich vorzugsweise in den Kanälen zwischen den Hindernissen. In unseren numerischen Untersuchungen haben wir zwei strukturell verschiedene Topographien zur Analyse verwendet. Abbildung 7.1 zeigt eine Geometrie mit rechteckigen Hindernissen. Jedes Hindernis hat eine Länge von  $0,2\lambda$  und eine Breite von  $0,07\lambda$ . Der Abstand zwischen zwei Hindernissen beträgt in  $x$ - und  $y$ -Richtung  $0,06\lambda$ . In Abbildung 7.2 ist eine Topographie mit kreisrun-

den Hindernissen dargestellt. Sie haben einen Radius von  $0,06 \lambda$ , wobei der Abstand der Mittelpunkte  $0,18 \lambda$  beträgt.



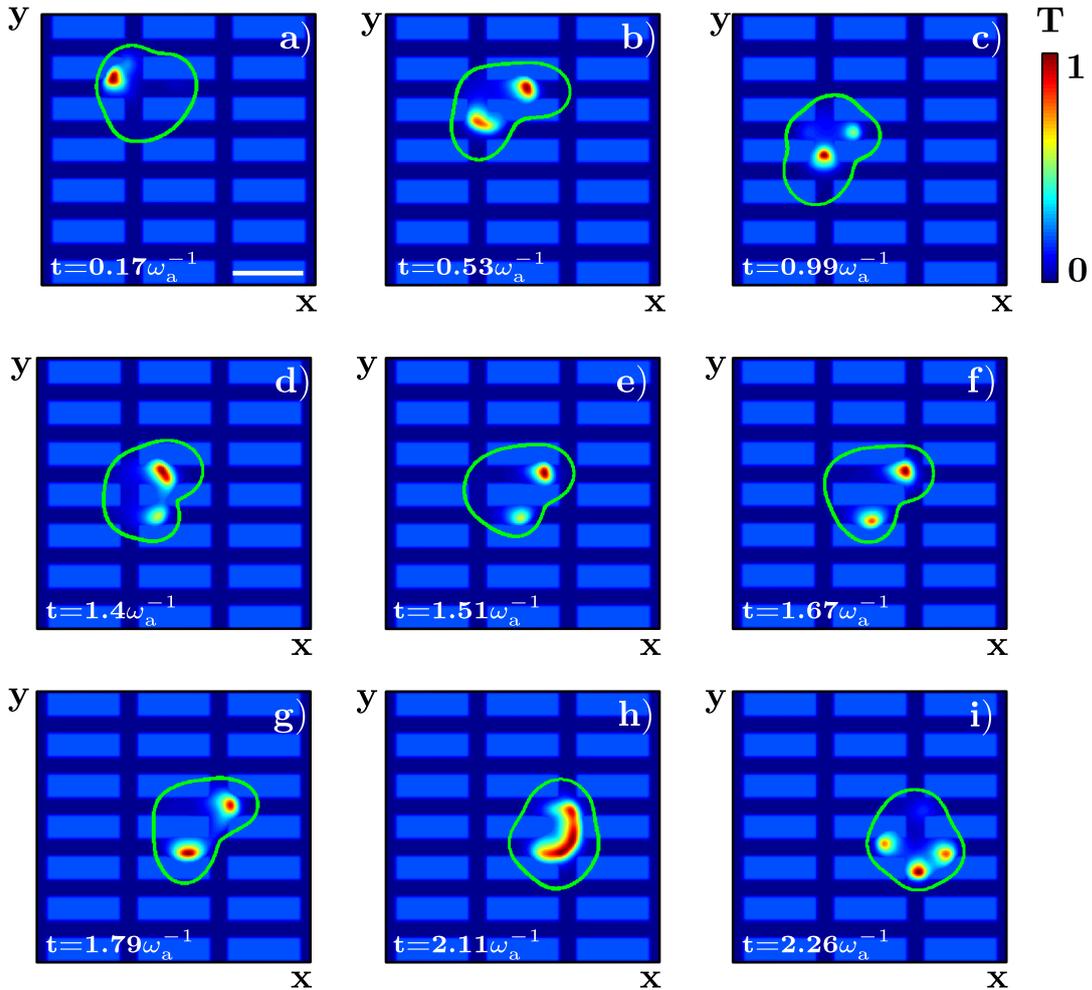
**Abbildung 7.1:** Räumliche Darstellung der strukturierten Oberfläche, repräsentiert durch das Phasenfeld  $\Psi$  (links) und Schnitt entlang der weißen Linie (rechts).  $L = 1,05\lambda$ .



**Abbildung 7.2:** Räumliche Darstellung der strukturierten Oberfläche, repräsentiert durch das Phasenfeld  $\Psi$  (links) und Schnitt entlang der weißen Linie (rechts).  $L = 1,05\lambda$ .

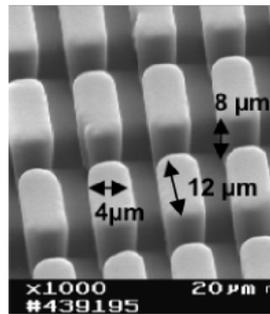
In einem ersten Schritt schauen wir uns die Wechselwirkung einer Zelle mit rechteckigen Hindernissen niedriger Höhe an. Für die intrinsische Dynamik werden die Parameter so gewählt, dass sich die Zelle in einem gerichtet bewegten Zustand, wie er in Abschnitt 6.2 beschrieben wurde, befindet. Die numerischen Lösungen der dynamischen Gleichungen (7.1) - (7.4) zeigen, dass die Front der Polymerisationswelle durch die Wechselwirkung mit den Hindernissen in mehrere Fokuspunkte aufbricht. Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$  sind in Abbildung 7.3 gezeigt. Wir schließen daraus, dass die Wechselwirkung der Polymerisationswellen von Aktin mit der topographischen Struktur Fokuspunkte erzeugen kann, die

entlang der Kanten der Hindernisse wandern. Diese Fokuspunkte „führen“ die Zelle über ein Hindernis und leiten somit die Bewegung in einer strukturierten Umgebung, ohne dass eine explizite Signalkaskade für das Detektieren der Oberfläche eingeführt werden musste.



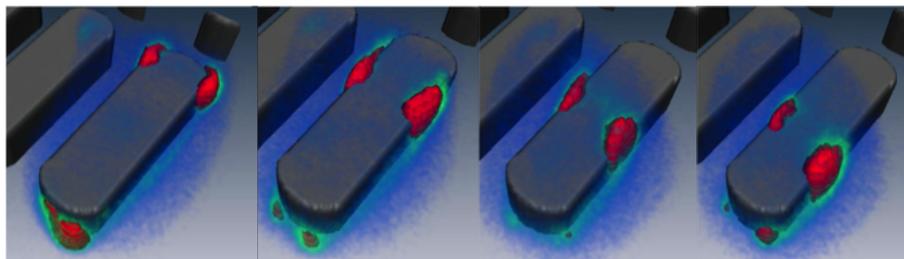
**Abbildung 7.3:** Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$  als Lösung der Gleichungen (7.1)-(7.4). Für die effektiven Mobilitätskonstanten gilt  $\eta_T = 7,8 \cdot 10^{-5}$ ,  $\eta_{na} = 7,8 \cdot 10^{-4}$  und  $\eta_{ni} = 0,156$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 mit  $\tilde{\omega}_d = 0,36$  und  $\tilde{v}_a = 0,39$  angegeben. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

Experimentelle Beobachtungen an *Dictyostelium discoideum* zeigen ebenfalls, dass der Schleimpilz in der Lage ist, topographische Strukturen, die in der Größenordnung einer Zelle liegen, zu spüren. Zur Untersuchung wurden *Dictyostelium discoideum* Zellen auf eine strukturierte PDMS-Oberfläche gesetzt. Die Oberfläche bestand aus einer Anordnung von Stützsäulen mit einer Höhe von  $8 \mu\text{m}$ , einer Breite von  $4 \mu\text{m}$  und einer Länge von  $12 \mu\text{m}$  (vgl. Abb. 7.4).



**Abbildung 7.4:** Strukturierte PDMS-Oberfläche mit Stützsäulen [117].

Zur Bestätigung unserer theoretisch gefundenen Ergebnisse wurden Aktinfilamente mit den Markerproteinen Lim-GFP und RFP-Coronin fluoreszent markiert. Lim bindet an das Plus-Ende der Filamente während der Polymerisation, wohingegen Coronin als Marker für die Depolymerisation verwendet wird. Wie in Abbildung 7.5 dargestellt, entstehen in Zellen, die sich auf einer strukturierten Oberfläche bewegen, laufende Fokuspunkte von polymerisierenden Aktinfilamenten. Diese Fokuspunkte entstehen an den Ecken der Stützsäulen und laufen entlang der Längsseite der Hindernisse. Ihre Bewegungsrichtung stimmt dabei mit der Migrationsrichtung der ganzen Zelle überein. Fokuspunkte, die entlang einer Stützsäule gewandert sind, verschwinden und entstehen von Neuem an einem Hindernis, das der Leitsaum der Zelle erreicht hat. Darüber hinaus bewegen sich die Zellen im Mittel in Längsrichtung der Stützsäulen.



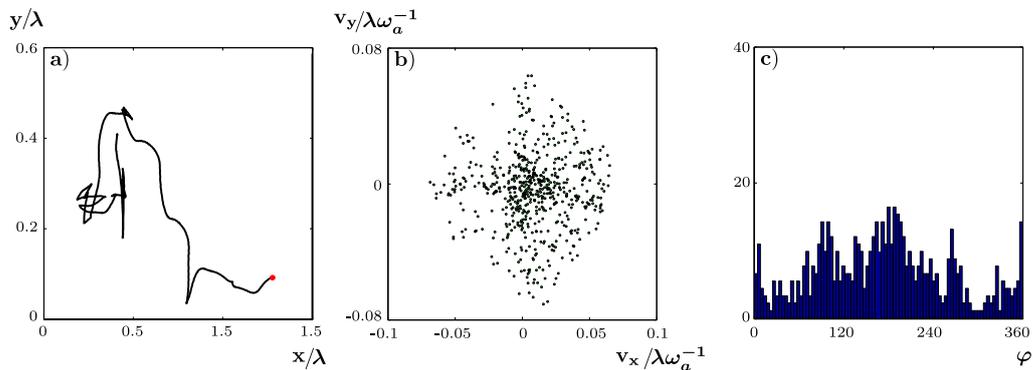
**Abbildung 7.5:** Momentaufnahmen einer Animation der Verteilung von Aktin in einer kriechenden *Dictyostelium discoideum* Zelle auf einer strukturierten Oberfläche. Lim-GFP ist rot, Coronin grün und der Zellkörper blau eingefärbt [117].

Wir haben gezeigt, dass spontane Aktinwellen das Migrationsverhalten kriechender Zellen in einer quasi dreidimensionalen Umgebung erklären können. Dieses Ergebnis beruht auf einem intrinsischen Mechanismus des Zytoskeletts, der durch kollektive Effekte hervorgerufen wird, die durch das Wechselspiel vieler Proteine entstehen.

## 7.2 Die Form der Hindernisse entscheidet über die Vorzugsrichtung der Bewegung

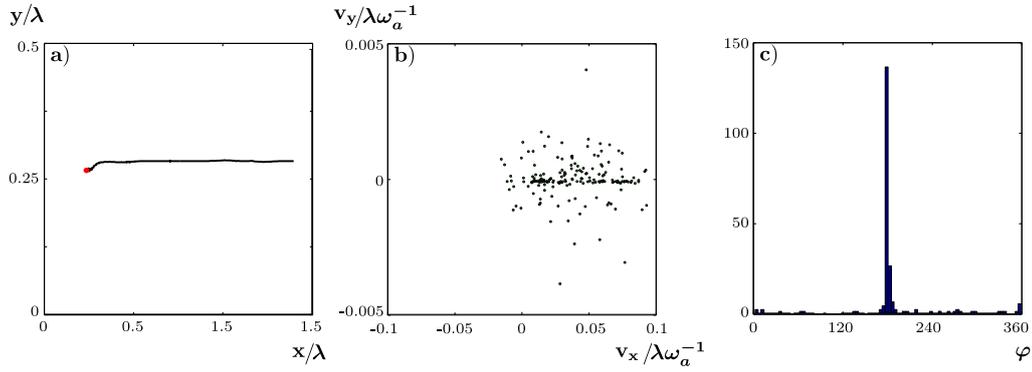
Das Bewegungsmuster der Zelle hängt im Wesentlichen von der Stärke der Wechselwirkung und damit effektiv von der Höhe der Hindernisse ab. Darüber hinaus spielt auch die Geometrie der Hindernisse eine entscheidende Rolle für die Bewegungsrichtung der Zelle. Wie die Simulationen zeigen, korrespondieren die verschiedenen Strukturen jeweils mit unterschiedlichen Bewegungsmustern der Zelle. In diesem Abschnitt untersuchen wir die Wechselwirkung einer Zelle mit rechteckigen und kreisrunden Hindernissen, die wesentlich höher sind als die im vorangegangenen Abschnitt betrachteten.

Für kreisförmige Hindernisse finden wir heraus, dass die Trajektorie ein unregelmäßiges Muster zeigt und die Geschwindigkeitsvektoren annähernd isotrop verteilt sind. Wie zu erwarten, sind auch die Winkel zwischen den Richtungsvektoren der Bewegung und der  $x$ -Achse isotrop verteilt und es lässt sich keine Vorzugsrichtung feststellen. Die entsprechenden Graphen sind in Abbildung 7.6 dargestellt.

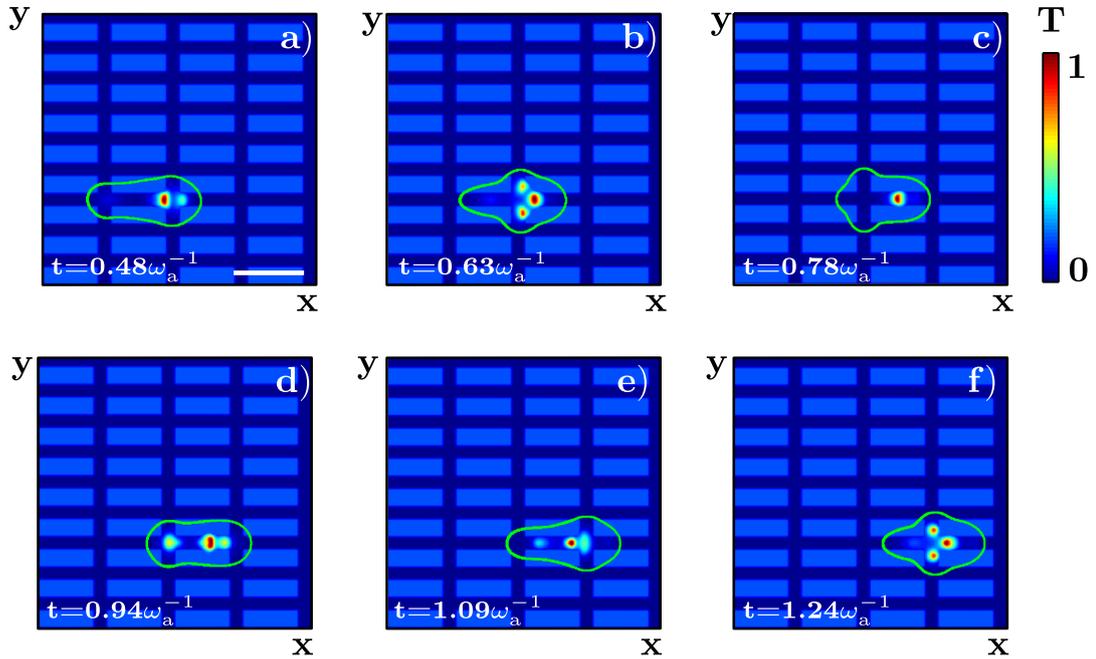


**Abbildung 7.6:** Trajektorie, Polardiagramm und Winkelverteilung für die in Abb. 7.2 dargestellte Struktur. a) Trajektorie des Schwerpunktes von  $\psi$  in einem Zeitintervall von  $t = 10 \omega_a^{-1}$ . b) Polardiagramm der Geschwindigkeitsvektoren. c) Histogramm der Beträge der Geschwindigkeitsvektoren. Alle anderen Parameter sind wie in in Abb. 6.3 angegeben.

Bewegt sich die Zelle in den Kanälen zwischen den Hindernissen, so stellen wir fest, dass die Bewegung durch die Hindernisse geleitet wird und in der rechteckigen Geometrie eine Anisotropie in der Bewegungsrichtung entsteht. Die Bewegung ist vorzugsweise in Längsrichtung der Hindernisse ausgerichtet. Die korrespondierende Trajektorie ist gerade (vgl. Abb. 7.7 (a)). Die Aktinverteilung zeigt während der Bewegung spontane laufende Fokuspunkte, die periodisch entstehen und wieder verschwinden. Wie in Abbildung 7.8 zu sehen ist, bricht die Front der Aktinfilamente durch die Wechselwirkung mit der Wand auf. Neue Fokuspunkte entstehen unmittelbar an den Kanten der Hindernisse



**Abbildung 7.7:** Trajektorie, Polardiagramm und Winkelverteilung für die in Abb. 7.1 dargestellte Struktur. a) Trajektorie des Schwerpunktes von  $\psi$  in einem Zeitintervall von  $t = 4\omega_a^{-1}$ . b) Polardiagramm der Geschwindigkeitsvektoren. c) Histogramm der Beträge der Geschwindigkeitsvektoren. Alle anderen Parameter sind wie in in Abb. 6.3 angegeben.



**Abbildung 7.8:** Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$  als Lösung der Gleichungen (7.1)-(7.4). Für die effektiven Mobilitätskonstanten gilt  $\eta_T = 2 \cdot 10^{-4}$ ,  $\eta_{na} = 2 \cdot 10^{-3}$  und  $\eta_{ni} = 0,4$ . Alle anderen Parameterwerte sind in Tabelle B.1 mit  $\tilde{\omega}_d = 0,36$  und  $\tilde{v}_a = 0,39$  angegeben. Der Maßstabsbalken hat eine Länge von  $0,19 \lambda$ .

und werden durch diese geleitet. Wir gehen davon aus, dass die laufenden Fokuspunkte durch eine dynamische Instabilität bei der Polymerisation von Aktinfilamenten während dem Auftreffen auf ein Hindernis entstehen. Die Zelle bewegt sich in den Kanälen und weist eine laterale Symmetrie auf. Die Aktindichte oszilliert dabei periodisch. Ähnlich wie in den Zuständen der gerichteten Bewegung in Abschnitt 6.2 führen die periodischen Änderungen in der Dichteverteilung unmittelbar zu einer periodischen Oszillation in der Fortbewegungsgeschwindigkeit der Zelle.

Wir zeigen, dass die Zelle in der Lage ist, mit Hilfe ihres Zytoskeletts eine strukturierte Oberfläche zu erspüren und ihre Bewegung durch die Geometrie der Struktur beeinflusst wird. Kreisrunde Hindernisse führen zu einer Isotropie in der Bewegungsrichtung, wohingegen die Bewegung in einer Struktur rechteckiger Hindernisse anisotrop ist.

## 8 Zusammenfassung und Ausblick

Damit Zellen richtig funktionieren, müssen sie sich im Raum selbst organisieren und auf vielfältige Weise mit ihrer Umgebung wechselwirken. Dabei reagieren sie auf äußere Reize und passen sich an ständig wechselnde Gegebenheiten an. Motiviert durch Experimente an Neutrophilen und *Dictyostelium discoideum* haben wir in dieser Arbeit eine dynamische Beschreibung des Zytoskeletts eingeführt und das System aus Filamenten im Wechselspiel mit Nukleationsproteinen, wie sie in *Dictyostelium discoideum* und XTC-Zellen beobachtet wurden, mit den daraus resultierenden Bewegungsmustern analysiert.

Die Ergebnisse der Arbeit weisen darauf hin, dass die Selbstorganisation der Filamente, z. Bsp. in Zytoskelettwellen, ein wichtiger Punkt im Verständnis der Dynamik des Zytoskeletts ist. Das zugrundeliegende System erfasst alle wesentlichen Eigenschaften der Dynamik von Nukleationsproteinen von *Dictyostelium discoideum* oder XTC-Zellen wie ARP2/3 und p21. Wir zeigen, dass das Maximum der Konzentration der aktiven Nukleationsproteine, die für die Bildung des Aktinnetzwerkes zuständig sind, am Leitsaum der Zelle lokalisiert ist, wo auch die Dichte der Plus-Enden der Aktinfilamente ihr Maximum erreicht. Es wäre sicherlich von großem Interesse, die Existenz laufender Wellen in Systemen mit „Treadmilling“-Filamenten experimentell zu überprüfen. Da wir von Eigenschaften einzelner Bestandteile des Zytoskeletts ausgehen, sind unsere Beschreibungen insbesondere für *in vitro* Experimente geeignet, in denen Systeme aus Zytoskelettkomponenten, die zuvor aus Zellen extrahiert wurden, betrachtet werden. Die Schwierigkeit hierbei wird sein, alle für das System notwendigen Prozesse *in vitro* zu realisieren. *Carlier et al.* haben ein minimales Medium zur Untersuchung der Zellbewegung durch Polymerisation genutzt [118]. Zusätzlich müssten nun auch Membranen, z. Bsp. in Form unterstützter Lipiddoppelschichten (*supported lipid bilayer*), und der Scar/WAVE-Komplex in das System integriert werden.

Ausgehend von den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit scheint es plausibel, dass die Umordnung des Zytoskeletts, ausgelöst durch die Selbstorganisation weniger Komponenten des Zytoskeletts, in Zusammenhang mit der Zellbewegung steht. Ein wichtiger Aspekt ist hierbei die Wechselwirkung der Filamente mit der Zellmembran als äußere Begrenzung. Dazu haben wir die Interaktion von Filamenten mit der Zellmembran in einem Phasenfeld-Ansatz untersucht. Der Phasenfeld-Ansatz ist numerisch sehr effizient und zur parallelen Berechnung auf Grafikkarten bestens geeignet. Wir finden in dieser Arbeit

Zustände gerichteter Bewegung, bei denen die Form der Zelle in Richtung der Bewegung ausgedehnt ist. Dies steht im Gegensatz zu Systemen, bei denen die Kontraktilität des Aktinnetzwerkes durch molekulare Motoren hervorgerufen wird. In letzterem Fall ist die Form der Zellen typischerweise senkrecht zur Richtung der Bewegung ausgedehnt [102, 98]. Die Form der Zelle kann somit als Hinweis dafür dienen, wie wichtig die Kontraktilität des Aktinnetzwerkes durch Motoren relativ zur Polymerisierungsaktivität während der Bewegung ist. Im Zustand gerichteter Bewegung finden wir weiter, dass die Dynamik der Aktinfilamente im Innern der Zelle während der Bewegung oszilliert. In einer früheren Arbeit zu spontanen Polymerisationswellen war die Aktinverteilung im Referenzsystem der Zelle meist stationär [85].

In der vorliegenden Arbeit wurde ein spezifischer Mechanismus zur Erzeugung spontaner Wellen vorgeschlagen und untersucht. Dennoch kann man erwarten, dass wesentliche Eigenschaften, die wir beobachtet und festgestellt haben, unabhängig von vielen Details dieses Mechanismus sind. Wir haben festgestellt, dass die Propagationsgeschwindigkeit der laufenden Wellen unabhängig von der Polymerisationsgeschwindigkeit  $v_a$  der Filamente ist. Daraus könnte man beispielsweise schließen, dass es für die Zellbewegung unerheblich ist, ob Aktinfilamente *Treadmilling* durchführen oder nicht. Beim *Treadmilling* wächst das Filament im Mittel am Plus-Ende und schrumpft am Minus-Ende. Da die Raten für Wachsen und Schrumpfen in diesem Fall gleich sind, ändert sich die Gesamtlänge des Filamentes während dieses Vorgangs nicht. Erste Untersuchungen weisen auf einen weiteren möglichen Mechanismus hin. Ein Filament polymerisiert am freien Ende, solange der Nukleator an das Filament gebunden ist. Löst sich dieser, so beginnt es zu depolymerisieren, da die Schrumpfrate größer als die Wachstumsrate wird und das Filament löst sich in Monomere auf.

Neben den Zuständen gerichteter Bewegung finden wir ein unregelmäßiges Muster zufälliger Bewegung, das mit Spiralwellen in der Aktinverteilung verknüpft ist. Diese Art der Fortbewegung erinnert stark an die Bewegung amöboider Zellen, wie menschlichen Neutrophilen oder dem Schleimpilz *Dictyostelium discoideum*. Die Resultate zeigen, dass amöboide Bewegung im Wesentlichen durch die deterministische, chaotische Dynamik der Aktinfilamente hervorgerufen werden könnte. Damit wäre diese Art der Zellbewegung nicht durch thermisches oder molekulares Rauschen evoziert. Die numerischen Lösungen zeigen ebenso, dass die unregelmäßige Bewegung mit der Dynamik von Spiralwellen verknüpft ist, die durch das Wechselspiel von Nukleationsproteinen und Aktinfilamenten erzeugt werden. Die nicht-triviale Dynamik von aufbrechenden Spiralen ist bereits aus einer Vielzahl anregbarer Systeme bekannt [112, 113, 114]. In weiteren Untersuchungen könnten die Techniken, die in diesem Zusammenhang entwickelt wurden, zur Analyse der in dieser Arbeit beschriebenen Spiralwellen verwendet werden. Es wäre interessant, wenn

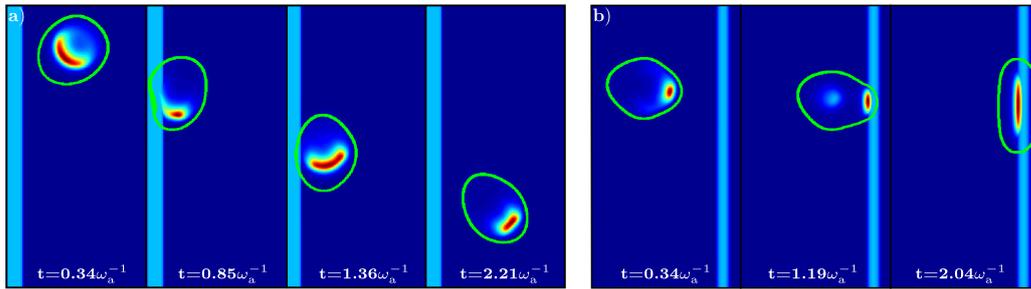
---

sich daraus ein Zusammenhang zwischen den Parametern des theoretischen Systems und den Parametern der unregelmäßigen Bewegung, wie z. Bsp. dem entsprechenden effektiven Diffusionskoeffizienten, ergeben würde. Dieser Koeffizient ist unter anderem im Kontext der Immunzellen von enormer Bedeutung, da er großen Einfluss auf die Zeitdauer hat, die eine Immunzelle benötigt, um eine infizierte Zelle aufzuspüren und zu vernichten.

Ein weiterer wichtiger Punkt dieser Arbeit ist die Bewegung von Zellen auf strukturierten Oberflächen. Zur Verbesserung der Effizienz ihrer Suchstrategien könnte es nützlich sein, dass Immunzellen ihre Bewegung an sich ändernde Umgebungsbedingungen anpassen [119]. Wir zeigen, dass die Zelle in der Lage ist, mit Hilfe ihres Zytoskeletts eine strukturierte Oberfläche zu erspüren und ihre Bewegung durch die Geometrie der Struktur beeinflusst wird. Kreisrunde Strukturen führen zu einer Isotropie in der Bewegungsrichtung, wohingegen rechteckige Strukturen zu einer Vorzugsrichtung der Bewegung führen.

Die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse und Zusammenhänge eröffnen den Weg für weitere Projekte. Ein Ansatz könnte speziell die Physiologie von T-Lymphozyten berücksichtigen. T-Lymphozyten bilden MHC-Rezeptoren auf ihrer Oberfläche aus. Diese Eiweißmoleküle in der Zellmembran, auch T-Zell-Rezeptoren (TCR) genannt, können körperfremde Stoffe erkennen. Im Gegensatz zu Antikörpern erkennen T-Zellen körperfremde Stoffe jedoch nur dann, wenn deren Antigene auf der Oberfläche anderer Zellen an deren MHC gebunden sind. Das Ausmaß der Reaktion der Rezeptor- mit den Antigen-MHC-Komplexen hängt von der Konzentration beider Partner ab, d. h. ihrer Dichte auf den beteiligten Zellmembranen, und von der spezifischen Affinität des TCR [120, 121]. Wir haben gefunden, dass die Polymerisationsgeschwindigkeit der Filamente und die Deaktivierungsrate der Nukleationsproteine einen wesentlichen Einfluss auf die Zustände des Systems haben. Zellen reagieren weiter auf äußere Reize, sodass sich nicht die gesamte Zelldynamik auf Selbstorganisation zurückführen lässt. Dies eröffnet konzeptuell neue Möglichkeiten der Zellantwort auf äußere Reize durch eine lokale Veränderung entsprechender Raten. So ist es möglich, dass spezielle Signalmoleküle die Polymerisationsaktivität der Filamente beeinflussen und das System auf diese Weise von einem oszillatorischen in einen stationären Zustand überführen oder umgekehrt. Mögliche molekulare Mechanismen könnten dabei die ARP2/3-Aktivität, die Formin-Aktivität oder die Änderung der Konzentration des Pools an Aktin-Monomeren sein.

Es wäre wünschenswert, wenn weitere Untersuchungen mit Hilfe des in dieser Arbeit vorgestellten Systems durchgeführt würden. Erste Resultate zeigen bereits, dass es möglich ist, durch lokale Änderung von Raten den Bewegungszustand des Systems zu beeinflussen. Abbildung 8.1 zeigt die Wechselwirkung einer sich gerichtet bewegenden Zelle mit einer festen Wand. Dabei wurde die Wand durch ein zweites Phasenfeld repräsentiert und die Wechsel-



**Abbildung 8.1:** Wechselwirkung einer sich gerichtet bewegendes Zelle mit einer festen Wand. Momentaufnahmen der Aktindichte  $T$ . (a) Wechselwirkungsparameter  $a = 1,0$ . (b) Wechselwirkungsparameter  $a = 0,5$  und  $\omega_d = \omega_d^0(1 - \exp(-d/0,08))$ , wobei  $d$  den Abstand zur Wand bezeichnet. Alle anderen Parameter wie in Abb. 6.3.

wirkung über ein Potential beschrieben. Die Deaktivierungsrate der Nukleationsproteine ist abhängig vom Abstand zum Hindernis.

Interessant wäre auch die Untersuchung der Wechselwirkung zwischen zwei oder mehreren Zellen, die jeweils mit Hilfe eines eigenen Phasenfeldes repräsentiert werden. Die Wechselwirkung zwischen den Zellen kann dabei ebenso durch ein Wechselwirkungspotential auf einfache Weise beschrieben werden, das zu einem zusätzlichen Term in der freien Energie führt. Sind  $\psi_1$  und  $\psi_2$  die Phasenfelder zweier Zellen, so definiert man das Wechselwirkungspotential  $W$  durch

$$W(\psi_1, \psi_2) = \frac{a}{2} \psi_1^2 \psi_2^2 \quad ,$$

wobei  $a$  die Stärke der Wechselwirkung beschreibt und woraus sich ein zusätzlicher Term in der Dynamik der Phasenfelder ergibt:

$$\begin{aligned} \partial_t \psi_1 &= \dots - \frac{\partial}{\partial \psi_1} W(\psi_1, \psi_2) = \dots - a \psi_1 \psi_2^2 \quad , \\ \partial_t \psi_2 &= \dots - \frac{\partial}{\partial \psi_2} W(\psi_1, \psi_2) = \dots - a \psi_1^2 \psi_2 \quad . \end{aligned}$$

Wir haben in dieser Arbeit wichtige Zusammenhänge zwischen Zytoskelett und Zellverhalten besser verstehen können. Inwiefern sich Zellen *in vivo* die gefundenen Mechanismen zu eigen machen, müssen weitere experimentelle Untersuchungen zeigen. Wir erwarten insbesondere Belege dafür, dass die in dieser Arbeit beschriebenen Polymerisationswellen für die Zellbewegung von essentieller Bedeutung sind.

---

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine physikalische Beschreibung von Prozessen in lebenden Zellen möglich ist und wichtige Resultate für deren Verständnis liefern kann. Die unterschiedlichen Arten der Bewegung kriechender Zellen können mit den verschiedenen Zuständen unseres dynamischen Systems verknüpft werden. Intrinsische Instabilitäten des Aktinnetzwerkes führen je nach Wahl der Parameter in unserer einheitlichen Beschreibung zu einer gerichteten Bewegung oder einer unregelmäßigen Bewegung, wie sie in dendritischen Zellen und *Dictyostelium discoideum* beobachtet werden. Wir haben gezeigt, dass die Selbstorganisation zu Prozessen führen kann, die den in Zellen beobachteten ähneln. Angesichts unserer Ergebnisse ist zu vermuten, dass unabhängig der in dieser Arbeit betrachteten spezifischen Prozesse die Orchestrierung des Zytoskeletts während der Zellbewegung auf eine inhärente Selbstorganisation einiger weniger Komponenten der Zelle zurückzuführen ist.



# Anhang



## A Herleitung der Gleichungen für die Aktin-Dynamik

Der theoretische Ansatz startet mit der Beschreibung der Dynamik des Aktin-Zytoskeletts. Dabei sehen wir die Filamente als starre Stäbchen an. Die Position im Raum wird durch einen Punkt entlang des Filamentes - wir wählen das Plus-Ende - und seine Orientierung, die in Richtung des Plus-Endes zeigt, eindeutig beschrieben. Der Zustand des Systems wird durch die Dichte  $c \equiv c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \ell, t)$  der Plus-Enden der Aktinfilamente beschrieben, die von der Position  $\mathbf{r}$ , der Filamentorientierung  $\hat{\mathbf{u}}$ , wobei  $\hat{\mathbf{u}}$  in Richtung des Plus-Endes zeigt und  $\hat{\mathbf{u}}^2 = 1$  gilt, der Filamentlänge  $\ell$  und der Zeit  $t$  abhängt. Ihre Zeitentwicklung ist gegeben durch

$$\partial_t c = D\Delta c - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c - (v_a - v_d) \partial_\ell c - k_d c \quad . \quad (\text{A.1})$$

Für die Randbedingung im  $\ell$ -Raum gilt

$$(v_a - v_d) c(\ell = 0) = j_\ell|_{\ell=0} = \nu n_a \quad . \quad (\text{A.2})$$

Zur weiteren Vereinfachung des Systems kann man zwei neue Ordnungsparameter einführen, die eine wesentliche Vereinfachung des Systems ermöglichen, ohne dabei nähern zu müssen. In einem ersten Schritt soll die Längenabhängigkeit von  $c$  ausintegriert werden. Dazu definieren wir die Dichte  $c^+(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}})$  der Plus-Enden,  $c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}})$  der Minus-Enden und die Gesamtaktindichte  $T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}})$  am Ort  $\mathbf{r}$  für Filamente mit Orientierung in Richtung  $\hat{\mathbf{u}}$ :

$$c^+(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) = \int_0^\infty d\ell c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \ell) \quad , \quad (\text{A.3})$$

$$c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) = \int_0^\infty d\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi) \quad , \quad (\text{A.4})$$

$$T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) = \int_0^\infty d\ell \int_0^\ell d\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \ell) \quad . \quad (\text{A.5})$$

Angewendet auf Gleichung (A.1) erhält man damit:

$$\begin{aligned} \partial_t c^+ &= D\Delta c^+ - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^+ - (v_a - v_d) \int_0^\infty d\ell \partial_\ell c - k_d c^+ \\ &= D\Delta c^+ - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^+ - (v_a - v_d) [c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, \infty) - c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, 0)] - k_d c^+ \end{aligned} \quad (\text{A.6})$$

$$\begin{aligned}
 &= D\Delta c^+ - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^+ - (v_a - v_d) \left[ \frac{-\nu n_a}{v_a - v_d} \right] - k_d c^+ \\
 &= D\Delta c^+ - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^+ + \nu n_a - k_d c^+ \quad ,
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \partial_t c^- &= D\Delta c^- - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^- - (v_a - v_d) \int_0^\infty d\xi \partial_\ell c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi) - k_d c^- & (A.7) \\
 &= D\Delta c^- - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^- - (v_a - v_d) \int_0^\infty d\xi [\partial_\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi) - \nabla \cdot \hat{\mathbf{u}} c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi)] - k_d c^- \\
 &= D\Delta c^- - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^- - (v_a - v_d) [-c(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}, 0) - \nabla \cdot \hat{\mathbf{u}} c^-] - k_d c^- \\
 &= D\Delta c^- - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} c^- - (v_a - v_d) \left[ -\frac{\nu n_a}{v_a - v_d} - \nabla \cdot \hat{\mathbf{u}} c^- \right] - k_d c^- \\
 &= D\Delta c^- - \nabla \cdot v_d \hat{\mathbf{u}} c^- + \nu n_a - k_d c^- \quad , & (A.8)
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \partial_t T &= D\Delta T - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} T - (v_a - v_d) \int_0^\infty d\ell \int_0^\ell d\xi \partial_\ell c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \ell) - k_d T & (A.9) \\
 &= D\Delta T - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} T - (v_a - v_d) \int_0^\infty d\xi \int_\xi^\infty d\ell \partial_\ell c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \ell) - k_d T \\
 &= D\Delta T - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} T - (v_a - v_d) \left[ -\int_0^\infty d\xi c(\mathbf{r} - \xi \hat{\mathbf{u}}, \hat{\mathbf{u}}, \xi) \right] - k_d T \\
 &= D\Delta T - \nabla \cdot v_a \hat{\mathbf{u}} T + (v_a - v_d) c^- - k_d T \quad .
 \end{aligned}$$

Wie man erkennt, hängen die Gleichungen für die Zeitentwicklung von  $c^-$  und  $T$  nicht von  $c^+$  ab. In einem zweiten Schritt entwickeln wir daher nur mehr die Abhängigkeit der Dichten  $c^-$  und  $T$  von  $\hat{\mathbf{u}}$  bezüglich der Momente der Orientierung. Bezeichnen wir mit  $\rho^-(\mathbf{r})$  und  $\mathbf{p}^-(\mathbf{r})$  bzw.  $T_{\text{tot}}$  und  $\mathbf{p}_{\text{tot}}$  die entsprechenden ersten bzw. zweiten Momente der Entwicklung für  $c^-$  und  $T$ , so lassen sich diese als

$$\rho^-(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (A.10)$$

$$\mathbf{p}^-(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}} c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (A.11)$$

$$T_{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad , \quad (\text{A.12})$$

$$\mathbf{p}_{\text{tot}}(\mathbf{r}) = \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}} T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad (\text{A.13})$$

schreiben. Wendet man diese Entwicklung an, ergibt sich aus Gleichungen (A.7) und (A.8):

$$\partial_t \rho^- = D\Delta\rho^- - v_d \nabla \cdot \mathbf{p}^- + \nu n_a - k_d \rho^- \quad , \quad (\text{A.14})$$

$$\partial_t \mathbf{p}^- = D\Delta\mathbf{p}^- - k_d \mathbf{p}^- - v_d \nabla \cdot \underline{\underline{Q}}^- \quad , \quad (\text{A.15})$$

$$\partial_t T_{\text{tot}} = D\Delta T_{\text{tot}} - v_a \nabla \cdot \mathbf{p}_{\text{tot}} + (v_a - v_d) \rho^- - k_d T_{\text{tot}} \quad , \quad (\text{A.16})$$

$$\partial_t \mathbf{p}_{\text{tot}} = D\Delta\mathbf{p}_{\text{tot}} + (v_a - v_d) \mathbf{p}^- - k_d T_{\text{tot}} \mathbf{p}_{\text{tot}} - v_a \nabla \cdot \underline{\underline{Q}}^+ \quad , \quad (\text{A.17})$$

wobei  $\underline{\underline{Q}}^+$  und  $\underline{\underline{Q}}^-$  Tensoren zweiter Stufe bezeichnen.

Es verbleibt nun die Gleichungen (A.14) und (A.16) weiter zu vereinfachen. Dazu berechnen wir zunächst  $\nabla \cdot \underline{\underline{Q}}^+$  und  $\nabla \cdot \underline{\underline{Q}}^-$ .

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \underline{\underline{Q}}^+ &= \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}}^\dagger (\hat{\mathbf{u}} \cdot \nabla) T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) \quad (\text{A.18}) \\ &= \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos(\theta) \\ \sin(\theta) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos(\theta) & \sin(\theta) \end{pmatrix} \cdot \nabla T(\mathbf{r}, \theta) \\ &= \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos^2(\theta) & \cos(\theta) \sin(\theta) \\ \cos(\theta) \sin(\theta) & \sin^2(\theta) \end{pmatrix} \cdot \nabla T(\mathbf{r}, \theta) \\ &= \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \left[ \begin{pmatrix} 1/2 & 0 \\ 0 & 1/2 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \cos(2\theta)/2 & \sin(2\theta)/2 \\ \sin(2\theta)/2 & -\cos(2\theta)/2 \end{pmatrix} \right] \cdot \nabla T(\mathbf{r}, \theta) \\ &= \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \nabla T(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) + \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos(2\theta) & \sin(2\theta) \\ \sin(2\theta) & -\cos(2\theta) \end{pmatrix} \cdot \nabla T(\mathbf{r}, \theta) \\ &= \frac{1}{2} \nabla T_{\text{tot}}(\mathbf{r}) + \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos(2\theta) \partial_x & \sin(2\theta) \partial_y \\ \sin(2\theta) \partial_x & -\cos(2\theta) \partial_y \end{pmatrix} T(\mathbf{r}, \theta) \\ &\approx \frac{1}{2} \nabla T_{\text{tot}}(\mathbf{r}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \nabla \cdot \underline{Q}^- &= \frac{1}{2\pi} \int d\hat{\mathbf{u}} \hat{\mathbf{u}}^\dagger (\hat{\mathbf{u}} \cdot \nabla) c^-(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{u}}) & (A.19) \\
 &= \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos^2(\theta) & \cos(\theta) \sin(\theta) \\ \cos(\theta) \sin(\theta) & \sin^2(\theta) \end{pmatrix} \cdot \nabla c^-(\mathbf{r}, \theta) \\
 &= \frac{1}{2} \nabla \rho^-(\mathbf{r}) + \frac{1}{4\pi} \int_0^{2\pi} d\theta \begin{pmatrix} \cos(2\theta) \partial_x & \sin(2\theta) \partial_y \\ \sin(2\theta) \partial_x & -\cos(2\theta) \partial_y \end{pmatrix} c^-(\mathbf{r}, \theta) \\
 &\approx \frac{1}{2} \nabla \rho^-(\mathbf{r})
 \end{aligned}$$

Zusammen ergeben sich somit die dynamischen Gleichungen

$$\partial_t T_{\text{tot}} = D \Delta T_{\text{tot}} - v_a \nabla \cdot \mathbf{p}_{\text{tot}} + (v_a - v_d) \rho^- - k_d T_{\text{tot}} \quad , \quad (A.20)$$

$$\partial_t \mathbf{p}_{\text{tot}} = D \Delta \mathbf{p}_{\text{tot}} - \frac{1}{2} v_a \nabla T_{\text{tot}} + (v_a - v_d) \mathbf{p}^- - k_d \mathbf{p}_{\text{tot}} \quad , \quad (A.21)$$

$$\partial_t \rho^- = D \Delta \rho^- - v_d \nabla \cdot \mathbf{p}^- - k_d \rho^- + \nu n_a \quad , \quad (A.22)$$

$$\partial_t \mathbf{p}^- = D \Delta \mathbf{p}^- - k_d \mathbf{p}^- - \frac{1}{2} v_d \nabla \rho^- \quad (A.23)$$

unter Vernachlässigung von Termen der Ordnung 2 und höher in  $\hat{\mathbf{u}}$ .

## B Entdimensionalisierung und Parameterwerte

Um die in dieser Arbeit verwendeten dynamischen Gleichungen numerisch zu lösen, soll hier eine entdimensionalisierte Form zur Verfügung gestellt werden, bevor in einer Tabelle die benutzten dimensionslosen Parameter aufgelistet werden.

Zur Entdimensionalisierung der dynamischen Gleichungen (4.20) - (4.23) wird die Zeit mit der spontanen Aktivierungsrate  $\omega_a$  und der Ort mit der Diffusionslänge  $\lambda$  der inaktiven Nukleatoren skaliert, wobei  $\lambda^2 = D_i/\omega_a$ . Man erhält damit:

$$\partial_t \tilde{T} = \tilde{D} \Delta \tilde{T} - \tilde{k}_d \tilde{T} - \tilde{v}_a \nabla \cdot \tilde{\mathbf{p}} + \tilde{\alpha} \tilde{n}_a \quad (\text{B.1})$$

$$\partial_t \tilde{\mathbf{p}} = \tilde{D} \Delta \tilde{\mathbf{p}} - \tilde{k}_d \tilde{\mathbf{p}} - \tilde{v}_a \nabla \tilde{T} \quad (\text{B.2})$$

$$\partial_t \tilde{n}_a = \tilde{D}_a \Delta \tilde{n}_a + (1 + \tilde{\omega}_1 \tilde{n}_a^2) \tilde{n}_i - \tilde{\omega}_d \tilde{T} \tilde{n}_a \quad (\text{B.3})$$

$$\partial_t \tilde{n}_i = \Delta \tilde{n}_i - (1 + \tilde{\omega}_1 \tilde{n}_a^2) \tilde{n}_i + \tilde{\omega}_d \tilde{T} \tilde{n}_a. \quad (\text{B.4})$$

Durch Tilden wird hierbei angezeigt, dass es sich um dimensionslose Größen handelt. Es gelten die Zusammenhänge  $\tilde{T} = \lambda^2 T$ ,  $\tilde{\mathbf{p}} = \lambda^2 \mathbf{p}$ ,  $n_a = \lambda^2 \tilde{n}_a$ ,  $n_i = \lambda^2 \tilde{n}_i$ ,  $\tilde{D} = D D_i^{-1}$ ,  $\tilde{D}_a = D_a D_i^{-1}$ ,  $\tilde{\alpha} = \alpha \omega_a^{-1}$ ,  $\tilde{k}_d = k_d \omega_a^{-1}$ ,  $\tilde{v}_a = v_a \omega_a^{-1} \lambda^{-1}$ ,  $\tilde{\omega}_1 = \omega_1 \lambda^{-2}$  und  $\tilde{\omega}_d = \omega_d \omega_a^{-1} \lambda^{-2}$ .

Analog dazu ergeben sich die aus der Dynamik des Phasenfeldes (5.3) mit entsprechend gekoppelter Aktin- und Nukleatoren-Dynamik (5.8) - (5.11) entdimensionalisierten Gleichungen

$$\partial_t \tilde{T} = \tilde{D} \Delta \tilde{T} - \tilde{k}_d \psi \tilde{T} - \tilde{v}_a \psi \nabla \cdot \tilde{\mathbf{p}} + \tilde{\alpha} \psi \tilde{n}_a \quad (\text{B.5})$$

$$\partial_t \tilde{\mathbf{p}} = \tilde{D} \Delta \tilde{\mathbf{p}} - \tilde{k}_d \psi \tilde{\mathbf{p}} - \tilde{v}_a \psi \nabla \tilde{T} \quad (\text{B.6})$$

$$\partial_t \tilde{n}_a = \tilde{D}_a \Delta \tilde{n}_a + \psi (1 + \tilde{\omega}_1 \tilde{n}_a^2) \tilde{n}_i - \tilde{\omega}_d \psi \tilde{T} \tilde{n}_a \quad (\text{B.7})$$

$$\partial_t \tilde{n}_i = \Delta \tilde{n}_i - \psi (1 + \tilde{\omega}_1 \tilde{n}_a^2) \tilde{n}_i + \tilde{\omega}_d \psi \tilde{T} \tilde{n}_a \quad (\text{B.8})$$

$$\partial_t \psi = \tilde{D}_\psi \Delta \psi + \tilde{\kappa} \psi (1 - \psi) (\psi - \delta) - \tilde{\beta} \tilde{\mathbf{p}} \cdot \nabla \psi, \quad (\text{B.9})$$

wobei  $\tilde{D}_\psi = D_\psi D_i^{-1}$ ,  $\tilde{\kappa} = \kappa \omega_a^{-1}$  und  $\tilde{\beta} = \beta \omega_a^{-1} \lambda^{-3}$  gilt.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Parameter sind soweit nicht explizit anders angegeben in Tabelle B.1 aufgelistet.

	Wert	Beschreibung
$\tilde{D}$	0.0	effektive Diffusionskonstante der Aktinfilamente
$\tilde{D}_a$	0.045	effektive Diffusionskonstante der aktiven Nukleatoren
$\tilde{D}_\psi$	0.003	Diffusionskonstante des Phasenfeldes
$\tilde{\omega}_1$	0.006	Wert der Kooperativität
$\tilde{\omega}_d$	0-0.4	Deaktivierungsrate der Nukleatoren
$\tilde{v}_a$	0-0.4	Polymerisationsgeschwindigkeit
$\tilde{k}_d$	175.0	Degradierungsrate
$\tilde{n}_i^0$	120.0	Anfangsdichte der inaktiven Nukleatoren
$A_0\lambda^{-2}$	0.015	Startfläche des Phasenfeldes
$\epsilon$	4.0	Stärke der Flächenerhaltung
$\tilde{\alpha}$	588.0	Maß für die Nukleationsrate
$\tilde{\beta}$	0.006	Stärke der Kopplung
$\tilde{\kappa}$	118.0	setzt die Zeitskala für das Phasenfeld fest

**Tabelle B.1:** Dimensionslose Parameterwerte der numerischen Lösungen

## C GPU-basierte Programmierung

In diesem Abschnitt soll ein grundlegendes Wissen und Verständnis über den Aufbau und die Funktionsweise von Grafikkarten vermittelt werden. Die in der vorliegenden Arbeit präsentierten Modelle erfordern einen hohen numerischen Aufwand. Um den Simulationsprozess zu beschleunigen, bietet es sich an, Programme bis zu einem gewissen Grad zu parallelisieren. Moderne Prozessoren (CPU) besitzen in den meisten Fällen vier bis acht separate Recheneinheiten, die parallel zueinander unabhängige Aufgaben erfüllen können. Graphische Prozessoren (GPU) sind jedoch noch weitaus mehr auf parallelisierte Rechnungen optimiert. Für die Rechnungen in der vorliegenden Arbeit wurde eine Grafikkarte mit 2880 unabhängigen Prozessoren (Modell NVIDIA *GeForce GTX 708 Ti*) genutzt.

Hauptkomponente einer jeden Grafikkarte ist die ähnlich zur *Central Processing Unit* (CPU) arbeitende *Graphics Processing Unit* (GPU). GPUs der neueren Generation bestehen aus mehreren Streaming-Multiprozessoren, die zu Blöcken zusammengefasst sind und aus mehreren Streaming-Prozessoren bestehen. Jeder Multiprozessor verfügt über verschiedene Ressourcen, auf die er zugreifen kann. Beim Grafikspeicher unterscheidet man drei verschiedene Arten. Neben dem globalen Hauptspeicher der Grafikkarte existiert ein um Größenordnungen schneller arbeitender lokaler Speicherbaustein. Besonders zu erwähnen ist der *Shared Memory*. Er ist ein kleiner, ebenfalls lokaler, 16 KB großer Speicher, der für die temporäre Speicherung der für die Berechnung relevanten Daten zuständig ist. Darüber können alle Threads aus einem Block miteinander kommunizieren. Der Grafikspeicher besitzt im Vergleich zum Arbeitsspeicher eine wesentlich höhere Taktrate. Diese erhöhte Geschwindigkeit ermöglicht eine deutlich schnellere Berechnung auch komplexer Daten.

Die volle Leistung der speziellen Architektur einer Grafikkarte kann in der Programmierung ausgenutzt werden. Dafür wurde eigens die Sprache CUDA entwickelt. CUDA ist eine in erster Linie auf C/C++ basierende Programmierertechnik, die es ermöglicht, Algorithmen auf der Grafikkarte auszuführen. Um die Parallelität der Grafikprozessoren auszunutzen zu können, muss der numerische Code neu organisiert und umstrukturiert werden, worin das größte Potential zur Optimierung des Programms liegt. Eine möglichst effektive Ausführung ist nur dann möglich, wenn man die hierarchische Struktur der Grafikkarte kennt und für das Programm vorteilhaft nutzt, weswegen jeweils eine aufwendige Anpassung des Algorithmus nötig ist. Die hierarchisch angeordneten Möglichkeiten zur Organisation der Daten sind in Abbildung C.1 dargestellt. Die erste Ebene bildet das sog. Grid. Es koordiniert, auf welchem Streaming-Multiprozessor die Berechnung ausgeführt wird. Alle Elemente eines Grids können auf den globalen Speicher zugreifen. Darunter befinden sich die Blöcke, die sich auf mehrere Streaming-Prozessoren beziehen. Mit jedem Block

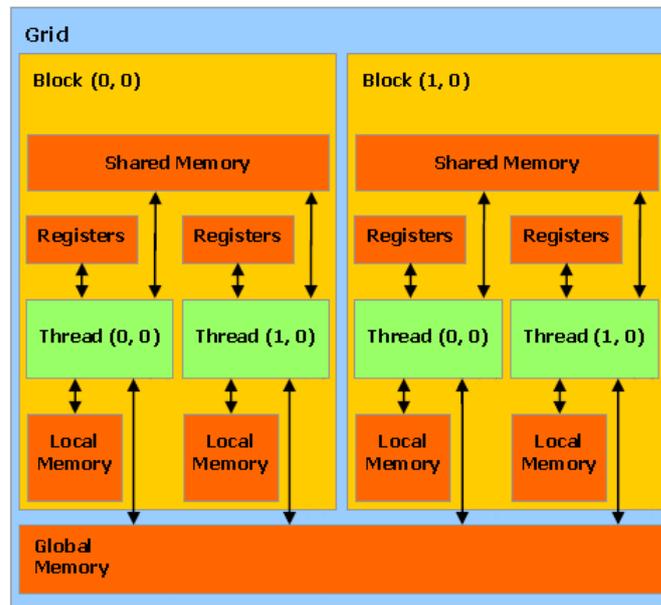
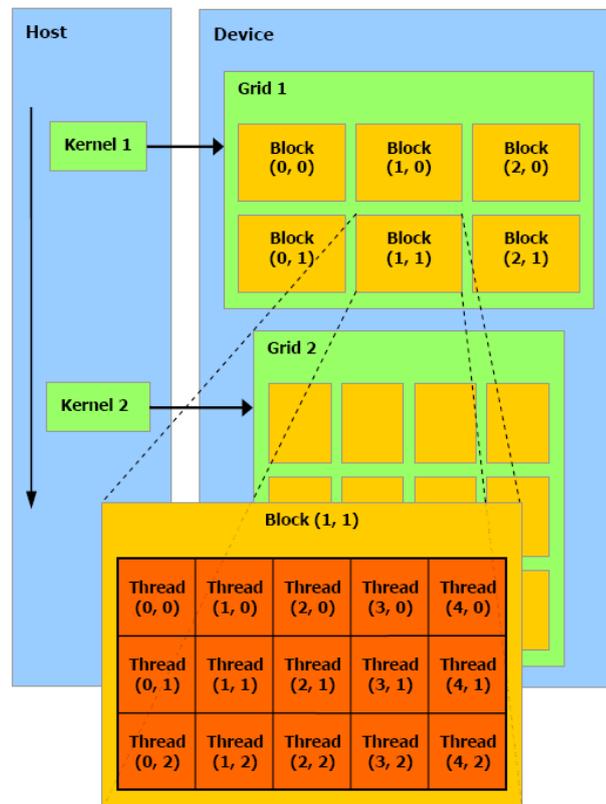


Abbildung C.1: Speicherhierarchie einer Grafikkarte. Aus [122].

ist ein eigener *Shared Memory* assoziiert. Auf der untersten Ebene befinden sich die Threads, die von einem einzigen Streaming-Prozessor ausgeführt werden und einen eigenen lokalen Speicherbereich besitzen. In Bezug auf die Software besteht CUDA aus mehreren Erweiterungen, unter denen sich vor allem Funktions- und Variablenqualifizierer befinden. Eine Funktion, die von der CPU aufgerufen und auf der GPU ausgeführt wird, bezeichnet man als Kernel. Sie wird im Code durch vorangestelltes `__global__` gekennzeichnet. Der Code selbst besteht aus einem sequentiell und einem parallel abzuarbeitenden Teil. Der sequentielle Teil wird stets von der CPU ausgeführt und sollte nicht parallelisiert werden. Die CPU verwaltet diesen Teil des Codes, während die GPU die parallelisierten Berechnungen durchführt.

Die Berechnung auf der Grafikkarte erfolgt in mehreren Schritten (vgl. Abb C.2). In einem ersten Schritt kopiert die CPU die benötigten Datenfelder aus dem Arbeitsspeicher in den globalen Speicher der Grafikkarte. Die Kommunikation zwischen der Grafikkarte und dem Arbeitsspeicher ist der Flaschenhals des gesamten Systems. Daher sollte man durch Kopieren aller relevanten Datenfelder permanente Speicherzugriffe der Grafikkarte auf den Arbeitsspeicher vermeiden. Zusätzlich nutzt man so die Zugriffsgeschwindigkeit des Grafikspeichers aus. Hat man die Daten auf die Grafikkarte kopiert, ruft die CPU die entsprechenden Kernel auf und erteilt damit den Befehl den zu berechnenden Algorithmus auf der Grafikkarte auszuführen. Die Grafikkarte organisiert dann die parallele Abarbeitung, indem die Datenfelder sinnvoll auf alle Streaming-Multiprozessoren und weiter auf die einzelnen Streaming-Prozessoren verteilt werden. Es liegt dabei in der Hand des Program-



**Abbildung C.2:** Schritte der Berechnung auf der Grafikkarte mit Hilfe von CUDA. Aufteilung in Grids, Blocks und Threads einer Grafikkarte. Aus [122].

mierers, zusammenhängende Datenfelder auf verschiedene Streaming-Multiprozessoren zu verteilen, um so die parallele Architektur bestmöglich auszunutzen. Im letzten Schritt werden die neu berechneten Datenfelder wieder in den Arbeitsspeicher der CPU zurück kopiert, so dass die CPU mit der sequentiellen Abarbeitung des Programms fortfahren kann. Optimierungen am Code, welche einerseits die Datenzugriffe des Arbeitsspeichers und des Grafikspeichers minimieren und andererseits den sequentiellen Teil des Codes mindern, ermöglichen eine bis zu 100-fache Beschleunigung der Berechnungen [122, 123].

Als einfaches nachvollziehbares Beispiel sei hier die Addition zweier Vektoren  $A$  und  $B$  der Länge  $N$  gezeigt. Das Ergebnis der Addition wird in  $C$  gespeichert. Jeder Iterationsschritt aus einem Standard C-Programm wird durch einen Thread ersetzt. Jeder Thread führt genau eine paarweise Addition aus. Im Gegensatz zum C-Programm gibt es hier keine Schleife zur Berechnung des Ergebnisses. Als Zähler dient die sog. *threadId*. Nahezu alle Schleifen werden durch if-Anweisungen realisiert. Dabei wird jeder ehemalige Iterationsschritt durch die parallele Abarbeitung eines Threads ersetzt. Der Funktionsaufruf gibt zusätzlich an, wieviele Blöcke und Threads pro Block zur Berechnung genutzt werden

sollen. In diesem Beispiel bedeutet das konkret, dass 1 Block mit  $N$  Threads den selben Code ausführt.

```
#define N 10
// Kernel Definition
__global__ void VektorAddition(double* A, double* B, double* C) {
    int i = threadIdx.x;
    C[i] = A[i] + B[i]; }

int main() {
    ...
    double a[N], b[N], c[N];
    // Kernel Aufruf mit N Threads
    VektorAddition<<<1, N>>>(A, B, C);
    ...
}
```

Bevor man jedoch den Mehraufwand bei der Entwicklung eines parallel laufenden Algorithmus in Kauf nimmt, sollte man zunächst den theoretisch möglichen Geschwindigkeitsgewinn betrachten. Dazu nimmt man an, dass ein Algorithmus auf  $N$  Prozessoren parallelisiert werden soll, wobei ein Prozentsatz  $P$  des Algorithmus parallelisierbar sei. Vergleicht man nun die Laufzeit des parallelisierten Algorithmus mit dem sequentiell ausgeführten, so erhält man für den Geschwindigkeitszuwachs  $S$ :

$$S = \frac{1}{1 - P + P/N} \quad .$$

Obwohl eine genaue Berechnung nicht möglich ist, lohnt es sich dennoch eine Abschätzung des Geschwindigkeitszuwachses zu betrachten [122].

Es sei hier noch erwähnt, dass CUDA nur auf NVIDIA Grafikkarten ausführbar ist. Eine Alternative dazu ist OpenCL. OpenCL ist ein OpenSource-Projekt, das auf allen Grafikkarten unabhängig von deren Hersteller genutzt werden kann und die Portabilität sich nicht ausschließlich auf Grafikkarten beschränkt. Die Programmierplattform hat einen analogen Aufbau zu CUDA und unterscheidet sich nur in Details der Implementierung. Ein Unterschied besteht z. B. darin, dass das Programm bei OpenCL genau wissen muss, auf welcher Hardware es ausgeführt werden soll.

Der Trend hin zu mehr Parallelität wird sich weiter fortsetzen. Insofern wird es immer wichtiger, bei der Entwicklung eigener Programme diese Paradigmenveränderung zu berücksichtigen. Wenn man die Amortisationszeit der gesparten Kosten für die benötigte Rechenzeit berücksichtigt, lohnt sich auch schnell ein größerer Entwicklungsaufwand.





# Eidesstattliche Versicherung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet. Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem Verfahren zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt.

---

Ort, Datum

---

Alexander Dreher



# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all jenen Dank sagen, die wesentlich zum Entstehen dieser Dissertation beigetragen haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Karsten Kruse für die Möglichkeit, in seiner Arbeitsgruppe diese Dissertation anzufertigen. Nicht zuletzt durch die freundliche und engagierte Betreuung hat mir diese Arbeit viel Freude bereitet. Besonders zu schätzen weiß ich die vielen Diskussionen und Ideen, sowie die schnelle und konstruktive Durchsicht meiner Dissertation und unserer Veröffentlichungen.

Zudem möchte ich den übrigen Mitgliedern der Arbeitsgruppe, insbesondere Denis Johann, Dominic Jourdain und Philipp Zimmer, für die großartige Unterstützung und positive Arbeitsatmosphäre danken. Sie standen mir stets bei der Suche nach Lösungswegen mit Rat und Tat zur Seite. Besonderer Dank gilt Francine Jurecka und Andrea Dumont, die bei allen administrativen Problemen geholfen haben und Christian Hoffmann, mit dem man alle technischen Schwierigkeiten lösen konnte.

Mein Dank gehört auch meiner Familie, ohne die mir Vieles im Leben nicht möglich gewesen wäre, allen voran meinen Eltern Arnold und Margit und meinem Bruder Andreas, auf die ich mich immer verlassen konnte, die ständig ein großes Interesse an meiner Arbeit zeigten und mich unermüdlich tatkräftig unterstützten. Nicht weniger möchte ich meinem Freund Björn-Sascha danken, der mich bis hier her begleitet, mir den Rücken gestärkt und mir vor allem in der Endphase meiner Dissertation Mut zugesprochen hat.

Abschließend möchte ich all meinen Freunden danken, die mich während der Anfertigung der Dissertation immer moralisch unterstützt und mir zur Seite gestanden haben.



# Abbildungsverzeichnis

1.1	Eine wandernde Zelle aus dem Bindegewebe . . . . .	1
2.1	Die wesentlichen Bestandteile einer eukaryotischen Zelle . . . . .	6
2.2	Filamente des Zytoskeletts . . . . .	7
2.3	Verschiedene aktinhaltige Strukturen . . . . .	8
2.4	Aufbau von Aktinfilamenten . . . . .	10
2.5	Schematische Darstellung einer „ <i>Treadmilling</i> “-Dynamik . . . . .	11
2.6	Aktinbindende Proteine steuern die Eigenschaften und das Verhalten von Aktinfilamenten . . . . .	13
2.8	Aufbrechen von Aktinfilamenten bei Anwesenheit von Kofilin, Coronin und Aip1 . . . . .	14
2.9	Aufbau eines Tubulinheterodimers und Mikrotubuli . . . . .	15
2.10	Analyse der Mikrotubuli Krümmungsprofile . . . . .	16
2.11	Durchschnittliche Wachstumsgeschwindigkeit von Mikrotubuli als Funktion der Kraft . . . . .	17
2.12	Modell eines intermediären Filamentes . . . . .	18
2.13	Aufbau eines Motorproteins am Beispiel Myosin-II . . . . .	19
2.14	Prinzipielle Funktionsweise molekularer Motoren hier am Beispiel von Myosin-II dargestellt . . . . .	20
2.15	Dunkelfeldmikroskopie von Mikrotubuli-Mustern hervorgerufen durch Kinesin . . . . .	22
2.16	Selbstorganisation von Mikrotubuli und Motoren in Fisch-Melanophoren . . . . .	23
2.17	Elektronenmikroskopische Aufnahme einer mit <i>Listeria monocytogenes</i> infizierten Zelle . . . . .	24
2.18	Bewegungszyklus einer Zelle beim Kriechen über eine Unterlage . . . . .	25
2.19	Traktionskraft-Mikroskopie . . . . .	27
2.20	Aktinnetzwerk, gebildet durch den ARP2/3-Komplex in einer Keratozytzelle . . . . .	28
2.21	Kofilin im Lamellipodium eines Keratozyten . . . . .	29
2.22	p21-EGFP/LifeAct-mCherry Messungen an XTC-Zellen zeigen, dass die Zunahme in der Dichte von Arp2/3 der der Aktinfilamente vorausgeht . . . . .	29
2.23	Beispiele für <i>Blebbing</i> in Zellen . . . . .	30
2.24	Zellbewegung durch <i>Blebbing</i> . . . . .	31

2.25	Laufende Wellen im Raum-Zeit-Plot der Zellbewegung von <i>Dictyostelium discoideum</i> . . . . .	32
2.26	Fluoreszenzaufnahme von F-Aktin Wellenfronten in <i>Dictyostelium discoideum</i>	33
2.27	HL-60 Zellen erzeugen ausgehend von Hem-1 Spots laufende Wellen . . . .	33
2.28	Zelltrajektorien und -geschwindigkeiten . . . . .	34
2.29	Mittlere quadratische Verschiebung . . . . .	35
3.1	Numerische Lösung der Gleichungen eines aktiven polaren Fluids . . . . .	40
3.2	Numerische Simulationen eines Systems aus Mikrotubuli und Motoren . . . .	41
3.3	Darstellung einer Motor-basierten zwei Stäbchen-Wechselwirkung . . . . .	43
4.1	Schematische Darstellung der Freiheitsgrade eines Filamentes . . . . .	47
4.2	Relevante Prozesse der Dynamik der Nukleatoren . . . . .	53
4.3	Aktindynamik für verschiedene Werte von $\tilde{\omega}_d, \tilde{v}_a$ und $\tilde{n}_i^0$ . . . . .	54
4.4	Schnitt durch den in Abbildung 4.3 (a) gezeigten Zustand . . . . .	55
4.5	Polarisationsfeld $\mathbf{p}$ des in Abbildung 4.3 (b) gezeigten Zustands . . . . .	55
4.6	Phasenraum zu den Gleichungen (4.20)-(4.23) . . . . .	56
4.7	Aktindynamik zeigt Spirallösungen . . . . .	57
5.1	Schematische Darstellung der Dynamik im Innern der Zelle . . . . .	66
6.1	Symmetrischer Zustand der Aktin-Verteilung und Polarisation von Lösungen zu den Gleichungen (5.3)-(5.11) . . . . .	70
6.2	Diffusionsstrom der Aktinfilamente $T$ (blau) und der aktiven Nukleatoren $n_a$ (rot) sowie Phasenfeld $\psi$ (schwarz) im stationären, symmetrischen Zustand	70
6.3	Momentaufnahme eines gerichtet bewegten Zustands . . . . .	71
6.4	Momentaufnahme von Schnitten eines gerichtet bewegten Zustands . . . .	72
6.5	Aktindynamik im gerichteten Bewegungszustand . . . . .	72
6.6	Absolutwert der Geschwindigkeit der Zelle als Funktion der Zeit . . . . .	73
6.7	Trajektorie des Schwerpunkts einer Zelle . . . . .	74
6.8	Momentaufnahmen von Schnitten entlang der Symmetrieachse der in Abbildung 6.3 dargestellten gerichteten Bewegung . . . . .	75
6.9	Irreguläre Bewegung als Lösung der Gleichungen (5.3)-(5.11) . . . . .	76
6.10	Verteilung der Winkel $\varphi$ zwischen Tangentenvektoren an die Trajektorie der Bewegung und der x-Achse . . . . .	77
6.11	Polardiagramm und Verteilung der Geschwindigkeitsvektoren zur Trajektorie der irregulären Bewegung aus Abb. 6.9 . . . . .	77
6.12	Bewegungstrajektorie einer dendritischen Zelle . . . . .	78
6.13	Detailansicht eines Richtungswechsels in der Bewegungstrajektorie . . . .	80
6.14	Phasenraum zu den Gleichungen (5.3) und (5.8)-(5.11) . . . . .	81

---

6.15	Aktinverteilung und Polarisation der Lösungen zu Gleichungen (5.3)-(5.11)	82
6.16	Entsprechende Trajektorie des Schwerpunkts der Zelle . . . . .	83
6.17	Spirallösung bei Zellfläche $A_0\lambda^{-2} = 0,06$ . . . . .	84
6.18	Spiralwelle in einer <i>Dictyostelium discoideum</i> Zelle . . . . .	84
6.19	Abhängigkeit der Fläche $A$ der Zelle vom Parameter $\epsilon$ . . . . .	85
6.20	<i>Breather</i> -Zustand . . . . .	85
6.21	Zellfläche als Funktion von $D_\psi$ . . . . .	86
6.22	Aktinverteilung der Lösungen zu Gleichungen (5.3)-(5.11) für unterschiedliche Werte von $\tilde{\beta}$ . . . . .	87
7.1	Räumliche Darstellung der strukturierten Oberfläche mit rechteckigen Hindernissen, repräsentiert durch das Phasenfeld $\Psi$ (links) und Schnitt entlang der weißen Linie (rechts) . . . . .	91
7.2	Räumliche Darstellung der strukturierten Oberfläche mit kreisrunden Hindernissen, repräsentiert durch das Phasenfeld $\Psi$ (links) und Schnitt entlang der weißen Linie (rechts) . . . . .	91
7.3	Momentaufnahmen der Aktindichte $T$ als Lösung der Gleichungen (7.1)-(7.4)	92
7.4	Strukturierte PDMS-Oberfläche mit Stützsäulen . . . . .	93
7.5	Momentaufnahmen einer Animation der Verteilung von Aktin in einer kriechenden <i>Dictyostelium discoideum</i> Zelle auf einer strukturierten Oberfläche	93
7.6	Trajektorie, Polardiagramm und Winkelverteilung für die in Abb. 7.2 dargestellten Struktur . . . . .	94
7.7	Trajektorie, Polardiagramm und Winkelverteilung für die in Abb. 7.1 dargestellten Struktur . . . . .	95
7.8	Momentaufnahmen der Aktindichte $T$ als Lösung der Gleichungen (7.1)-(7.4)	95
8.1	Wechselwirkung einer sich gerichtet bewegenden Zelle mit einer festen Wand	100
C.1	Speicherhierarchie einer Grafikkarte . . . . .	112
C.2	Schritte der Berechnung auf der Grafikkarte mit Hilfe von CUDA . . . . .	113



# Literaturverzeichnis

- [1] HOOKE, R.: *Micrographia*. London, 1665
- [2] SCHLEIDEN, M.: Beiträge zur Phytogenesis. In: *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin* (1838), S. 137
- [3] SCHWANN, T. ; SCHLEIDEN, M.: *Microscopical researches into the accordance in the structure and growth of animals and plants*. London, 1847
- [4] FÄSSLER, R.: *Molekulare Medizin - Tätigkeitsbericht*. Max-Planck-Gesellschaft. 2004
- [5] SCHWARZ, E. C. ; QU, B. ; HOTH, M.: Calcium, cancer and killing: The role of calcium in killing cancer cells by cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells. In: *Biochim. Biophys. Acta. Mol. Cell. Res.* 1833 (2013) Nr. 7, S. 1603
- [6] WIESNER, C. ; FAIX, J. ; HIMMEL, M. ; BENTZIEN, F. ; LINDER, S.: KIF5B and KIF3A/KIF3B kinesins drive MT1-MMP surface exposure, CD44 shedding, and extracellular matrix degradation in primary macrophages. In: *Blood* 116 (2010) Nr. 9, S. 1559
- [7] KRUSE, K. ; JOANNY, J.-F. ; JÜLICHER, F. ; PROST, J. ; SEKIMOTO, K.: Asters, Vortices, and Rotating Spirals in Active Gels of Polar Filaments. In: *Phys. Rev. Lett.* 92 (2004) Nr. 7, S. 078101
- [8] JÜLICHER, F. ; KRUSE, K. ; PROST, J. ; JOANNY, J.-F.: Active Behavior of the Cytoskeleton. In: *Phys. Rep.* 449 (2007) Nr. 1–3, S. 3
- [9] LI, R. ; GUNDERSEN, G. G.: Beyond polymer polarity: how the cytoskeleton builds a polarized cell. In: *Nat. Rev. Mol. Cell Bio.* 9 (2008) Nr. 11, S. 860
- [10] BRETSCHNEIDER, T. ; DIEZ, S. ; ANDERSON, K. ; HEUSER, J. ; CLARKE, M. ; MÜLLER-TAUBENBERGER, A. ; KÖHLER, J. ; GERISCH, G.: Dynamic Actin Patterns and Arp2/3 Assembly at the Substrate-Attached Surface of Motile Cells. In: *Curr. Biol.* 14 (2004) Nr. 1, S. 1
- [11] RYAN, G. L. ; PETROCCHIA, H. M. ; WATANABE, N. ; VAVYLONIS, D.: Excitable Actin Dynamics in Lamellipodial Protrusion and Retraction. In: *Biophys. J.* 102 (2012) Nr. 7, S. 1493

- [12] MILLIUS, A. ; DANDEKAR, S. N. ; HOUK, A. R. ; WEINER, O. D.: Neutrophils establish rapid and robust WAVE complex polarity in an actin-dependent fashion. In: *Curr. Biol.* 19 (2009) Nr. 3, S. 253
- [13] VICKER, M. G.: Eukaryotic Cell Locomotion Depends on the Propagation of Self-Organized Reaction-Diffusion Waves and Oscillations of Actin Filament Assembly. In: *Exp. Cell. Res.* 275 (2002) Nr. 1, S. 54
- [14] VICKER, M. G.: F-actin assembly in Dictyostelium cell locomotion and shape oscillations propagates as a self-organized reaction-diffusion wave. In: *FEBS Lett.* 510 (2002) Nr. 1–2, S. 5
- [15] WEINER, O. D. ; MARGANSKI, W. A. ; WU, L. F. ; ALTSCHULER, S. J. ; KIRSCHNER, M. W.: An Actin-Based Wave Generator Organizes Cell Motility. In: *Plos Biol.* 5 (2007) Nr. 9, S. 2053
- [16] CARLSSON, A. E.: Actin Dynamics: From Nanoscale to Microscale. In: *Annu. Rev. Biophys.* 39 (2010), S. 91
- [17] DOUBROVINSKI, K. ; KRUSE, K.: Self-Organization of Treadmilling Filaments. In: *Phys. Rev. Lett.* 99 (2007) Nr. 22, S. 228104
- [18] DOUBROVINSKI, K. ; KRUSE, K.: Self-organization in systems of treadmilling filaments. In: *Eur. Phys. J. E* 31 (2010) Nr. 1, S. 95
- [19] WHITELAM, S. ; BRETSCHEIDER, T. ; BURROUGHS, N. J.: Transformation from Spots to Waves in a Model of Actin Pattern Formation. In: *Phys. Rev. Lett.* 102 (2009) Nr. 19, S. 198103
- [20] KARP, G.: *Molekulare Zellbiologie*. 1. Auflage. Springer-Verlag, Berlin, 2005
- [21] ALBERTS, B. ; JOHNSON, A. ; LEWIS, J. ; RAFF, M. ; ROBERTS, K. ; WALTER, P.: *Molecular Biology of the Cell*. 5. Auflage. Garland Science, New York, 2008
- [22] ALBERTS, B. ; DENNIS, B. ; KAREN, H. ; JOHNSON, A. ; LEWIS, J. ; RAFF, M. ; ROBERTS, K. ; WALTER, P.: *Essential Cell Biology*. 3. Auflage. Garland Science, New York, 2010
- [23] LODISCH, H. ; BERK, A. ; MATSUDAIRA, P. ; KAISER, C. A. ; KRIEGER, M. ; SCOTT, M. P. ; ZIPURSKY, S. L. ; DARNELL, J.: *Molecular Cell Biology*. 5. Auflage. W. H. Freeman und Company, 2004
- [24] GÜNTHER, S. ; KRUSE, K.: Spontaneous waves in muscle fibres. In: *New J. Phys.* (2007) Nr. 9, S. 417
- [25] OTT, A. ; MAGNASCO, M. ; SIMON, A. ; LIBCHABER, A.: Measurement of the persistence length of polymerized actin using fluorescence microscopy. In: *Phys. Rev. E* 48 (1993) Nr. 3, R1642

- 
- [26] ERLenkÄMPER, C. ; KRUSE, K.: Treadmilling and length distributions of active polar filaments. In: *J. Chem. Phys.* 139 (2013) Nr. 16, S. 164907
- [27] DOUBROVINSKI, K.: *Physical Approaches to Cytoskeletal Self-Organization*. Diss. Universität des Saarlandes, 2008
- [28] ERLenkÄMPER, C.: *Stochastische Beschreibung dynamischer Biopolymere*. Diss. Universität des Saarlandes, 2012
- [29] POLLARD, T. D. ; MOOSEKER, M. S.: Direct measurement of actin polymerization rate constants by electron microscopy of actin filaments nucleated by isolated microvillus cores. In: *J. Cell Biol.* 88 (1981) Nr. 3, S. 654
- [30] BINDSCHADLER, M.: Modeling actin dynamics. In: *WIREs Syst. Biol. Med.* 2 (2010) Nr. 4, S. 481
- [31] ERLenkÄMPER, C. ; KRUSE, K.: Uncorrelated changes of subunit stability can generate length-dependent disassembly of treadmilling filaments. In: *Phys. Biol.* 6 (2009) Nr. 4, S. 046016
- [32] KUEH, H. Y. ; BRIEHER, W. M. ; MITCHISON, T. J.: Dynamic stabilization of actin filaments. In: *PNAS* 105 (2008) Nr. 43, S. 16531
- [33] GOLDSCHMIDT-CLERMONT, P. J. ; FURMAN, M. I. ; WACHSSTOCK, D. ; SAFER, D. ; NACHMIAS, V. T. ; POLLARD, T. D.: The control of actin nucleotide exchange by thymosin beta 4 and profilin. A potential regulatory mechanism for actin polymerization in cells. In: *Mol. Biol. Cell* 3 (1992) Nr. 9, S. 1015
- [34] CARLSSON, L. ; NYSTRÖM, L.-E. ; SUNDKVIST, I. ; MARKEY, F. ; LINDBERG, U.: Actin polymerizability is influenced by profilin, a low molecular weight protein in non-muscle cells. In: *J. Mol. Biol.* 115 (1977) Nr. 3, S. 465
- [35] ERLenkÄMPER, C. ; JOHANN, D. ; KRUSE, K.: Impact of motor molecules on the dynamics of treadmilling filaments. In: *Phys. Rev. E* 86 (2012) Nr. 5, S. 051906
- [36] JOHANN, D. ; ERLenkÄMPER, C. ; KRUSE, K.: Length Regulation of Active Biopolymers by Molecular Motors. In: *Phys. Rev. Lett.* 108 (2012) Nr. 25, S. 258103
- [37] MONROE, D.: How Cells Regulate the Length of Filaments. In: *Physics* 5 (2012), S. 69
- [38] KUEH, H. Y. ; CHARRAS, G. T. ; MITCHISON, T. J. ; BRIEHER, W. M.: Actin disassembly by cofilin, coronin and Aip1 occurs in bursts and is inhibited by barbed-end cappers. In: *J. Cell Biol.* 182 (2008) Nr. 2, S. 341
- [39] PESKIN, C. S. ; ODELL, G. M. ; OSTER, G.: Cellular Motions and Thermal Fluctuations: The Brownian Ratchet. In: *Biophys. J.* 65 (1993) Nr. 1, S. 316

- [40] MOGILNER, A. ; OSTER, G.: Cell motility driven by actin polymerization. In: *Biophys. J.* 71 (1996) Nr. 6, S. 3030
- [41] GITTES, F. ; MICKEY, B. ; NETTLETON, J. ; HOWARD, J.: Flexural rigidity of microtubules and actin filaments measured from thermal fluctuations in shape. In: *J. Cell Biol.* 120 (1993) Nr. 4, S. 923
- [42] INOUÉ, S. ; SALMON, E. D.: Force generation by microtubule assembly/disassembly in mitosis and related movements. In: *Mol. Biol. Cell* 6 (1995) Nr. 12, S. 1619
- [43] DOGTEROM, M. ; YURKE, B.: Measurement of the Force-Velocity Relation for Growing Microtubules. In: *Science* 278 (1997) Nr. 5339, S. 856
- [44] ALBERS, K. ; FUCHS, E.: The Molecular Biology of Intermediate Filament Proteins. In: *Int. Rev. Cytol.* 134 (1992), S. 243
- [45] ISHIJIMA, A. ; DOI, T. ; SAKURADA, K. ; YANAGIDA, T.: Sub-piconewton force fluctuations of actomyosin in vitro. In: *Nature* 352 (1991) Nr. 6333, S. 301
- [46] GEEVES, M. A. ; HOLMES, K. C.: Structural mechanism of muscle contraction. In: *Annu. Rev. Biochem.* 68 (1999) Nr. 1, S. 687
- [47] SURREY, T. ; NÉDÉLEC, F. ; LEIBLER, S. ; KARSENTI, E.: Physical properties determining selforganization of motors and microtubules. In: *Science* 292 (2001) Nr. 5519, S. 1167
- [48] BACKOUCHE, F. ; HAVIV, L. ; GROSWASSER, D. ; BERNHEIM-GROSWASSER, A.: Active gels: dynamics of patterning and self-organization. In: *Phys. Biol.* 3 (2006) Nr. 4, S. 264
- [49] NÉDÉLEC, F. ; SURREY, T. ; MAGGS, A. ; LEIBLER, S.: Self-organization of microtubules and motors. In: *Nature* 389 (1997) Nr. 6648, S. 305
- [50] RODIONOV, V. I. ; BORISY, G. G.: Self-centring activity of cytoplasm. In: *Nature* 386 (1997) Nr. 6621, S. 170
- [51] RODIONOV, V. I. ; BORISY, G. G.: Microtubule Treadmilling in Vivo. In: *Science* 275 (1997) Nr. 5297, S. 215
- [52] TILNEY, L. G. ; TILNEY, M. S.: The wily ways of a parasite: induction of actin assembly by *Listeria*. In: *Trends Microbiol.* 1 (1993) Nr. 1, S. 25
- [53] MOGILNER, A. ; OSTER, G.: Force Generation by Actin Polymerization II: The Elastic Ratchet and Thethered Filaments. In: *Biophys. J.* 84 (2003) Nr. 3, S. 1591
- [54] SMITH, S. J.: Neuronal cytom mechanics: the actin-based motility of growth cones. In: *Science* 242 (1988) Nr. 4879, S. 708
- [55] SMALL, J. ; STRADAL, T. ; VIGNAL, E. ; ROTTNER, K.: The lamellipodium: where motility begins. In: *Trends Cell Biol.* 12 (2002) Nr. 3, S. 112

- [56] LOMBARDI, M. L. ; KNECHT, D. A. ; DEMBO, M. ; LEE, J.: Traction force microscopy in Dictyostelium reveals distinct roles for myosin II motor and actin-crosslinking activity in polarized cell movement. In: *J. Cell Sci.* 120 (2007) Nr. 9, S. 1624
- [57] SCHWARZ, U. S. ; GARDEL, M. L.: United we stand – integrating the actin cytoskeleton and cell–matrix adhesions in cellular mechanotransduction. In: *J. Cell Sci.* 125 (2012) Nr. 13, S. 3051
- [58] TAN, J. L. ; TIEN, J. ; PIRONE, D. M. ; GRAY, D. S. ; BHADRIRAJU, K. ; CHEN, C. S.: Cells lying on a bed of microneedles: An approach to isolate mechanical force. In: *PNAS* 100 (2003) Nr. 4, S. 1484
- [59] SVITKINA, T. M. ; VERKHOVSKY, A. B. ; MCQUADE, K. M. ; BORISY, G. G.: Analysis of the actin-myosin II system in fish epidermal keratocytes: mechanism of cell body translocation. In: *J. Cell Biol.* 139 (1997) Nr. 2, S. 397
- [60] SVITKINA, T. M. ; BORISY, G. G.: Arp2/3 Complex and Actin Depolymerizing Factor/Cofilin in Dendritic Organization and Treadmilling of Actin Filament Array in Lamellipodia. In: *J. Cell Biol.* 145 (1999) Nr. 5, S. 1009
- [61] HIGGS, H. N. ; POLLARD, T. D.: Regulation of Actin Filament Network Formation Through ARP2/3 Complex. In: *Annu. Rev. Biochem.* 70 (2001) Nr. 1, S. 649
- [62] PANTALONI, D. ; CLAINCHE, C. L. ; CARLIER, M.-F.: Mechanism of Actin-Based Motility. In: *Science* 292 (2001) Nr. 5521, S. 1502
- [63] VERKHOVSKY, A. B. ; SVITKINA, T. M. ; BORISY, G. G.: Self-polarization and directional motility of cytoplasm. In: *Curr. Biol.* 9 (1999) Nr. 1, S. 11
- [64] MEINHARDT, H. ; ALFRED, G.: Pattern formation by local self-activation and lateral inhibition. In: *BioEssays* 22 (2000), S. 753
- [65] PALUCH, E.: Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. In: *Nature* 9 (2008) Nr. 9, S. 730
- [66] KESSIN, R. H.: *Dictyostelium: evolution, cell biology and the development of multicellularity*. 1. edition. Cambridge University Press, 2001
- [67] IGLESIAS, P. A. ; DEVREOTES, P. N.: Navigating through models of chemotaxis. In: *Curr. Opin. Cell Biol.* 20 (2008) Nr. 1, S. 35
- [68] KILLICH, T. ; PLATH, P. J. ; WEI, X. ; BULTMANN, H. ; RENSING, L. ; VICKER, M. G.: The locomotion, shape and pseudopodial dynamics of unstimulated Dictyostelium cells are not random. In: *J. Cell Sci.* 106 (1993) Nr. 4, S. 1005
- [69] VICKER, M. G.: Reaction-diffusion waves of actin filament polymerization/depolymerization in Dictyostelium pseudopodium extension and cell locomotion. In: *Biophys. Chem.* 84 (2000) Nr. 2, S. 87

- [70] BRETSCHNEIDER, T. ; JONKMANN, J. ; KÖHLER, J. ; MEDALIA, O. ; BARISIC, k. ; WEBER, I. ; STELZER, E. ; BAUMEISTER, W. ; GERISCH, G.: Dynamic organization of the actin system in the motile cells of Dictyostelium. In: *J. Muscle Res. Cell Motil.* 23 (2002) Nr. 7-8, S. 639
- [71] LI, L. ; NØRRELYKKE, S. F. ; COX, E. C.: Persistent Cell Motion in the Absence of External Signals: A Search Strategy for Eukaryotic Cells. In: *PLoS ONE* 3 (2008) Nr. 5
- [72] KRUSE, K. ; JOANNY, J.-F. ; JÜLICHER, F. ; PROST, J.: Contractility and retrograde flow in lamellipodium motion. In: *Phys. Biol.* 3 (2006) Nr. 2, S. 130
- [73] KRUSE, K. ; JOANNY, J.-F. ; JÜLICHER, F. ; PROST, J. ; SEKIMOTO, K.: Generic theory of active polar gels: a paradigm for cytoskeletal dynamics. In: *Eur. Phys. J. E* 16 (2005) Nr. 1, S. 5
- [74] FÜRTHAUER, S. ; NEEF, M. ; GRILL, S. W. ; KRUSE, K. ; JÜLICHER, F.: The Taylor-Couette motor: spontaneous flows of active polar fluids between two coaxial cylinders. In: *New J. Phys.* 14 (2012) Nr. 2, S. 023001
- [75] GROOT, S. R. de ; MAZUR, P.: *Non-Equilibrium Thermodynamics*. North Holland Publishing Co. Amsterdam, 1962
- [76] GENNES, P.-G. de ; PROST, J.: *The physics of liquid crystals*. 2. Auflage. Oxford: Clarendon Press, 1998
- [77] NÉDÉLEC, F.: Computer simulations reveal motor properties generating stable antiparallel microtubule interactions. In: *J. Cell Biol.* 158 (2002) Nr. 6, S. 1005
- [78] NÉDÉLEC, F. ; SURREY, T.: Dynamics of microtubule aster formation by motor complexes. In: *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IV - Physics* 2 (2001) Nr. 6, S. 841
- [79] ARANSON, I. S. ; TSIMRING, L. S.: Pattern formation of microtubules and motors: Inelastic interaction of polar rods. In: *Phys. Rev. E* 71 (2005) Nr. 5, S. 050901
- [80] KRUSE, K. ; JÜLICHER, F.: Actively contracting bundles of polar filaments. In: *Phys. Rev. Lett.* 85 (2000) Nr. 8, S. 1778
- [81] KRUSE, K. ; JÜLICHER, F.: Self-organization and mechanical properties of active filament bundles. In: *Phys. Rev. E* 67 (2003) Nr. 5, S. 051913
- [82] KRUSE, K. ; JÜLICHER, F.: Dynamics and mechanics of motor-filament systems. In: *Eur. Phys. J. E* 20 (2006) Nr. 4, S. 459
- [83] LIVERPOOL, T. B. ; MARCETTI, M. C.: Instabilities of Isotropic Solutions of Active Polar Filaments. In: *Phys. Rev. Lett.* 90 (2003) Nr. 13, S. 138102

- 
- [84] LIVERPOOL, T. B. ; MARCHETTI, M. C.: Bridging the microscopic and the hydrodynamic in active filament solutions. In: *Europhys. Lett.* 69 (2005) Nr. 5, S. 846
- [85] DOUBROVINSKI, K. ; KRUSE, K.: Cell motility resulting from spontaneous polymerization waves. In: *Phys. Rev. Lett.* 107 (2011) Nr. 25, S. 258103
- [86] DOUBROVINSKI, K. ; KRUSE, K.: Cytoskeletal waves in the absence of molecular motors. In: *Europhys. Lett.* 83 (2008) Nr. 1, S. 18003
- [87] POLLARD, T. D. ; BORISY, G. G.: Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. In: *Cell* 112 (2003) Nr. 4, S. 453
- [88] FUJIWARA, I. ; VAVYLONIS, D. ; POLLARD, T. D.: Polymerization kinetics of ADP- and ADP-Pi-actin determined by fluorescence microscopy. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104 (2007) Nr. 21, S. 8827
- [89] JÉGOU, A. ; NIEDERMAYER, T. ; ORBÁN, J. ; DIDRY, D. ; LIPOWSKY, R. ; CARLIER, M.-F. ; ROMET-LEMONNE, G.: Individual Actin Filaments in a Microfluidic Flow Reveal the Mechanism of ATP Hydrolysis and Give Insight Into the Properties of Profilin. In: *Plos Biol.* 9 (2011) Nr. 9
- [90] FRITZSCHE, M. ; LEWALLE, A. ; DUKE, T. ; KRUSE, K. ; CHARRAS, G.: Analysis of turnover dynamics of the submembranous actin cortex. In: *Mol. Biol. Cell* 24 (2013) Nr. 6, S. 757
- [91] GERISCH, G. ; BRETSCHNEIDER, T. ; MULLER-TAUBENBERGER, A. ; SIMMETH, E. ; ECKE, M. ; DIEZ, S. ; ANDERSON, K.: Mobile actin clusters and traveling waves in cells recovering from actin depolymerization. In: *Biophys. J.* 87 (2004) Nr. 5, S. 3493
- [92] GERHARDT, M. ; ECKE, M. ; WALZ, M. ; STENGL, A. ; BETA, C. ; GERISCH, G.: Actin and PIP3 waves in giant cells reveal the inherent length scale of an excited state. In: *J. Cell Sci.* (Accepted manuscript) (2014)
- [93] CARLSSON, A. E.: Dendritic actin filament nucleation causes traveling waves and patches. In: *Phys. Rev. Lett.* 104 (2010) Nr. 22, S. 228102
- [94] LE GUYADER, H. ; HYVER, C.: Periodic activity of the cortical cytoskeleton of the lymphoblast: modelling by a reaction-diffusion system. In: *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 320 (1997) Nr. 1, S. 59
- [95] ZIEBERT, F. ; ARANSON, I.: Effects of adhesion dynamics and substrate compliance on the shape and motility of crawling cells. In: *PLoS ONE* 8 (2013) Nr. 5, e64511
- [96] ZIEBERT, F. ; SWAMINATHAN, S. ; ARANSON, I.: Model for self-polarization and motility of keratocyte fragments. In: *J. R. Soc. Interface* 9 (2012) Nr. 70, S. 1084

- [97] SHAO, D. ; LEVINE, H. ; RAPPEL, W.-J.: Coupling actin flow, adhesion, and morphology in a computational cell motility model. In: *PNAS* 109 (2012) Nr. 18, S. 6851
- [98] SHAO, D. ; RAPPEL, W.-J. ; LEVINE, H.: Computational model for cell morphodynamics. In: *Phys. Rev. Lett.* 105 (2010) Nr. 10, S. 108104
- [99] DREHER, A. ; ARANSON, I. ; KRUSE, K.: Spiral actin-polymerization waves can generate amoeboidal cell crawling. In: *New J. Phys.* 16 (2014) Nr. 5, S. 55007
- [100] NAJEM, S. ; GRANT, M.: Phase-field approach to chemotactic driving of neutrophil morphodynamics. In: *Phys. Rev. E* 88 (2013) Nr. 3, S. 034702
- [101] LOWENGRUB, J. S. ; RÄTZ, A. ; VOIGT, A.: Phase-field modeling of the dynamics of multicomponent vesicles: Spinodal decomposition, coarsening, budding, and fission. In: *Phys. Rev. E Stat. Nonlinear Soft Matter Phys.* 79 (2009) Nr. 3, S. 031926
- [102] DU, Q. ; LIU, C. ; WANG, X.: A phase field approach in the numerical study of the elastic bending energy for vesicle membranes. In: *J. Comput. Phys.* 198 (2004) Nr. 7, S. 450
- [103] LÖBER, J. ; ZIEBERT, F. ; ARANSON, I.: Modeling crawling cell movement on soft engineered substrates. In: *Soft Matter* 10 (2014) Nr. 9, S. 1365
- [104] CAMLEY, B. A. ; ZHAO, Y. ; LI, B. ; LEVINE, H. ; RAPPEL, W.-J.: Periodic migration in a physical model of cells on micropatterns. In: *Phys. Rev. Lett.* 111 (2013) Nr. 15, S. 158102
- [105] OSHER, S. ; FEDKIW, R. P.: Level Set Methods: An Overview and Some Recent Results. In: *J. Comput. Phys.* 169 (2001) Nr. 2, S. 463
- [106] BIBEN, T. ; MISBAH, C.: Tumbling of vesicles under shear flow within an advected-field approach. In: *Phys. Rev. E* 67 (2003) Nr. 3, S. 031908
- [107] DU, Q. ; LIU, C. ; WANG, X.: Simulating the deformation of vesicle membranes under elastic bending energy in three dimensions. In: *J. Comput. Phys.* 212 (2006) Nr. 2, S. 757
- [108] GHOLAMI, A. ; ENCULESCU, M. ; FALCKE, M.: Membrane waves driven by forces from actin filaments. In: *New J. Phys.* 14 (2012) Nr. 11
- [109] SHENDEROV, A. D. ; SHEETZ, M. P.: Inversely correlated cycles in speed and turning in an ameba: an oscillatory model of cell locomotion. In: *Biophys. J.* 72 (1997) Nr. 5, S. 2382
- [110] MANDEVILLE, J. T. ; GHOSH, R. N. ; MAXFIELD, F. R.: Intracellular calcium levels correlate with speed and persistent forward motion in migrating neutrophils. In: *Biophys. J.* 68 (1995) Nr. 4, S. 1207

- 
- [111] LAUTENSCHLÄGER, F.: *persönliche Unterhaltung*
- [112] BÄR, M. ; EISWIRTH, M.: Turbulence due to spiral breakup in a continuous excitable medium. In: *Phys. Rev. E: Stat. Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdisciplin. Top.* 48 (1993) Nr. 3, R1635
- [113] ARANSON, I. ; LEVINE, H. ; TSIMRING, L.: Spiral competition in three-component excitable media. In: *Phys. Rev. Lett.* 76 (1996) Nr. 7, S. 1170
- [114] ARANSON, I. ; KRAMER, L. ; WEBER, A.: Core instability and spatiotemporal intermittency of spiral waves in oscillatory media. In: *Phys. Rev. Lett.* 72 (1994) Nr. 15, S. 2316
- [115] ARANSON, I. ; KRAMER, L.: The world of the complex Ginzburg-Landau equation. In: *Rev. Mod. Phys.* 74 (2002) Nr. 1, S. 99
- [116] BETA, C.: *persönliche Unterhaltung*
- [117] HEINRICH, D.: *persönliche Unterhaltung*
- [118] MARCHAND, J.-B. ; MOREAU, P. ; PAOLETTI, A. ; COSSART, P. ; CARLIER, M.-F.: Actin-based Movement of *Listeria Monocytogenes*: Actin Assembly Results from the Local Maintenance of Uncapped Filament Barbed Ends at the Bacterium Surface. In: *J. Cell Biol.* 130 (1995) Nr. 2, S. 331
- [119] KUMMEROW, C. ; JUNKER, C. ; KRUSE, K. ; RIEGER, H. ; QUINTANA, A. ; HOTH, M.: The immunological synapse controls local and global calcium signals in T lymphocytes. In: *Immunol. Rev.* 231 (2009) Nr. 1, S. 132
- [120] DAVIS, M. M. ; BJORKMANN, P. J.: T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition. In: *Nature* 334 (1988) Nr. 4, S. 395
- [121] VIRET, C. ; JANEWAY, C. A.: MHC and T cell development. In: *Rev. Immunogenet.* 1 (1999) Nr. 1, S. 91
- [122] NVIDIA: *CUDA C Programming Guide*. NVIDIA, 2013
- [123] DAVID, K. ; WEN-MEI, W. H.: *Programming massively parallel processors: a hands-on approach*. 2. Auflage. Elsevier, Amsterdam und Heidelberg, 2013

