

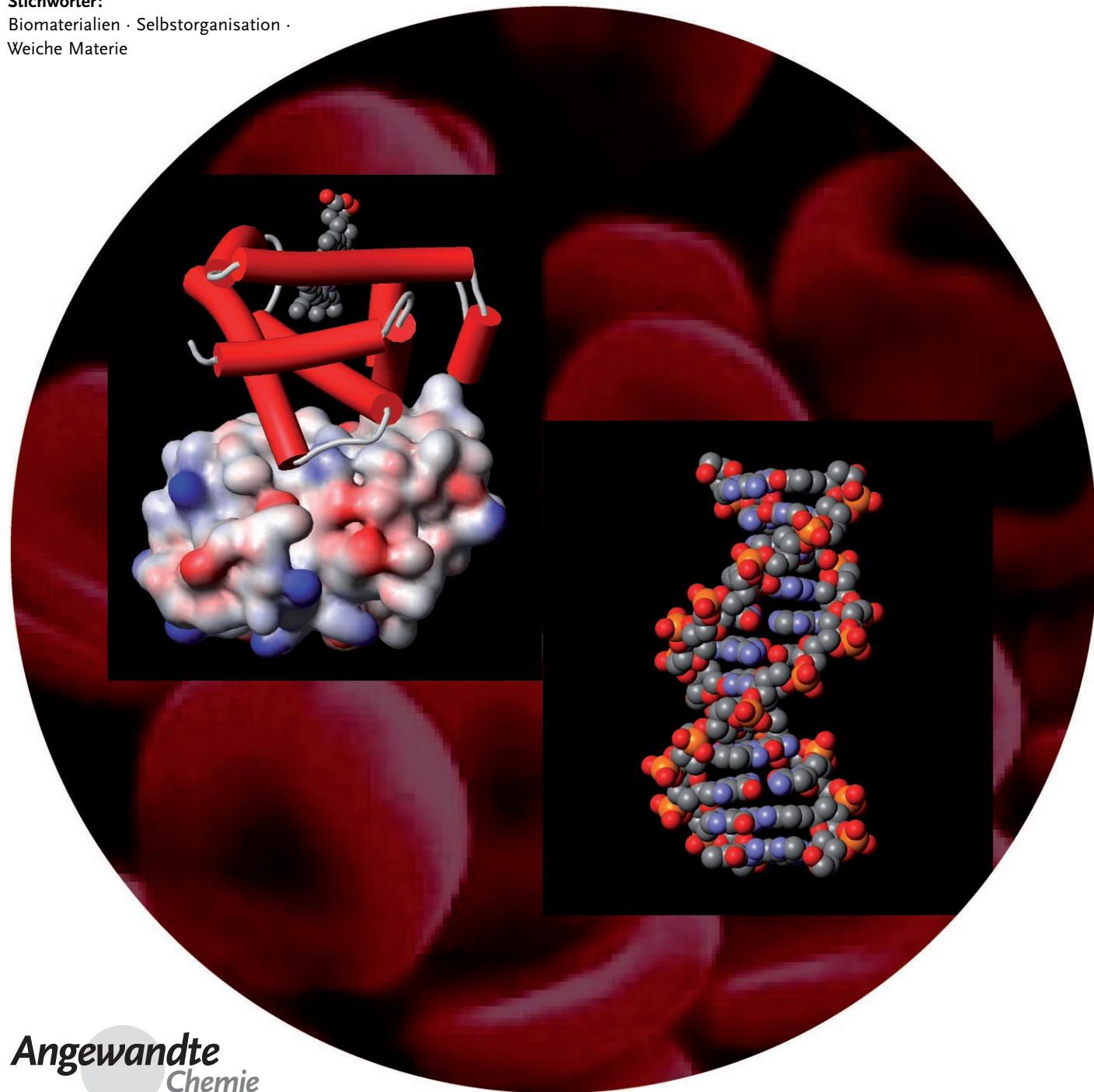
Biologische weiche Materialien

Ian W. Hamley* und Valeria Castelletto

Stichwörter:

Biomaterialien · Selbstorganisation ·

Weiche Materie



Mit einer oder zwei Ausnahmen sind Biomaterialien „weich“, das bedeutet, sie verbinden visköse und elastische Eigenschaften. Dieses mechanische Verhalten wird durch die Bildung selbstorganisierter supramolekularer Strukturen hervorgerufen, die durch nichtkovalente Wechselwirkungen stabilisiert sind. Es ist eine grundlegende Herausforderung, die Selbstorganisation von Biomaterialien zu verstehen. In vielen Fällen können Konzepte aus der Physik und Chemie weicher Materie, die ursprünglich für Kolloide, Polymere, oberflächenaktive Substanzen, Flüssigkristalle und ähnliches entwickelt wurden, auf die Biologie übertragen werden. Mit diesem Ansatz ist es möglich, so verschiedene Phänomene wie die DNA-Kondensation, die Fibrillenbildung durch Proteine und Peptide, die Trennung von Lipiden in Schollen, die Fusion oder die Knospung von Vesikeln aus einer neuen Perspektive zu betrachten.

1. Einleitung

Dieser Aufsatz konzentriert sich auf ausgewählte Forschungsergebnisse zu biologischen weichen Materialien. Wir möchten dabei zeigen, wie sich Konzepte der Physik und der physikalischen Chemie weicher Materie auf biologische Probleme anwenden lassen. Das ist nicht das Gleiche wie biologische Physik, Biophysik oder Biochemie. Was ist „weiche Materie“? Diese Frage wurde bereits ausführlich diskutiert.^[1-6] Systeme aus weicher Materie, die auch als komplexe oder strukturierte Flüssigkeiten bezeichnet werden, verfügen über Fließeigenschaften, die zwischen denen eines kristallinen Feststoffs und einer Flüssigkeit liegen (daher „weich“). Selbstorganisation ist eine weitere wichtige Eigenschaft vieler weicher Materialien. Dabei entstehen oft geordnete Strukturen mit einer hierarchischen Molekülordnung, die auf nichtkovalenten Wechselwirkungen wie Wasserstoffbrücken oder abgeschirmten elektrostatischen Kräften beruht.

Auch wenn man fast alle Biomaterialien dieser Definition zufolge als „weiche Materie“ klassifizieren könnte, möchten wir die Biologie selbstverständlich nicht als reine Materialwissenschaft verstanden wissen. Vielmehr glauben wir, dass Konzepte aus der Polymerphysik, der physikalischen Chemie der Kolloide und der Selbstorganisation von Amphiphilen wichtige Einblicke beispielsweise in die Bildung von Fibrillen, die Proteinkristallisation oder die Struktur und Stabilität von Membranen eröffnen können. Diese und andere Beispiele werden im Folgenden behandelt. Die Liste ist zwar nicht vollständig, doch werden die wichtigsten aktuellen Themen diskutiert.

Unser Aufsatz beschränkt sich auf weiche Materie aus Lipiden, Nucleinsäuren, Proteinen oder Zellen. Auf die faszinierenden physikalischen und chemischen Eigenschaften anderer weicher biologischer Materialien wie Polysaccharide, die als kammförmige Makromoleküle besonders interessante rheologische Eigenschaften aufweisen, oder pflanzlicher Biomoleküle auf Cellulosebasis gehen wir nicht ein, ebenso wenig auf das wichtige Thema der Proteinfaltung, das nach

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	4525
2. Biologische weiche Materialien: aktuelle Teilgebiete	4525
3. Schlussfolgerungen	4535

unserer Auffassung zur Biophysik gehört, oder auf die Komplexe von Proteinen mit Nucleinsäuren oder Lipiden.

Wir beginnen unsere Übersicht auf der Ebene molekularer selbstorganisierter Lipidstrukturen und gehen dann in einem logischen Aufbau zu größeren und komplexeren Strukturen über, um am Ende zu ganzen Zellen zu gelangen.

2. Biologische weiche Materialien: aktuelle Teilgebiete

2.1. Lipidschollen

Lipidschollen („lipid rafts“, Abbildung 1) sind Domänen, die eine eigene Phase (typischer Durchmesser < 10 nm) innerhalb von Lipidmembranen bilden.^[7] Sie sind reich an Sphingolipiden (Derivate der langketigen Aminoalkohole Sphingosin und Dihydrosphingosin) und Cholesterin und sind

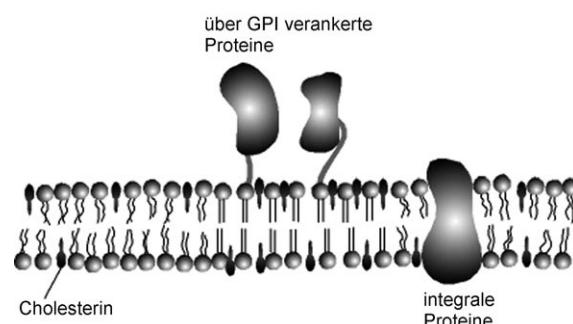


Abbildung 1. Struktur von Lipidschollen. Die zentrale Domäne der Scholle enthält Lipide in geordneter Flüssigphase, in der die Seitenketten gestreckt sind. Diese Domäne ist auch reich an Cholesterin. Viele unterschiedliche Proteine werden an solche Domänen gebunden.

[*] Prof. I. W. Hamley, Dr. V. Castelletto

Department of Chemistry
University of Reading
Reading, Berkshire, RG6 6AD (Großbritannien)
Fax: (+44) 118-378-8450
E-Mail: i.w.hamley@reading.ac.uk

typischerweise in kalten, nichtionischen Detergentien unlöslich.^[8–10] Eine striktere Definition wurde kürzlich aufgestellt:^[11,12] „Membranschollen sind kleine (10–200 nm) heterogene, dynamische, sterol- und sphingolipidangereicherte Domänen, die zelluläre Vorgänge räumlich trennen.“ Kleine Schollen werden manchmal über Protein-Protein-Wechselwirkungen und Protein-Lipid-Wechselwirkungen in größeren Plattformen zusammengehalten. Vielfältige weitere Membranheterogenitäten mit anderer Lipidzusammensetzung und Ursache werden als „non-raft“-Domänen bezeichnet.^[12] Lipidschollen sind oft in Detergentien unlösliche oder detergensresistente Regionen innerhalb von Membranen. Die Lipide in den Schollen liegen vermutlich in der geordneten Flüssigphase I_o vor.^[8–10,13] Ihre Acylketten sind parallel ausgerichtet und wie in der Gelphase (unterhalb der Schmelztemperatur des Lipids) angeordnet, verfügen aber über eine große Beweglichkeit innerhalb der Membran. Im Unterschied zur ungeordneten Flüssigphase I_d spricht man hier auch von einer flüssigkristallinen Phase I_c . Der hohe Schmelzpunkt der Sphingolipide ermöglicht ihnen, geordnete Assoziate zu bilden, die von den Phospholipid-Doppelschichten mit niedrigerem Schmelzpunkt getrennt sind.

Viele Proteinarten gehen mit Lipidschollen Wechselwirkungen ein, besonders solche, die mit gesättigten Lipiddervaten wie Glycosylphosphatidylinosit (GPI) modifiziert sind, denn die Lipide verankern die Proteine in der Membran. Viele Signal- und Rezeptorproteine sind so modifiziert, was auf die Bedeutung von Lipidschollen für die Signaltransduktion hinweist.^[14,15] Auch Viren können diese Rezeptor-Signalwege benutzen, indem sie an die entsprechenden Proteine in den Lipidschollen binden. Daher spielen Lipidschollen möglicherweise eine Rolle bei der Übertragung mancher Infektionskrankheiten.^[8,15]

Auch an Prozessen wie der Endo-^[16] und Exozytose^[17] und dem Vesikeltransport (innerhalb der Zelle) sind Lipidschollen wahrscheinlich beteiligt (siehe Abschnitt 2.2). Exozytose nennt man die Fusion intrazellulärer flüssigkeitsgefüllter Vesikel mit einer Zellmembran. Endozytose beschreibt das Einfangen externer Partikel, indem die Zellmembran um sie herumgelegt und dann nach innen abgeschnürt wird, sodass ein intrazelluläres Vesikel entsteht. In all diesen Vorgängen unterstützen Lipidschollen das Abschnüren von Vesikeln oder die Fusion mit der Membran, indem durch die laterale Phasentrennung der Lipide mit ihren unterschiedlich ge-

packten Acylketten Regionen erhöhter Membrankrümmung angeboten werden.^[18]

2.2. Membranfusion

Der Fusionsmechanismus für biologische Membranen hängt davon ab, ob der Vorgang intrazellulär, interzellulär oder mit einer viralen Membran abläuft. Die Kompartimentierung der Organellen in eukaryotischen Zellen beruht auf der Integrität der Lipidmembranen; daher sind intrazelluläre Fusionsprozesse intensiv untersucht worden. In der Zelle müssen Moleküle zwischen verschiedenen Organellen weitergegeben werden, ohne die Membranen zu schädigen. Der Vorgang wird durch SNARE-Proteine vermittelt (soluble NSF-attachment receptor; NSF: *N*-ethylmaleimide-sensitive factor).^[17,19] Der Mechanismus wird später im Einzelnen beschrieben. Abbildung 2 illustriert den Vorgang des Mem-

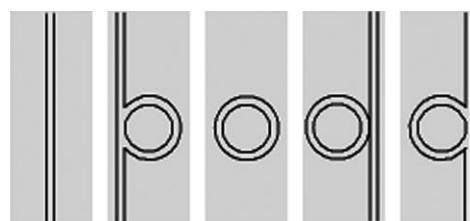


Abbildung 2. Vesikeltransport von einer Zellmembran zu einer anderen (schematisch).^[20]

brantransports, der das Abschnüren eines Vesikels von einer Organelle und seine Fusion mit einer Zielorganelle umfasst.^[20] Dieser Vorgang ist auch für die Übertragung von chemischen Verbindungen zwischen Synapsen im Gehirn essenziell, denn dazu fusionieren die mit Neurotransmitter gefüllten präsynaptischen Vesikel mit der Plasmamembran.^[19]

Die SNARE-vermittelte Membranfusion wurde bereits in mehreren Übersichten behandelt.^[19,21–23] Diese Klasse membrangebundener Proteine wird in zwei Unterklassen aufgeteilt: Q-SNAREs und R-SNAREs, in denen Glutamin- bzw. Argininreste konserviert sind.^[19,21] Alle SNARE-Proteine enthalten konservierte Motive aus sieben Aminosäuren, die Knäuelstrukturen bilden. Unterschiedliche SNAREs sind in



Ian Hamley promovierte 1991 an der Universität Southampton über Flüssigkristalle. Anschließend ging er als Royal Society Postdoctoral Fellow ans FOM-AMOLF nach Amsterdam und 1992 als Postdoc zu Professor Frank Bates an die Universität Minnesota, Minneapolis. 1993 kehrte er als Dozent für Physik an die Universität Durham nach Großbritannien zurück. Von dort aus wechselte er 1995 an die Universität Leeds, wo er 2004 zum Professor ernannt wurde. 2005 wurde er Diamond-Professor für Physikalische Chemie und Leiter der Abteilung für Physikalische Chemie der Universität Reading.



Valeria Castelletto promovierte 1996 an der Universität São Paulo über kondensierte Materie. Anschließend arbeitete sie am brasilianischen National Synchrotron Light Laboratory. 1998 übernahm sie eine Postdoc-Stelle am Leon-Brillouin-Labor (Frankreich), bevor sie für ein Jahr an die École Normale Supérieure nach Paris ging. Seit 2000 arbeitet sie in Großbritannien, zunächst an der School of Chemistry der Universität Leeds und danach in ihrer jetzigen Position als wissenschaftliche Assistentin an der School of Chemistry der Universität Reading.

spezifischen zellulären Subkompartimenten lokalisiert.^[19] Die am meisten untersuchten SNAREs sind neuronale Proteine in der Synapse. Wahrscheinlich erleichtern die SNAREs die Membranfusion, indem sie die Membranen in enge Nachbarschaft zueinander bringen. Dazu wird ein Bündel aus vier Helices aus Membranproteinen gebildet, die mit dem Vesikel assoziiert sind, und solchen, die an die Zielmembran gebunden sind. Eine Darstellung der Kristallstruktur des Vier-Helix-Komplexes^[24] im Zentrum des SNARE-Komplexes findet sich in Lit. [19]. Der zentrale Komplex ist außergewöhnlich stabil, unlöslich in Natriumdodecylsulfat und wird durch Erhitzen nicht denaturiert.^[21] Das einleitende Andocken der Membranen wird möglicherweise durch kleine GTPasen aus der Rab-Proteinfamily vermittelt.^[21, 22, 25]

Ein Vorschlag für den Mechanismus einer SNARE-vermittelten Membranfusion ist in Abbildung 3 skizziert. Das

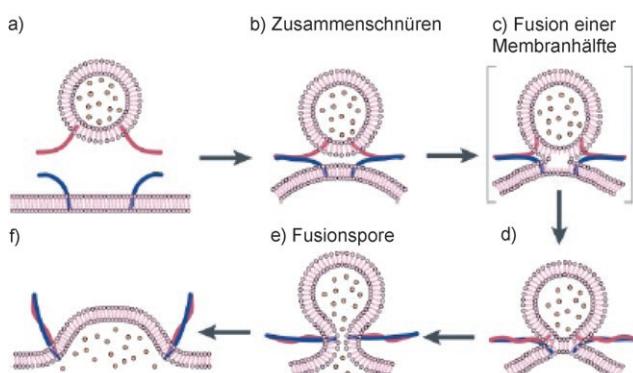


Abbildung 3. Modell einer SNARE-vermittelten Membranfusion.^[19] Rote und blaue Ketten stehen für die SNARE-Proteine.

„Zusammenschnüren“ der SNARE-Komplexe vom Amino-terminus her zieht die Membranen nahe zusammen und erhöht dann die Krümmung in der Kontaktzone und die laterale Spannung. Dadurch kommt es zur Fusion der äußeren Membranschichten, bevor eine Pore gebildet wird, die die ungünstige Lücke zwischen den Lipidschichten beseitigt. Dieser Prozess kann durch Ca^{2+} -Ionen vermittelt werden, die viele Membrantransportschritte auslösen, indem sie die Membranspannung verändern. Ein ähnliches Modell für die Exocytose von Vesikeln wird in der gleichen Übersicht diskutiert.^[19]

Wenn Membranen fusionieren, entsteht nach dem Steg-Modell (stalk hypothesis) ein Übergangszustand partieller Fusion (Abbildung 3c) mit einer Struktur, in der die proximalen Monoschichten durch einen gekrümmten Steg verbunden sind und die distalen Monoschichten zueinander gezogen werden und ein Grübchen bilden (Abbildung 4). Das Modell wurde durch theoretische Überlegungen und experi-



Abbildung 4. Verbindung von Lipidmembranen durch einen Steg als Zwischenzustand während einer Membranfusion.

mentelle Beobachtungen gestützt.^[26, 27] Die Fusion von Modellmembranen scheint über die gleichen Zwischenschritte zu verlaufen wie die Fusion von Membranen *in vivo*,^[27, 28] auch wenn die Annäherung der Membranen nicht Rab/SNARE-vermittelt ist. Vielmehr wird sie durch eine verringerte Abstoßung zwischen den Doppelschichten angetrieben, die aus Hydratation, elektrostatischen Wechselwirkungen, thermischen Fluktuationen (Helfrich-Wechselwirkung^[1]) oder osmotischem Stress resultiert. Die Membranfusion wird auch durch Defekte begünstigt, die durch eine laterale Phasentrennung (z.B. durch Lipidschollen) in der Membran entstehen, außerdem durch eine hohe spontane Membrankrümmung oder den Einbau von Makromolekülen oder Proteinen in die Membranen.^[28]

Bei vielen Viren wird das zentrale Nucleocapsid von einer Membran umschlossen. Wenn diese mit einer Wirtzelle durch Endozytose fusioniert, wird das Nucleocapsid in das Cytoplasma injiziert und löst damit die Infektion aus.^[21] Die Membranfusion scheint nach einem ähnlichen Mechanismus zu verlaufen, wie er für die intrazelluläre Fusion vorgeschlagen wurde, also über die Bildung von α -Helix-Bündeln aus hydrophoben Fusionspeptiden.^[22] Dies geschieht gleichzeitig mit der Proteolyse des Fusionsproteins, während dieses in die Zielmembran eingeführt wird.

Im Unterschied zu der Fusion intrazellulärer Vesikel und der Fusion viraler Membranen scheint die Fusion der Membranen von zwei Zellen nicht durch die Bildung von α -Helix-Bündeln vermittelt zu werden, die Details dieses Vorgangs sind allerdings noch nicht vollständig aufgeklärt und scheinen auch systemspezifisch zu sein. In der Übersicht von Chen und Olson sind mehrere Beispiele angeführt,^[22] wobei stets das Actin-Zytoskelett eine Rolle spielt, hier vor allem für den Transport von Proteinen zur Fusionsstelle.^[22] Die Actin-Polymerisation und die Bildung von Netzwerken werden in Abschnitt 2.6 eingehend diskutiert.

Die Fusion von Liposomenmembranen als Modellsystem wurde auf verschiedene Arten ausgelöst, unter anderem durch elektrische Felder (Elektrofusion), durch Reagentien oder auf photochemischem Weg.^[29] Bei der Elektroporation wird eine Spannung über eine mechanisch vorgespannte Membran in einer Mikropipette angelegt, um Poren zu erzeugen. Diese können dann verschiedene vesikuläre Kompartimente miteinander verbinden. Zu chemisch induzierter Fusion kommt es, wenn die Abstoßung zwischen Liposomen reduziert wird, z.B. durch Anbringen einer PEG-Kette. Zweiwertige Kationen wie Ca^{2+} können Ladungen an der Membranoberfläche abschirmen und die elektrostatischen Wechselwirkungen reduzieren. Gleichzeitig können sie auch die Hydratation der Lipidmembran verändern. Eine photochemische Fusion gelingt durch den Einbau photochromer Lipide in die Membran. Licht geeigneter Wellenlänge kann dann eine Konformationsänderung des photochromen Moleküls hervorrufen und so die Membranfusion einleiten.

2.3. Membraninstabilitäten

Instabilitäten in der Membrankrümmung können Ausgangspunkte für Fusionen oder das Abschnüren von Vesikeln

sein. Vergleichbare Vorgänge beim Transport von Vesikeln sind bereits in Abschnitt 2.2 diskutiert worden. Auch Konzentrationsgradienten können die Ursache für Membraninstabilitäten sein. Als Beispiel sei hier die Bildung von Myeline genannt, wenn eine amphiphile lamellare Phase (L_a) in Kontakt mit einem Überschuss an Lösungsmittel kommt. Myeline (Abbildung 5) sind vielschichtige Röhren, die von

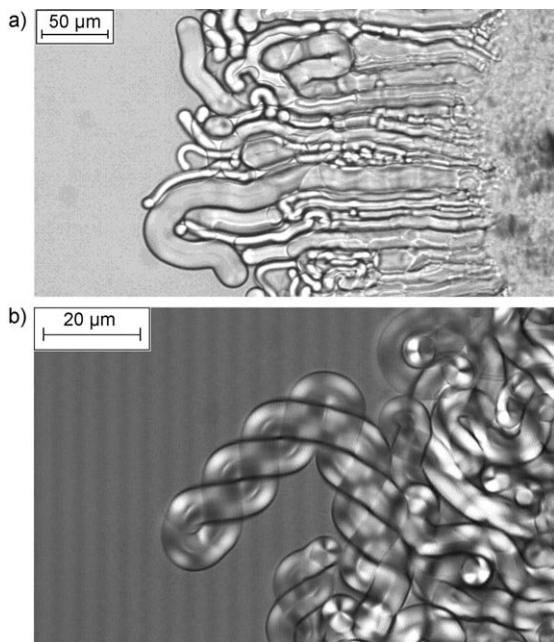


Abbildung 5. Mikroskopiebilder von Myelin, die sich an der Grenzschicht zwischen dem Detergens $C_{12}E_3$ und Wasser bilden.^[179] a) Diffusionskontrolliertes Wachstum im frühen Stadium; b) Knäuelbildung in einem späteren Stadium.

der Grenzschicht zwischen der lamellaren Phase (oder reinem Detergens) und dem Lösungsmittel her wachsen. Diese Myeline dürfen nicht mit den Myelinscheiden um die Nervenzellen verwechselt werden, bei denen es sich um elektrisch isolierende Lipidschichten (mit geringem Proteingehalt) um die langen Ausläufer der Nervenzellen (Axone) handelt.

Buchanan und Mitarbeiter haben den Mechanismus der Myelinbildung untersucht. Sie vermuten, dass diesem Prozess ein Wassereinstrom in die lamellare Phase an der Basis der Myeline zugrundeliegt (Abbildung 6a). Es gibt keinen Wassereinstrom über Diffusion an der Spitze wie bei fingerähnlich wachsenden Instabilitäten (Abbildung 6b). Gestützt wird diese Auffassung durch die Beobachtung von Tracer-Partikeln.^[30,31] Allerdings wurde kein detailliertes Modell für die Myelinbildung entworfen. Einige aktuelle Studien versuchen, die Ursache der Myelinbildung aufzuklären. Huang et al. schlugen ein einfaches geometrisches Modell vor, dem zufolge der Abstand zwischen den einzelnen Membranschichten in den abgeschlossenen Myelinzylinern größer (und damit die Abstoßung zwischen den Doppelschichten kleiner) ist als in einer multilamellaren Scheibe.^[32] Wenn die Scheibe in eine Röhre verformt wird, hat die zentrale zylindrische

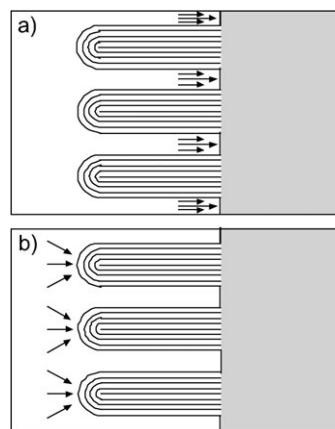


Abbildung 6. Das Myelinwachstum findet durch Flüssigkeitseinstrom zwischen den Myelin statt (a), nicht durch Diffusion zu den Myelin spitzen (b).^[30]

Röhre einen geringeren Umfang als das Rechteck in der Scheibe, und daher nimmt der Abstand zwischen den Membranen zu.^[32,33] Später wurde jedoch eingewendet, dass ein solches Modell, das auf der Minimierung der freien Energie um ein lokales Gleichgewicht beruht, den tatsächlichen Verhältnissen nicht entspricht, weil aus der Beobachtung der Myeline ein chemischer Potential-(Hydratations)Gradient oder ein externer Flüssigkeitsstrom gefordert werden muss, ohne den sich die Myeline zurückbilden würden.^[34] Statt dessen wurde vorgeschlagen, dass die Myelinbildung durch die elastische Instabilität gespannter Doppelschichtstapel hervorgerufen wird.

Nach der anfänglichen Wachstumsperiode, in der das Ficksche Diffusionsgesetz befolgt wird (die Dicke der Kontaktregion ist proportional zur Quadratwurzel der Zeit) treten Instabilitäten der Myeline auf, beispielsweise eine Knäuelbildung (Abbildung 5b). Dies kann an der zunehmenden Anziehung der Membranen untereinander liegen, wenn die Myeline helical gekräuselt sind.^[35,36] Verschiedene Theorien sollten helfen, die Instabilität der tubulären Myeline auf der Basis der Instabilitäten von Membranverwerfungen zu beschreiben.^[35,37,38] Vor kurzem wurde über die Bildung von Einzel- und Doppelhelices und von komplizierten globulären Strukturen in Myelin berichtet, deren Phospholipidmembranen mit Polymeren modifiziert waren, die entlang ihres Rückgrats weit voneinander entfernte, statistisch verteilte hydrophobe Gruppen enthielten. Die Bildung dieser Strukturen wurde der spontanen Krümmung zugeschrieben, die induziert wird, wenn sich die Polymere selektiv am inneren Rand der gebogenen Tubuli anordnen.^[36]

Die Myelinbildung wurde vor kurzem in einem gequollenen Film eines amphiphilen Blockcopolymers beobachtet.^[39] Mechanismen, die an der Destabilisierung von Myelin beteiligt sind (Knäuelbildung und Knospung), wurden ebenfalls nachgewiesen. Darüber hinaus wurden in einer Emulsion des Copolymers in Chloroform/Wasser neue Strukturen entdeckt. In Abbildung 7 ist eine dieser Myelinosomen-Strukturen zu sehen, die aus verbundenen amphiphilen Membranen im Kern und einer Korona aus Myelin besteht.

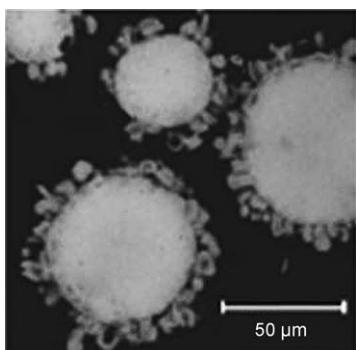


Abbildung 7. Myelinosomen aus einem Poly(oxyethylen)-*b*-poly(oxybutylen)-Diblockcopolymer in einem Wasser-Chloroform-Gemisch unter dem konfokalen Lasermikroskop.^[39]

2.4. DNA-Kondensation

Die Länge stabiler DNA-Restriktionsfragmente (64–900 Basenpaare, bp) liegt in 1–2 mM NaCl bei etwa 50–60 nm, in Abhängigkeit von der Salzkonzentration.^[40] Die DNA-Kondensation beruht auf der elektrostatischen Anziehung zwischen den negativ geladenen DNA und kationischen Spezies; sie führt zu einem teilweisen Zusammenbruch der DNA-Ketten, wenn deren Ladungen neutralisiert und die Gegenionen freigesetzt werden.

DNA hat eine Ladungsdichte von $1e$ pro 1.7 \AA^2 , die von zwei negativen Ladungen pro Basenpaar herröhrt.^[41] Dies bedeutet, dass DNA in Gegenwart von zweiwertigen Kationen, die bevorzugt in den Furchen der DNA-Stränge binden, kondensiert werden kann (Abbildung 8). Manche Kationen

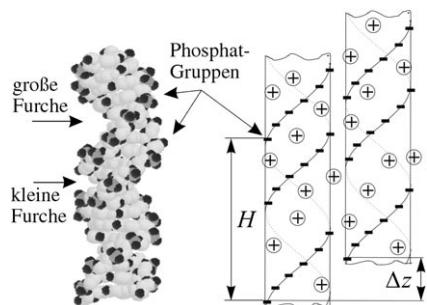


Abbildung 8. Inhomogene Ladungsverteilung auf der DNA-Oberfläche. Die Phosphatreste sind negativ geladen, die Gegenionen positiv. Die Stärke der Anziehung hängt von der Verteilung der Gegenionen und vom Verhältnis der axialen Verschiebung Δz zur Helixsteigung H ab.^[44]

mit einer hohen Affinität zu Phosphat können allerdings an den DNA-Strang binden, ohne eine Kondensation zu induzieren.^[42] Interessant ist die Beobachtung, dass bei geladenen Spezies wie der DNA die Möglichkeit einer Anziehung zwischen den Gegenionen besteht. Dies wurde der fluktuationsgetriebenen Kondensation durch die Gegenionen^[43] oder der selektiven Kondensation von Gegenionen in den Furchen zugeschrieben (elektrostatisches „Reißverschluss“-Motiv, Abbildung 8).^[44] In diesem zweiten Modell entsteht eine Anziehungskraft, weil die positiv geladenen Furchen einer

DNA-Kette sich den negativ geladenen Teilen einer anderen Kette annähern können, wenn die Moleküle entsprechend orientiert sind.

Für eine Gentherapie muss die DNA kondensiert werden, bevor sie durch die Zellmembran transportiert wird. Vor allem Erkrankungen, die durch genetische Anomalien oder Ausfälle verursacht werden, könnten durch eine Gentherapie behandelt werden, bei der spezifisch konstruierte Gene in die Zellen des Patienten eingeführt werden. Es gibt Hinweise darauf, dass eine Gentherapie dann wirksam sein kann, wenn einzelne Gene ausfallen.^[45] Die DNA-Kondensation ist auch relevant für Membrantechnologien und den Einschluss von Wirkstoffen.

Sowohl virale als auch nichtvirale Ansätze für eine Gentherapie wurden in klinischen Studien erprobt, um Krankheiten wie Mukoviszidose oder verschiedene Tumorformen zu bekämpfen. Viren haben effiziente Verfahren entwickelt, um ihr genetisches Material in bestimmte Zellen einzuschleusen und es dort zu exprimieren. Andererseits können Viren Entzündungen und Immunreaktionen hervorrufen, die eine wiederholte Anwendung in der Therapie verhindern.

Eine Reihe von Systemen wurde für die nichtvirale Einschleusung von Genen untersucht,^[46–48] darunter Kationen, Polyamine, Polymere wie Polylysin,^[49–51] Polyethylenglycol(PEG)-Blockcopolymere und -Ppropfcopolymere,^[52,53] biologische Liposomen^[54] oder kationische Lipide.^[46,50] Blockcopolymere aus PEG und einem oder mehreren kationischen Blöcken sind eine moderne Alternative zu viralen Vektoren. Sie bilden vielschichtige Nanohüllen mit einer äußeren PEG-Schicht, wenn der kationische Block sich in Lösung an die Plasmid-DNA (pDNA) anlagert.^[47] PEG-haltige Polyplex-Micellen aus kationischen Triblockcopolymeren mit einem Kern aus kondensierter pDNA, einer Zwischenhülle mit Pufferkapazität und einer biokompatiblen PEG-Außenhülle sind erst seit kurzem bekannt.^[48] Dendrimer-Photosensibilisatoren wurden ebenfalls genutzt, um DNA zu verpacken, weil sie in Therapieansätzen mit lichtinduziertem Gentransfer erfolgreich waren.^[55]

Wegen seiner hohen Ladungsdichte wurde Polyethylenimmin (PEI) sehr ausgiebig für die DNA-Kondensation untersucht.^[51,53,56–62] Dieses kationische Polymer wurde auch schon mit Liganden konjugiert, die für einen bestimmten Zelltyp spezifisch sind (Abbildung 9). Der Rezeptor für den Liganden befindet sich in der Zellmembran und wirkt als Kanal, der den DNA-Polymer-Komplex in die Zelle einschleust.

Ein anderer Mechanismus für die nichtvirale Gentransfektion ist die Endozytose eines Blockcopolymers aus PEG und einem kationischen Block (Abbildung 10).^[63–67] Der PEG-Block bildet eine abschirmende Schicht um den Kern des Partikels, in dem die DNA von dem kationischen Block eingekapselt ist. Bei der Endozytose wird die eingekapselte DNA in eine Zelle aufgenommen, ohne die Zellmembran zu passieren. Vielmehr wird bei dem Vorgang ein intrazelluläres Vesikel durch die Einstülpung der Plasmamembran und anschließende Membranfusion gebildet.

Jüngst wurde über die ortsspezifische Spaltung einer überspiralisierten pDNA berichtet, die mithilfe des Di-blockpolymers PEG-*b*-Plys kondensiert worden war (Plys: Poly-L-lysin).^[68] Die gezielte Spaltung der DNA gelang mit

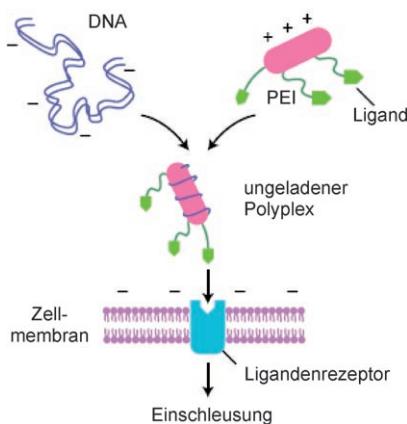


Abbildung 9. Nichtvirale Gentransfektion mit einem kationischen Polymer.^[180]

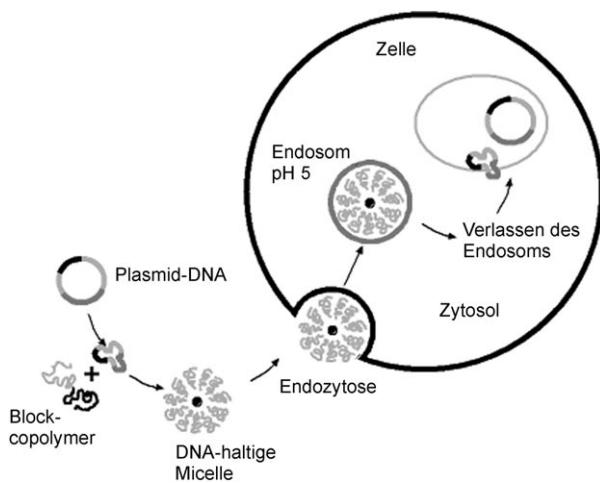


Abbildung 10. Transfektion von Plasmid-DNA in eine Zelle durch Endozytose mithilfe eines Block-Polyelektrolyten. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [181].

der S1-Nuclease, einem Enzym, das einzelsträngige DNA spaltet.^[68] Als Mechanismus wurde diskutiert, dass die pDNA in eine Struktur kondensiert wird, in der durch das Blockpolymer regelmäßige kreuzförmige Schlaufen gebildet werden, und dass die Spaltung an Schlaufen in der topologisch gespannten Doppelhelix erfolgt.

Die DNA-Kondensation kann eine Phasentrennung auslösen; dabei bilden sich eine konzentrierte Flüssigkristallphase, die die DNA und Kationen enthält, und eine verdünnte Phase, in der sich die übrigen Verbindungen befinden.^[69] Vor der Bildung eines Niederschlags beobachtet man oft das Auftreten von DNA-Aggregaten. Stäbchenförmige, blüttenförmige, fibrilläre und toroidale Strukturen wurden dabei entdeckt.^[70–73]

Mehrere Versuchsreihen zur DNA-Kondensation haben sich mit Blockcopolymeren befasst, vor allem mit PEG-*b*-Polykationen-Systemen mit den Polykationen Plys,^[74–76] PEI,^[77] Poly[2-(dimethylamino)ethylmethacrylat] oder Polyspermin.^[69–73, 77–80] Die Assoziation von DNA mit langketigen linearen Polyelektrolyten wie Plys, Polyspermin und Poly-L-arginin durch elektrostatische Kräfte wurde ebenfalls be-

schrieben.^[72] Auch Ppropfcopolymere wie PEG-*g*-Polylysin^[81] und PEG-*g*-PEI^[52, 80] wurden eingesetzt.

Weniger gut untersucht ist die DNA-Kondensation mit Blockcopolymeren mit einem hydrophoben und einem kationischen Block. Ein Beispiel dafür ist die Kondensation von Kalbsthymus-DNA durch amphiphile Blockcopolymer PS_m-*b*-Plys_n (PS: Polystyrol) aus einem sehr kurzen nichtionischen, hydrophoben PS-Block und einem hydrophilen, geladenen Plys-Block. Stabilität und Struktureigenschaften der DNA-(PS_m-*b*-Plys_n)-Polyplex (m,n: Polymerisationsgrad) und der Einfluss der Länge des Plys-Blocks auf den DNA-Kondensationsvorgang wurden untersucht.^[82] Die DNA kondensiert aufgrund der elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen Plys und DNA in Form fibrillärer Niederschläge mit unregelmäßiger lokaler Packung. Diese ist möglicherweise deswegen nicht hexagonal (wie hochkondensierte DNA in Gegenwart von Salzen),^[83] weil der hydrophobe PS-Block stört. Mit größerem n nimmt auch die Packungsdichte der Polyplex zu. Daher wurde vermutet, dass die Balance zwischen der Länge der Plys-Blöcke in DNA-(PS_m-*b*-Plys_n)-Polyplexen und dem Ladungsüberschuss des Systems eine entscheidende Rolle bei der Bildung einer Flüssigkristallphase spielt.^[82]

2.5 Proteinkristallisation

Die Kristallisation von Proteinen aus Lösungen ist eine Voraussetzung für die Herstellung von Proben für Kristallstrukturanalysen, die ein zentraler Baustein für die Strukturbioologie sind. Dieser Prozess kann auch *in vivo* ablaufen.^[84] Wir können hier keine Übersicht über das gesamte Feld geben. Statt dessen diskutieren wir Analogien bei der Kristallisation von globulären Proteinen und von Kolloiden, die ein klassisches Beispiel für weiche Materie darstellen.^[85, 86] Die Kristallisation von Lysozym wurde besonders eingehend untersucht.^[85, 87–91] Wir betrachten hier die Kristallisation von Proteinen nach Zugabe eines Elektrolyten oder eines nicht-adsorbierenden Polymers zu der Lösung. (Daneben gibt es noch viele andere Verfahren wie die Zugabe organischer Lösungsmittel oder die Erhöhung der Temperatur.) Dadurch kann die weitreichende elektrostatische Abstoßung abgeschirmt werden, sodass Proteine aufgrund kurzreichender Wechselwirkungen zu Clustern aggregieren können, die dann als Kristallisationskeime wirken. Die Kristallisation setzt ein, wenn der zweite Virialkoeffizient ausreichend negativ ist (Abbildung 11).^[91–93] Vor der Kristallisation kann bei hohen Konzentrationen die Gelbildung einsetzen, wenn die Lösung in Bezug auf den Flüssig-kristallin-Phasenübergang übersättigt ist.^[94] Die Gelbildung kann der Kristallisation vorausgehen, wenn die Anziehung schwach ist, denn unter diesen Bedingungen verläuft die Keimbildung nur langsam. Die Phasengrenze zur Gelbildung lässt sich mit einer vereinfachten Version der Theorie der Modenkopplung beschreiben.^[94] Zu beachten ist, dass die Gelbildung als Folge von Anziehung oder Abstoßung zu einem Glasübergang führen kann.^[95]

Die Wechselwirkung zwischen Proteinen kann, in einfachster Näherung, wie diejenige zwischen geladenen Kugeln beschrieben werden. Die Wechselwirkung zwischen solchen Partikeln und die Abhängigkeit von der Salzkonzentration

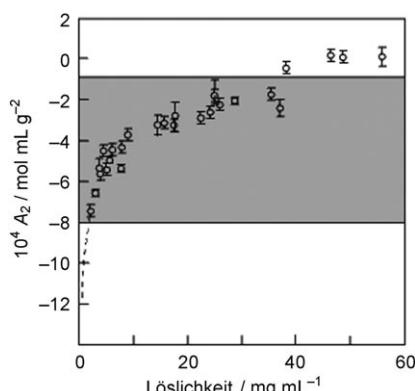


Abbildung 11. Korrelation des zweiten osmotischen Virialkoeffizienten A_2 mit der Löslichkeit bei globulären Proteinen. Wiedergabe in veränderter Form nach Lit. [90]. Die grau unterlegte Region ist die „Kristallisationszone“. Bhamidi et al.^[90] übernahmen Daten von Wilson und Mitarbeitern^[91] und führten zusätzliche Messungen aus.

ergeben sich dann aus der Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek(DLVO)-Theorie.^[87] Später wurden ausgefeilte Modelle entwickelt, um Haftbereiche („sticky patches“) auf der Proteinoberfläche zu berücksichtigen.^[96]

Eine interessante Eigenschaft von Suspensionen kolloidaler Partikel oder globulärer Proteine ist die Bildung von Gleichgewichtsclustern, die durch die Balance zwischen kurzreichender Anziehung und weitreichender elektrostatischer Abstoßung entstehen.^[88,97] Die erforderlichen Bedingungen wurden mithilfe einer analytischen Theorie ermittelt.^[97] Die Bildung von stark wechselwirkenden Gleichgewichtsclustern in einer Lysozymlösung wurde mit Neutronen-Kleinwinkelstreuung (SANS, small-angle neutron scattering) untersucht.^[88] In Abbildung 12 ist ein Beispiel von Struktur-

faktoren gezeigt. Man sieht Maxima auf zwei Längenskalen – für die Cluster (q_c^*) und die „Monomere“ (d.h. die globulären Proteine) innerhalb der Cluster (q_m^*), die ziemlich dicht gepackt sind. Das Maximum bei q_c^* ist konzentrationsunabhängig, hängt aber von der Temperatur ab, weil die Anziehung temperaturabhängig sind. Das Maximum bei q_m^* ist konzentrations- und temperaturunabhängig. Der Einfluss der Ionenstärke wurde ebenfalls getestet: Steigende Salzkonzentrationen erhöhen die Abschirmung und stärken daher die Anziehung.^[88]

2.6. Bildung von Fibrillen aus Peptiden und Proteinen

Die Bildung von Fibrillen ist symptomatisch für viele Amyloid-Erkrankungen wie die Alzheimer- und die Creutzfeldt-Jacob-Krankheit.^[98] Man geht inzwischen davon aus, dass Protofilamente, die zu Beginn des Selbstorganisationsvorgangs gebildet werden, die toxischen Komponenten sind.^[99,100] Wegen ihrer Relevanz für verschiedene verbreitete Stoffwechselerkrankungen wurde die Fibrillenbildung durch das Amyloidpeptid vielfach untersucht. Beim Menschen gibt es zwei Varianten des Amyloidpeptids – $\text{A}\beta(1-40)$ und $\text{A}\beta(1-42)$, die wahrscheinlich stärker zur Fibrillenbildung neigt.^[101]

Die Bildung von Proteinfibrillen kann nach zwei Polymerisationsmechanismen verlaufen.^[102] Die isodesmische Polymerisation,^[103] die z.B. bei Tubulin beobachtet wird, läuft über die sequenzielle Addition von Monomeren in einem ungebremsten Selbstorganisationsprozess ab, bei dem sich Monomere, Dimere, Trimere usw. im Gleichgewicht befinden. Der Prozess ist nichtkooperativ und jede Anlagerung eines Monomers führt zu einer konstanten Abnahme der freien Energie.^[104] Dagegen wird unter anderem bei Actin eine Polymerisation beobachtet, die von einem thermodynamisch instabilen Polymerisationskeim ausgeht. In der Literatur über die Selbstorganisation von Detergentien ist die isodesmische Selbstorganisation auch als offene Assoziation bekannt.^[105,106] Sie wird von der geschlossenen Assoziation^[105,106] abgegrenzt, bei der sich die Micellenbildung durch einen scharfen Übergang zu einem Gleichgewicht bemerkbar macht, in dem Micellen und nichtassoziierte Moleküle coexistieren. Die thermisch oder chemisch ausgelöste Polymerisation verläuft auch über einen nichtisodesmischen Prozess, also über einen aktivierten Zwischenzustand. Dies führt zu einem Sprung der Wärmekapazität bei einer kritischen Temperatur.^[107,108]

Die Selbstorganisation chiraler Peptide in helicale Aggregate ist ein nichtisodesmischer Prozess, der sich durch markante (Konzentrations-)Schwellenwerte für die Bildung von Aggregaten (Bänder oder Fibrillen aus de novo gebildeten Peptiden) zu erkennen gibt.^[109] Dies wurde in einem detaillierten theoretischen Modell beschrieben, in dem der Energieaufwand für die elastische Verdrillung der Bänder gegen den Energiegewinn durch die Fibrillenbildung abgewogen wird.^[103] Die wichtigsten Parameter sind die relative Helixsteigung isolierter Bänder und die relative laterale Anziehung zwischen einzelnen Bändern. Ein Schema der hierarchischen Selbstorganisation und ein berechnetes Phasendiagramm sind in Abbildung 13 dargestellt.

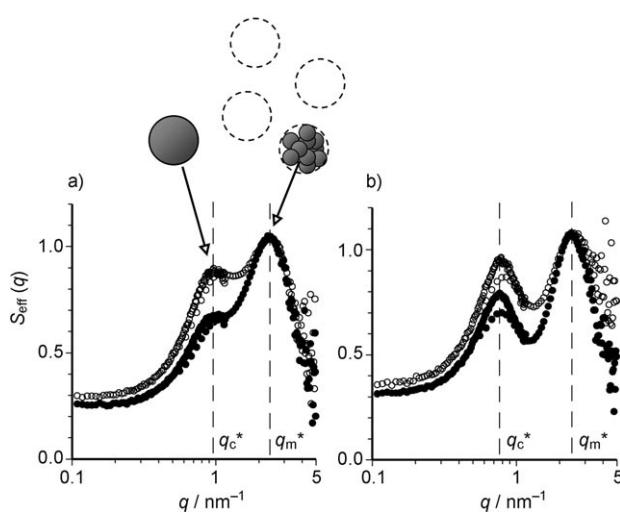


Abbildung 12. Effektive Strukturfaktoren aus Neutronen-Kleinwinkelstreuexperimenten für Lysozym in wässriger Lösung.^[88] a) 254 mg mL⁻¹ (ausgefüllte Symbole) und 169 mg mL⁻¹ (offene Symbole) bei 25°C; b) die gleichen Proben bei 5°C. Die gestrichelten Linien deuten an, dass die Lage der beiden Maxima unabhängig von der Lysozymkonzentration ist.

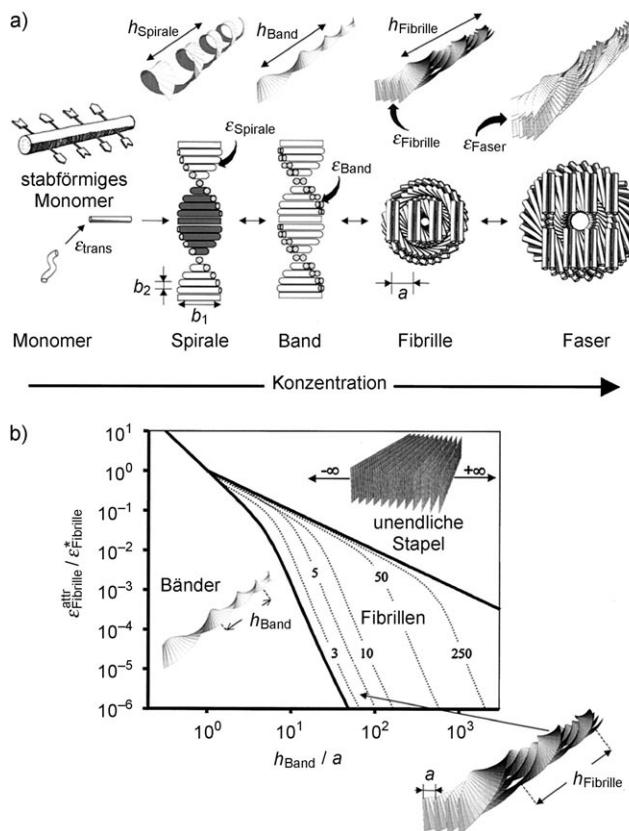


Abbildung 13. Selbstorganisation bei der Bildung chiraler Peptidbänder.^[109] a) Aufeinanderfolgende Stadien des Selbstorganisationsprozesses und die zugehörigen Wechselwirkungenergien ε . b) Berechnetes Phasendiagramm in Abhängigkeit von der relativen lateralen Anziehungsenergie zwischen den Bändern $\varepsilon_{\text{Band}}^{\text{attr}} / \varepsilon_{\text{Band}}^*$ und der relativen Helixsteigung der Bänder h_{Band}/a . Die dicken Linien trennen Regionen, in denen verschiedene Aggregatzustände stabil sind. Die gestrichelten Linien zeigen an, wo Fibrillen mit p Bändern stabil sind. Das Verhältnis der Elastizitätskonstanten $k_{\text{gekrümmt}}/k_{\text{verdrillt}}$ betrug in der Rechnung 0.1.^[103]

Aktuelle Forschungen über die Selbstorganisation von *p*-Phenylenvinylen-Oligomeren, die je Molekül eine Donorgruppe für mehrere Wasserstoffbrücken und eine Akzeptorgruppe für mehrere Wasserstoffbrücken trugen, ergaben, dass die Bildung helicaler Aggregate auch über einen ähnlichen nichtisodesmischen Prozess verlaufen kann.^[110] Ein scharfer Übergang bei der Assoziationsgröße als Funktion der Temperatur ist sichtbar, was auf eine Keimbildung mit hoher Aktivierungsbarriere hindeutet. Der nichtisodesmische Selbstorganisationsprozess wurde mit einem Ansatz modelliert, der dem Oosawa-Kasai-Modell für die Helixaggregation von Proteinen in Lösung ähnelt.^[111] Dieses Modell sagt eine kritische Konzentration für die Bildung helicaler Aggregate voraus.

Actin ist eines der wichtigsten Proteine des Zytoskeletts. Es ist Bestandteil verschiedener Zelltypen und an vielen zellulären Prozessen beteiligt, darunter die Fortbewegung, Sekretion, Zytoplasmastromungen, Phagozytose und Zytokinese. Bei der Polymerisation von Actin wird das globuläre G-Actin in F-Actin-Fibrillen umgewandelt. Nach der Untersuchung der spontanen Selbstorganisation von G-Actin und

der auf eine Ultraschallbehandlung folgenden Polymerisation von F- und G-Actin wurde der Schluss gezogen, dass die Polymerisation von Keimen ausgeht.^[112] Die Zugabe von F-Actin als Keim beschleunigt die Polymerisation von G-Actin. Actin spielt auch eine wichtige Rolle in der Muskelstruktur. Im Sarkomer der Muskeln überlappen dicke und dünne Filamente. Die dicken Filamente enthalten das Protein Myosin, die dünne bestehen aus mehreren Proteinen, und in ihrem Zentrum befinden sich polymerisierte F-Actin-Fibrillen.^[113]

Netzwerke aus vernetztem und gebündeltem F-Actin weisen ein außergewöhnlich elastisches rheologisches Verhalten auf, was die mechanischen Eigenschaften der einzelnen Filamente widerspiegelt. Die lokale Viskoelastizität wurde mit mikrorheologischen Techniken untersucht, wobei eingebettete Kolloidpartikel als Sonden für die optische Interferometrie^[114,115] oder magnetische Pinzetten dienten.^[116] Der Elastizitätsmodul hängt stark von der Actinkonzentration und damit vom Ausmaß der Vernetzung ab.^[117,118] Actin kann auch zu einem Netzwerk verknüpft werden, um die Oberfläche von Vesikeln zu beschichten.^[119–121] Das Actin wird dabei in Gegenwart von Streptavidin an der Oberfläche biotinylierter Vesikel polymerisiert. Die viskoelastischen und Verformungseigenschaften derartiger Vesikel, die ein Modell für ein zelluläres Membransystem darstellen, wurden untersucht.^[119,122]

Mikrotubuli sind eine weitere Hauptkomponente des Zytoskeletts. Die mechanischen Eigenschaften einzelner Mikrotubuli wurden durch laterale Auslenkung mit einer AFM-Spitze getestet, die jedoch die Mikrotubuliwände erheblich beschädigen kann.^[123,124] Welche Kompressionskräfte von den Mikrotubuli des Zytoskeletts ausgehalten werden, wurden auch *in vitro* untersucht.^[125] Dabei zeigte sich, dass die maximale Belastung für Mikrotubuli unter physiologischen Bedingungen in der Zelle höher ist, weil sie mechanisch mit dem umgebenden Zytoskelett gekoppelt sind.

Die Fehlfaltung mancher Polypeptide kann zur Bildung von β -Strangstrukturen führen, die zunächst zu langen Fibrillen und dann zu größeren Plaques aggregieren.^[123] Solche Plaques sind für einige Krankheiten typisch, so auch für Amyloid-Erkrankungen wie Alzheimer, Typ-II-Diabetes und BSE. Besonders bilden viele globuläre Proteine Amyloidfibrillen, wenn sie partiell denaturiert sind, z.B. β -Lactoglobulin (β -Lg),^[126] α -Lactalbumin,^[127] Rinderserumalbumin (BSA)^[128] und Lysozym.^[129] β -Lg bildet beim Erhitzen bei pH 2 und bei niedriger Ionenstärke feinsträngige, transparente Gele. Bei diesem pH-Wert trägt β -Lg eine positive Oberflächenladung, und die Monomere unterliegen einer elektrostatischen Abstoßung; dadurch entstehen transparente Gele mit einer relativ offenen Netzwerkstruktur aus Amyloidfasern.^[126] Auch das Milchprotein α -Lactalbumin bildet bei niedrigem pH-Wert Amyloidfasern. Die Umwandlung des Proteins in eine im Wesentlichen ungefaltete und hoch flexible Konformation ist für die Bildung der Fibrillen erforderlich.^[127] BSA kann bei erhöhter Temperatur fibrilläre Gele bilden. Der Gelierungsprozess wird durch die Entfaltung des BSA-Monomers beim Erhitzen ausgelöst. Die BSA-Fibrillen lagern sich dann spontan zu Amyloidfasern zusammen, deren Dicke von der Konzentration der Lösung abhängt.^[128] Aus Lysozym lassen sich Amyloidfibrillen er-

zeugen, indem man das Protein bei pH 2 auflöst und die Probe eine geraume Zeit erhitzt. Die so erhaltenen Fibrillen bestehen aus Proteinfilamenten, die sich entlang der Fibrillenachse wickeln.^[129]

Die zahlreichen Versuche zur Herstellung von Nanostrukturen, darunter auch Nanofibrillen aus Blockcopolymern, die Peptidsequenzen enthalten, wurden in verschiedenen Aufsätzen zusammengetragen.^[82,130,131] Die Fibrillen entstehen durch die Bildung intermolekularer Wasserstoffbrücken in β -Faltblatt-Strukturen. Durch Konjugation von Peptiden mit β -Faltblatt-Konformation an PEG lässt sich die Löslichkeit verbessern, was interessant für die klinische Anwendung von Peptidtherapeutika ist, da auf diese Weise ein Peptidwirkstoff mit PEG sterisch stabilisiert werden kann. Wie unlängst für Hybrid-Blockcopolymere mit kurzen, den novo erzeugten Peptidsequenzen nachgewiesen wurde,^[132,133] erhöht PEG die Beständigkeit der Sekundärstruktur gegen Änderungen von Konzentration, pH-Wert und Temperatur.

Blockcopolymere, in denen ein Block ein α -helicales Peptid ist, können zu Knäuelstrukturen aggregieren, wenn ein geeignetes Heptapeptid in die Polypeptidkette eingebaut wird.^[134–136] Der eindimensionale Selbstorganisationsprozess kann durch den amorphen Block (z.B. PEG) verhindert werden, sodass die Assoziation begrenzte Aggregate wie Dimere oder Tetramere ergibt (Abbildung 14). Der Einbau

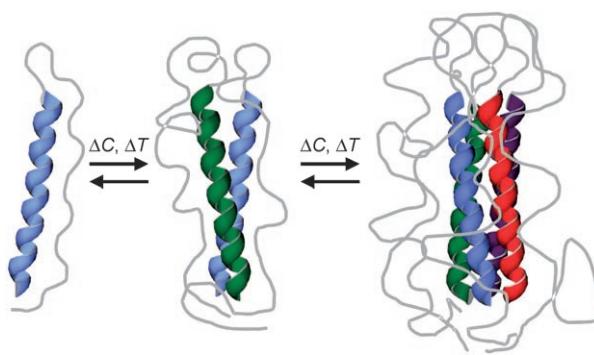


Abbildung 14. Modell für die Selbstorganisation von PEG-*b*-Peptid-Diblockpolymeren mit der Heptapeptidsequenz LAEIEAK.^[134,182]

von PEG-Ketten in Hybrid-Diblockpolymere erhöhte die Stabilität von Knäuelstrukturen gegen Denaturierung erheblich, was der Bildung einer hydrophilen Schutzhülle aus PEG um das hydrophobe Innere zugeschrieben wurde.

Peptide mit Schalterfunktion enthalten eine Aminosäuresequenz, deren Konformation bei einer pH-Änderung aus der β -Faltblatt- in eine α -Helix-Struktur wechselt.^[137] Während man die Bildung von Fibrillen bei β -Faltblatt-Peptiden allgemein erwartete, überraschte die Fibrillenbildung von α -Helices in Schalterpeptid-Homopolymeren und verwandten PEG-Peptid-Diblockpolymeren bei niedrigem pH-Wert.^[132] Die α -Helix-Knäuel haben hydrophile und hydrophobe Oberflächen und können in Lösung durch eine eindimensionale Selbstorganisation einzelne Fibrillen bilden, die zu dickeren Fibrillen aggregieren, wenn die Lösung eintrocknet (z.B. um Präparate für TEM herzustellen, Abbildung 15).

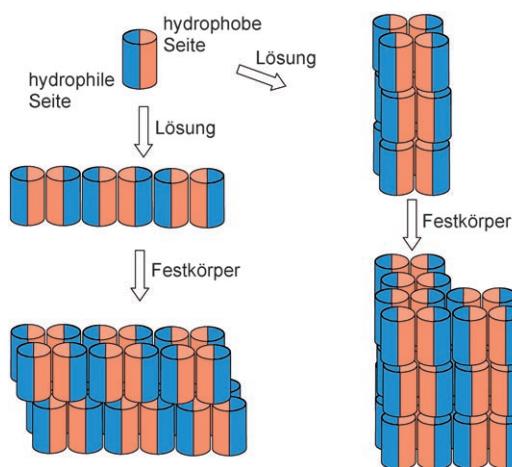


Abbildung 15. Zwei Modelle für die Fibrillenbildung durch α -Helices mit unterschiedlichen Seiten.^[137] Das linke Modell wird bevorzugt, weil die gemessene Breite der Bänder in Lösung der Länge der α -helicalen Peptidketten entspricht.

2.7. Zelladhäsion und Kräfte zwischen Biomolekülen

Die Zellwand besteht aus Lipid-Protein-Doppelschichten, die an ein mehrere hundert Nanometer dickes Netzwerk gebunden ist. Dieses Netzwerk wird aus dem Protein Spektrin durch Vernetzen mit Actin aufgebaut. Durch die Entwicklung künstlicher verankerter Membranen^[138–140] ließe sich der Einfluss des festen Substrats umgehen.

Trotz ihrer komplexen Zusammensetzung verhalten sich Zellwände wie elastische Hüllen mit linearen viskoelastischen Eigenschaften.^[141] Die Biegemoduln betragen ungefähr $1000 k_B T$, und die Hülle zeigt deutliche Fluktuationen mit Amplituden um 100 nm („flickering“). Diese Brownsche Bewegung verhindert die Adhäsion, wie mit Interferenz-Kontrastmikroskopie für die Zellwände weißer Blutkörperchen auf Glas nachgewiesen wurde.^[141] Die Analyse der quadratisch gemittelten Fluktuationsamplituden ermöglicht die Berechnung des Biegemoduls. Aus κ und dem Teil der Zelloberfläche, der in Kontakt ist, lässt sich die Adhäsionsenergie abschätzen.

Eine Reihe von Methoden liefert Informationen über die Bindungsstärke zwischen Biomolekülen,^[142] was unter anderem wichtig für die Zelladhäsion ist, und die Stärke von Bindungen innerhalb von Molekülen, was für Faltung und Denaturierung von Proteinen relevant ist. Bei einem komplexen Biomolekül werden unter Spannung in Abhängigkeit von der wirkenden Kraft zahlreiche Bindungen gebrochen. Mit Rasterkraftmikroskopie lässt sich die durchschnittliche Kraft als Funktion der Ausdehnung eines Moleküls bestimmen, das zwischen Oberfläche und Mikroskopspitze fixiert ist.^[143,144] Da schwer zu entscheiden ist, ob nur ein einzelnes Molekül angeheftet ist, kann die Analyse der Kraft-Abstands-Profilen kompliziert werden. Mit optischen Pinzetten kann man Kräfte an (Bio-)Molekül-beschichteten Kugelchen messen, die in einem eng fokussierten Laserstrahl gefangen sind.^[145] Schließlich haben Evans und Mitarbeiter eine Technik entwickelt, um die Kraft aus der axialen Ablenkung zu bestimmen, wenn ein beschichtetes Glaskugelchen in Rich-

tung einer Zielzelle (oder eines mit Biomolekülen beschichteten Kugelchens) bewegt wird (biomembrane force probe, BFP).^[142,146,147] Ein rotes Blutkörperchen wirkt als linearer Kraftüberträger mit einer definierten Federkonstante. Das Auslenken des Glaskugelchens, das (mit Biotin-Streptavidin) an die Blutzelle fixiert ist, ermöglicht es, mit einem piezogesteuerten Motor die Kraft zu bestimmen, mit der die BFP-Spitze gezogen oder geschoben wird, wenn das Zielobjekt auf den Kontakt zu- oder von ihm weg bewegt wird.^[146,147] Die BFP-Technik führte auch zur dynamischen Kraftspektroskopie, durch die die Kräfte für einen Bindungsbruch als Funktion der Beladung gemessen werden können. Der Bruch der schwachen Bindungen in Biomolekülen kann als Überwindung einer Kaskade von Aktivierungsbarrieren beschrieben werden.^[148] Wann sich Bindungsbrüche ereignen, wenn eine stetig wachsende Kraft angelegt wird, darüber entscheidet zumeist die Beladungsrate. Die Überwindung der Aktivierungsbarriere ist in erster Näherung mit einer Kramers-Gleichung zu beschreiben.^[142,148]

2.8. Blut – eine Flüssigkeit mit komplexen Strömungseigenschaften

Blut ist eine konzentrierte Suspension aus einzelnen Partikeln, die unter anderem rote und weiße Blutkörperchen und Blutplättchen enthält. Die Erythrocyten – flexible, bikonkav Scheiben – nehmen etwa 45 % des Blutvolumens ein. Zirkulierende Leukocyten sind annähernd kugelförmig und 1000mal seltener als Erythrocyten. Die scheibenförmigen Blutplättchen machen etwa 1/800 des gesamten Zellvolumens aus. Alle diese Zellen sind im Plasma suspendiert, weshalb Blut allgemein als Zweiphasensuspension klassifiziert wird.

Da Blut sich ständig im Fluss befindet, haben sich viele Arbeiten mit der Rheologie des Blutes (Hämorrheologie) und der Verformung der Erythrocyten befasst. Die Fließeigenschaften des Blutes sind in vielerlei Hinsicht mit denjenigen von Kolloidsuspensionen oder Polymerlösungen vergleichbar.^[149,150] Bei starker Strömung werden die Blutzellen außerdem auf ähnliche Art verformt wie Vesikel unter Fließbedingungen.^[151]

Plasma ist eine wässrige Lösung mit dem Fließverhalten einer Newtonschen Lösung. Dagegen verhält sich Blut, obwohl Plasma ein Hauptbestandteil ist, als nicht-Newtonscche Flüssigkeit. Darin zeigt sich, dass Blut ein Zweiphasensystem ist. Als weitere Ursache sind Wechselwirkungen zwischen den Blutzellen zu nennen, die vor allem unter den Bedingungen der Mikrozirkulation – wenn Gefäßweite und Zelldurchmesser vergleichbar werden – ins Gewicht fallen.^[152]

Viele theoretische Studien haben sich mit der Vorhersage der Fließeigenschaften von Blut für bestimmte Gefäßgeometrien und Blutzusammensetzungen befasst. So wurden die Wechselwirkungen zwischen weißen und roten Blutkörperchen in den Kapillaren mit einem Lattice-Boltzmann-Modell simuliert, um die Größenordnung der Kräfte bei diesen Wechselwirkungen abzuschätzen.^[153,154] Das Lattice-Boltzmann-Modell wurde auch verwendet, um den Fluss konzentrierter Erythrocyten-Suspensionen in Blutgefäßen zu analysieren.^[155] Der Fließwiderstand wurde für verschiedene Ery-

throcyten und Gefäßradien berechnet. Außerdem wurden Leukozyten in dem Modell einbezogen, sodass die Zunahme des Widerstandes durch das Rollen und die Adhäsion der Zellen ebenfalls modelliert werden konnte.^[155]

Drei mechanische Eigenschaften der Erythrocyten wirken sich besonders auf den Blutfluss aus: Sie können unter Fließbedingungen beschädigt werden (Hämolyse), sie können reversibel aggregieren, und sie können sehr stark verformt werden (Abbildung 16).

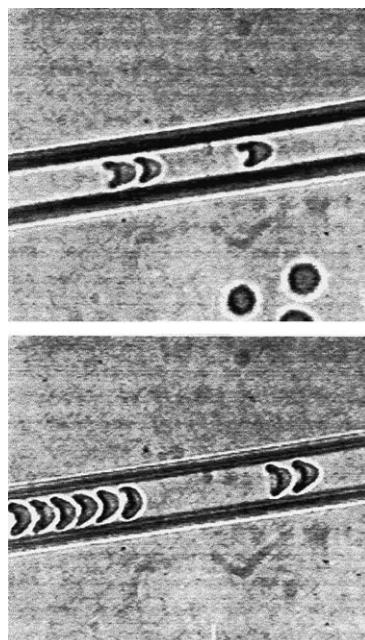


Abbildung 16. Erythrocyten nehmen beim Passieren einer Glaskapillare die Fallschirmform an.^[159]

Experimentelle Untersuchungen belegten die Bedeutung von turbulenten Strömungen für die mechanische Zerstörung von Blutzellen; die Ergebnisse wurden durch flüssigkeitsdynamische Computersimulationen bestätigt.^[156]

Die reversible Aggregation von Erythrocyten trägt stark zur scheinbaren Viskosität bei, denn die Größe der Erythrocytenaggregate ist umgekehrt proportional zur Stärke der Scherkräfte; die Aggregate werden mit steigenden Scherkräften dispergiert und bilden sich bei langsamem Fluss oder Stillstand zurück. Die Aggregation der Erythrocyten senkt auch die Fluidität von Blut *in vivo*, vor allem in Regionen des Blutkreislaufs, in denen geringe Scherkräfte wirken.^[157]

Die starke Deformierbarkeit der Erythrocyten – ihre Fähigkeit, als Reaktion auf eine verformende Kraft die Form zu verändern^[158] – ist ein entscheidender Vorteil für den Blutfluss und Sauerstofftransport in der Mikrozirkulation.^[159] Unter normalen physiologischen Bedingungen haben Erythrocyten die Form einer bikonkaven Scheibe von ca. 8 µm Durchmesser.^[160] Gut bekannt ist ihre Formänderung hin zu einer bikonkaven fallschirmähnlichen Gestalt, beim Passieren von Kanälen, die einen vergleichbaren oder etwas geringeren Durchmesser haben als die Blutzellen (Abbildung 16).^[159,161–164] Die Fallschirmform spielt eine wichtige

Rolle für die Dynamik der Erythrocyten in Mikrokapillaren. Der Einfluss dieser Form auf die Elastizität des Zytoskeletts wurde mithilfe einer dreidimensionalen mesoskopischen Simulation untersucht.^[160]

Die Verformung von Erythrocyten und Vesikeln unter den Bedingungen der Mikrozirkulation wurde mit Theorien über Gleitfilme^[163, 164] und Randintegralverfahren (boundary integral methods) untersucht.^[165, 166] Der Einfluss der ursprünglichen Form auf die Dynamik der Fallschirmform wurde theoretisch erforscht.^[167] In diesen Rechnungen wurde von Erythrocyten mit einer konvexen elliptischen Vorderseite und einer exzentrischen elliptischen Einbuchtung an der Rückseite ausgegangen (die experimentell beobachtete Pantoffelform),^[161, 168] aber auch die Annahme einer nicht achsensymmetrischen Ausgangsform beeinflusste die Dynamik der Fallschirmform nicht merklich.^[167] Die Verformung elastischer Kapseln aus bikonkaven Scheiben mit koaxialer oder nichtkoaxialer Orientierung beim Fluss durch Kapillaren wurde mit Randintegralverfahren berechnet.^[166] Es zeigte sich, dass derartige bikonkave Scheiben fallschirm- oder pantoffelähnliche Formen einnehmen.^[166]

Über diese theoretischen Untersuchungen hinaus liegen experimentelle Studien zur Erythrocytenverformung in unterschiedlichen Flussgefäßen vor, z. B. im Rheoskop,^[169, 170] in einer Mikropipette,^[171, 172] einer Glaskapillare^[168] oder in Polycarbonatsieben.^[173] Die Ergebnisse dieser Versuche können jedoch vom Filtermaterial oder durch die Erythrocytenaggregation beeinflusst werden. Als Alternative zur Untersuchung der Erythrocytenverformung und zur Charakterisierung der Hämorrheologie wurden Kapillarmodelle entwickelt, die auf Mikrokanälen beruhen. Mikrovaskuläre Fluss-Systeme wurden hergestellt, indem Glasplatten mit Abbildern des Gefäßmusters geätzt wurden,^[174] indem Mikrokanäle auf einem Siliciumsubstrat gebildet wurden^[175–178] oder indem transparente Mikrokanal-Kapillaren als Modelle hergestellt wurden.^[159] Mit der zuletzt genannten Methode konnte die Verformung von Erythrocyten zur Fallschirmform beobachtet werden, ähnlich wie dies *in vivo* mit einer Hochgeschwindigkeitsvideokamera möglich ist.^[159]

3. Schlussfolgerungen

Die Anwendung von Konzepten der Physik und Chemie weicher Materie auf die Selbstorganisation von Biomaterialien hat zu neuen Einsichten geführt. Wir haben Beispiele diskutiert, bei denen die Proteinkristallisation, die Knospung und der Vesikeltransport in der Zelle und die Fibrillenbildung durch Proteine mit den Prinzipien der Selbstorganisation kolloidaler Suspensionen, mit Modellen der Membranverformung oder Modellen für eine eindimensionale Selbstorganisation verknüpft wurden. Wir haben auch die DNA-Kondensation diskutiert und Blut als komplexe Flüssigkeit betrachtet, die Zellen enthält, die im Fluss wie Vesikeln ihre Form ändern, und bezüglich der rheologischen Eigenschaften kolloidalen Suspensionen oder Polymerlösungen gleicht.

Dynamische und kinetische Aspekte der Selbstorganisation haben wir kaum angesprochen. Wir haben uns auch nicht mit der Struktur weicher Materialien pflanzlicher Herkunft

befasst (z. B. Pflanzenzellen, Cellulose oder Polysaccharide). Es sind außerdem noch wichtige Fragen zum Entwurf von weicher Materie mit komplexem hierarchischem Aufbau und eingebauten Funktionen offen: Als Beispiele seien hier mit DNA, Proteinen oder Polyelektrolyten funktionalisierte Membranen/Vesikel, Vesikel mit inneren Kompartimenten oder Polyelektrolytkomplexe mit inneren Strukturen angeführt.

Künftige Arbeiten werden sich ohne Zweifel auf die Schnittstelle zwischen synthetischem und biologischem Material konzentrieren, z. B. in Wachstumsmedien für Zellen, in stützenden Gerüsten für Gewebe oder in DNA-Kondensaten. Die größten Herausforderungen liegen in der Anwendung solcher Materialien in neuen Therapien, um die Bildung von Amyloidfibrillen zu verhindern, Genfreisetzungssysteme zu verbessern und den Vesikeltransport sowie andere Transport- und Signaltransduktionsprozesse innerhalb und zwischen Zellen zu steuern.

Die Abbildungen der B-DNA und des menschlichen CO-Hämoglobins (Proteindatenbank Ref. IIRD) auf dem Vortitelbild stammen von Dr. A. Brodgen (Universität Reading). Wir danken unseren Kooperationspartnern auf dem Gebiet biologischer weicher Materialien, insbesondere Professor Harm-Anton Klok (EPFL, Schweiz), für die gemeinsame Arbeit an Peptid-Blockcopolymeren und für die Abbildungen 14 und 15.

Eingegangen am 25. September 2006

Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] I. W. Hamley, *Introduction to Soft Matter*, Wiley, Chichester, **2000**.
- [2] R. A. L. Jones, *Soft Condensed Matter*, Oxford University Press, Oxford, **2002**.
- [3] M. Kleman, O. D. Lavrentovich, *Soft Matter Physics*, Springer, New York, **2003**.
- [4] P.-G. de Gennes, *Soft Matter* **2005**, 1, 16.
- [5] P.-G. de Gennes, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 856–859; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 842–845.
- [6] *Soft Matter* (Hrsg.: G. Gompper, M. Schick), Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [7] W. H. Binder, V. Barragan, F. M. Menger, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 5980–6007; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 5802–5827.
- [8] D. A. Brown, E. London, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1998**, 14, 111–136.
- [9] D. A. Brown, E. London, *J. Membr. Biol.* **1998**, 164, 103–114.
- [10] T. P. W. McMullen, R. N. A. H. Lewis, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2004**, 8, 459–468.
- [11] L. J. Pike, *J. Lipid Res.* **2006**, 47, 1597–1598.
- [12] S. R. Shaikh, M. A. Edidin, *Chem. Phys. Lipids* **2006**, 144, 1–3.
- [13] F. G. van der Groot, T. Harder, *Semin. Immunol.* **2001**, 13, 89–97.
- [14] P. W. Janes, S. C. Ley, A. I. Magee, P. S. Kabouridis, *Semin. Immunol.* **2000**, 12, 23–24.
- [15] C. J. Fielding, P. E. Fielding, *Biochem. Soc. Trans.* **2004**, 32, 65–69.
- [16] R. G. Parton, A. A. Richards, *Traffic* **2003**, 4, 724–738.
- [17] C. Salaün, D. J. James, L. H. Chamberlain, *Traffic* **2004**, 5, 255–264.
- [18] S. Mukherjee, F. R. Maxfield, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2004**, 20, 839–866.

- [19] Y. A. Chen, R. H. Scheller, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2001**, *2*, 98–106.
- [20] G. van Meer, H. Sprong, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2004**, *16*, 373–378.
- [21] R. Jahn, T. C. Südhof, *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 863–911.
- [22] E. H. Chen, E. N. Olson, *Science* **2005**, *308*, 369–373.
- [23] D. Fasshauer, *Biochim. Biophys. Acta* **2003**, *1641*, 87–97.
- [24] R. B. Sutton, D. Fasshauer, R. Jahn, A. T. Brunger, *Nature* **1998**, *395*, 347–353.
- [25] M. Zerial, H. McBride, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2001**, *2*, 107–117.
- [26] L. V. Chernomordik, *Chem. Phys. Lipids* **1996**, *81*, 203–213.
- [27] J. Zimmerberg, L. V. Chernomordik, *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, *38*, 197–205.
- [28] W. Fenzl, L. Sigl, H. Richardsen, G. Cevc, *Colloids Surf. A* **1995**, *102*, 247–256.
- [29] M. Karlsson, M. Davidson, A. Karlsson, J. Bergenholtz, Z. Konkoli, A. Jesorka, T. Lobovkina, J. Hurtig, M. Voinova, O. Orwar, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2004**, *55*, 613–649.
- [30] M. Buchanan, S. U. Egelhaaf, M. E. Cates, *Langmuir* **2000**, *16*, 3718–3726.
- [31] M. Haran, A. Chowdhury, C. Manohar, J. Bellare, *Colloids Surf. A* **2002**, *205*, 21–30.
- [32] J.-R. Huang, L.-N. Zou, T. A. Witten, *Eur. Phys. J. E* **2005**, *18*, 279–285.
- [33] T. A. Witten, *J. Phys. Condens. Matter* **2005**, *17*, S1651–S1658.
- [34] L.-N. Zou, S. R. Nagel, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 138301.
- [35] C.-M. Chen, C. F. Schmidt, P. D. Olmsted, F. C. MacKintosh, *Phys. Rev. E* **2001**, *64*, 050903.
- [36] I. Tsafir, M.-A. Guédeau-Boudeville, D. Kandel, J. Stavans, *Phys. Rev. E* **2001**, *63*, 031603.
- [37] C. D. Santangelo, P. Pincus, *Phys. Rev. E* **2002**, *66*, 061501.
- [38] J.-R. Huang, *Eur. Phys. J. E* **2006**, *19*, 399–412.
- [39] G. Battaglia, A. J. Ryan, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2106–2110; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2052–2056.
- [40] P. J. Hagerman, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1988**, *17*, 265–286.
- [41] O. Farago, N. Gronbech-Jensen, P. Pincus, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 018102.
- [42] H. H. Harreis, A. A. Kornyshev, C. N. Likos, H. J. Lowen, G. Sutmann, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 018303.
- [43] A. W. Lau, P. Pincus, *Phys. Rev. E* **2002**, *66*, 041501.
- [44] A. A. Kornyshev, S. Leikin, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 4138–4141.
- [45] D. Ferber, *Science* **2001**, *294*, 1638–1642.
- [46] E. Dodds, T. A. Piper, S. J. Murphy, G. Dickson, *J. Neurochem.* **1999**, *72*, 2105–2112.
- [47] N. Kanayama, S. Fukushima, N. Nishiyama, K. Itaka, W.-D. Jang, K. Miyata, Y. Yamasaki, U. Chung, K. Kataoka, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 439–444.
- [48] S. Fukushima, K. Miyata, N. Nishiyama, N. Kanayama, Y. Yamasaki, K. Kataoka, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2810–2811.
- [49] M. A. Woolfert, V. Schacht, V. Toncheva, K. Ulbrich, O. Nazarova, L. W. Seymour, *Hum. Gene Ther.* **1996**, *7*, 2123–2133.
- [50] C. W. Pouton, P. Lucas, B. J. Thomas, A. N. Uduchi, D. A. Milroy, S. H. Moss, *J. Controlled Release* **1998**, *53*, 289–299.
- [51] H. Pollard, J.-S. Remy, G. Loussouarn, S. Demolombe, J.-P. Behr, D. Escande, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 7507–7511.
- [52] H.-K. Nguyen, P. Lemieux, S. V. Vinogradov, C. L. Gebhart, N. Guérin, G. Paradis, T. K. Bronich, V. Y. Alakhov, A. V. Kabanov, *Gene Ther.* **2000**, *7*, 126–138.
- [53] C. L. Gebhart, A. V. Kabanov, *J. Controlled Release* **2001**, *73*, 401–416.
- [54] P. Bandyopadhyay, X. Ma, C. Linehan-Stieers, B. T. Kren, C. J. Steer, *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 10163–10172.
- [55] N. Nishiyama, A. Iriyama, W.-D. Jang, K. Miyata, K. Itaka, Y. Inoue, H. Takahashi, Y. Yanagi, Y. Tamaki, H. Koyama, K. Kataoka, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 934–941.
- [56] A. R. Klemm, D. Young, J. B. Lloyd, *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *56*, 41–46.
- [57] O. Boussif, F. Lezoualc'h, M. A. Zanta, M. D. Mergny, D. Scherman, B. Demeneix, J. P. Behr, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 7297–7301.
- [58] W. T. Godbey, K. K. Wu, A. G. Mikos, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 5177–5181.
- [59] C. Horbinski, M. K. Stachowiak, D. Higgins, S. G. Finnegan, *BMC Neurosci.* **2001**, *2*, 2.
- [60] F. M. Orson, B. M. Kinsey, P. J. Hua, B. S. Bhogal, C. L. Densmore, M. A. Barry, *J. Immunol.* **2000**, *164*, 6313–6321.
- [61] J. H. Jeong, S. H. Song, D. W. Lim, H. Lee, T. G. Park, *J. Controlled Release* **2001**, *73*, 391–399.
- [62] S. S. Diebold, H. Lehrmann, M. Kursa, E. Wagner, M. Cotten, M. Zenke, *Hum. Gene Ther.* **1999**, *10*, 775–786.
- [63] K. Yasugi, T. Nakamura, Y. Nagasaki, M. Kato, K. Kataoka, *Macromolecules* **1999**, *32*, 8024–8032.
- [64] Y. Nagasaki, K. Yasugi, Y. Yamamoto, A. Harada, K. Kataoka, *Biomacromolecules* **2001**, *2*, 1067–1070.
- [65] E. Jule, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Langmuir* **2002**, *18*, 10334–10339.
- [66] E. Jule, Y. Nagasaki, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 177–186.
- [67] L. Bes, S. Angot, A. Limer, D. M. Haddleton, *Macromolecules* **2003**, *36*, 2493–2499.
- [68] K. Osada, Y. Yamasaki, S. Kaytayose, K. Kataoka, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 3610–3614; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 3544–3548.
- [69] D. McLoughlin, M. Delsanti, C. Tribet, D. Langevin, *Europhys. Lett.* **2005**, *69*, 461–467.
- [70] S. M. Klimenko, T. I. Tichonenko, V. M. Andreev, *J. Mol. Biol.* **1967**, *23*, 523–529.
- [71] P. G. Arscott, C. Ma, J. Wenner, V. A. Bloomfield, *Biopolymers* **1995**, *36*, 345–364.
- [72] J. DeRouchey, R. R. Netz, J. O. Radler, *Eur. Phys. J. E* **2005**, *16*, 17–28.
- [73] Y. T. A. Chim, J. K. W. Lam, Y. Ma, S. P. Armes, A. L. Lewis, C. J. Roberts, S. Stolnik, S. J. B. Tendler, M. C. Davies, *Langmuir* **2005**, *21*, 3591–3598.
- [74] M. A. Wolfert, E. H. Schacht, V. Toncheva, K. Ulbrich, O. Nazarova, L. W. Seymour, *Hum. Gene Ther.* **1996**, *7*, 2123–2133.
- [75] K. Kataoka, H. Togawa, A. Harada, K. Yasugi, T. Matsumoto, S. Katayose, *Macromolecules* **1996**, *29*, 8556–8557.
- [76] S. Katayose, K. Kataoka, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 702–707.
- [77] L. Huang, M. C. Hung, E. Wagner, *Nonviral vectors for gene therapy*, Academic Press, London, **1999**.
- [78] Y. Kakizawa, K. Kataoka, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2002**, *54*, 203–222.
- [79] A. V. Kabanov, S. V. Vinogradov, Y. G. Suzdaltseva, V. Y. Alakhov, *Bioconjugate Chem.* **1995**, *6*, 639–643.
- [80] S. V. Vinogradov, T. K. Bronich, A. V. Kabanov, *Bioconjugate Chem.* **1998**, *9*, 805–812.
- [81] Y. H. Choi, F. Liu, J.-S. Kim, Y. K. Choi, J. S. Park, S. W. Kim, *J. Controlled Release* **1998**, *54*, 39–48.
- [82] V. Castelletto, I. W. Hamley, S. L. H. Kerstens, S. Deacon, C. D. Thomas, A. Lübbert, H.-A. Klokk, *Eur. Phys. J. E* **2006**, *20*, 1–6.
- [83] T. Kawashima, A. Sasaki, S. Sasaki, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 1942–1950.
- [84] J. P. K. Doye, W. C. K. Poon, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2006**, *11*, 40–46.
- [85] D. Rosenbaum, P. C. Zamora, C. F. Zukoski, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *76*, 150–153.
- [86] W. C. K. Poon, *Phys. Rev. E* **1997**, *55*, 3762–3764.

- [87] W. C. K. Poon, S. U. Egelhaaf, P. A. Beales, A. Salonen, L. Sawyer, *J. Phys. Condens. Matter* **2000**, *12*, L569–L574.
- [88] A. Stradner, H. Sedgwick, F. Cardinaux, W. C. K. Poon, S. U. Egelhaaf, P. Schurtenberger, *Nature* **2004**, *432*, 492–495.
- [89] C. Gripon, L. Legrand, I. Rosemann, F. Boue, C. Regnaut, *J. Cryst. Growth* **1998**, *183*, 258–268.
- [90] V. Bhamidi, S. Varanasi, C. A. Schall, *Langmuir* **2005**, *21*, 9044–9050.
- [91] B. Guo, S. Kao, H. McDonald, A. Asanov, L. L. Combs, W. W. Wilson, *J. Cryst. Growth* **1999**, *196*, 424–433.
- [92] R. F. Storey, S. E. George, M. E. Nelson, *Macromolecules* **1991**, *24*, 2920–2930.
- [93] D. F. Rosenbaum, C. F. Zukoski, *J. Cryst. Growth* **1996**, *169*, 752–758.
- [94] A. M. Kulkarni, N. M. Dixit, C. F. Zukoski, *Faraday Discuss.* **2003**, *123*, 37–50.
- [95] K. N. Pham, A. M. Puertas, J. Bergenholz, S. U. Egelhaaf, A. Moussaid, P. N. Pusey, A. B. Schofield, M. E. Cates, M. Fuchs, W. C. K. Poon, *Science* **2002**, *296*, 104–106.
- [96] R. P. Sear, *Mol. Phys.* **1999**, *96*, 1013–1017.
- [97] J. Groenewold, G. H. Fredrickson, *Eur. Phys. J. E* **2001**, *5*, 171–182.
- [98] M. Goedert, M. G. Spillantini, *Science* **2006**, *314*, 777–781.
- [99] M. Bucciantini, E. Giannoni, F. Chiti, F. Baroni, L. Formigli, J. Zurdo, N. Taddei, G. Ramponi, C. M. Dobson, M. Stefani, *Nature* **2002**, *416*, 507–511.
- [100] F. Rousseau, J. Schmykovitz, L. Serrano, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, *16*, 118–126.
- [101] P. T. Lansbury, H. A. Lashuel, *Nature* **2006**, *443*, 774–779.
- [102] A. Kentsis, R. E. Gordon, K. L. B. Borden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 667–672.
- [103] I. A. Nyrkova, A. N. Semenov, A. Aggeli, M. Bell, N. Boden, T. C. B. McLeish, *Eur. Phys. J. B* **2000**, *17*, 499–513.
- [104] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, San Diego, **1991**, S. 350–351.
- [105] H.-G. Elias, *J. Macromol. Sci. Chem.* **1973**, *7*, 601–622.
- [106] I. W. Hamley, *The Physics of Block Copolymers*. Oxford University Press, Oxford, **1998**.
- [107] J. Dudowicz, K. F. Freed, J. F. Douglas, *J. Chem. Phys.* **2000**, *113*, 434–446.
- [108] S. D. Hudson, H.-T. Jung, P. Kewswan, V. Percec, W.-D. Cho, *Liq. Cryst.* **1999**, *26*, 1493–1499.
- [109] A. Aggeli, I. A. Nyrkova, M. Bell, R. Harding, L. Carrick, T. C. B. McLeish, A. N. Semenov, N. Boden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 11857–11862.
- [110] P. Jonkheijm, P. van der Schoot, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Science* **2006**, *313*, 80–83.
- [111] F. Oosawa, M. Kasai, *J. Mol. Biol.* **1962**, *4*, 10–12.
- [112] E. Grazi, A. Ferri, S. Cino, *Biochem. J.* **1983**, *213*, 727–732.
- [113] D. Voet, J. G. Voet, *Biochemistry*, Wiley, New York, **2005**.
- [114] B. Schnurr, F. Gittes, F. C. MacKintosh, C. F. Schmidt, *Macromol. Rapid Commun.* **1997**, *18*, 7781–7792.
- [115] T. Gisler, D. A. Weitz, *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *82*, 1606–1609.
- [116] F. Amblard, A. C. Maggs, B. Yurke, A. N. Pargellis, S. Leibler, *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 4470–4473.
- [117] M. Gardel, J. Shin, F. MacKintosh, L. Mahadevan, P. Matsudaira, D. Weitz, *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *93*, 188102.
- [118] M. Gardel, J. Shin, F. MacKintosh, L. Mahadevan, P. Matsudaira, D. Weitz, *Science* **2004**, *304*, 1301–1305.
- [119] E. Helfer, S. Harlepp, L. Bourdieu, J. Robert, F. MacKintosh, D. Chatenay, *Phys. Rev. E* **2001**, *63*, 021904.
- [120] E. Helfer, S. Harlepp, L. Bourdieu, J. Robert, F. C. MacKintosh, D. Chatenay, *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *85*, 457–460.
- [121] L. Limozin, S. Sackmann, *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 168103.
- [122] E. Helfer, S. Harlepp, L. Bourdieu, J. Robert, F. MacKintosh, D. Chatenay, *Phys. Rev. Lett.* **2001**, *87*, 088103.
- [123] I. Schaap, C. Carrasco, P. de Pablo, F. MacKintosh, C. Schmidt, *Biophys. J.* **2006**, *91*, 1521–1531.
- [124] P. J. de Pablo, I. A. T. Schaap, F. C. MacKintosh, C. F. Schmidt, *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 098101.
- [125] C. P. Brangwynne, F. C. MacKintosh, S. Kumar, N. A. Geisse, J. Talbot, L. Mahadevan, K. K. Parker, D. E. Ingber, D. A. Weitz, *J. Cell Biol.* **2006**, *173*, 733–741.
- [126] P. Aymard, T. Nicolai, D. Durand, *Macromolecules* **1999**, *32*, 2542–2552.
- [127] J. Goers, S. E. Permyakov, E. A. Permyakov, V. N. Uversky, A. L. Fink, *Biochemistry* **2002**, *41*, 12546–12551.
- [128] C. Veerman, L. M. C. Sagis, J. Heck, E. van der Linden, *Int. J. Biol. Macromol.* **2003**, *31*, 139–146.
- [129] A. K. Chamberlain, C. E. MacPhee, J. Zurdo, L. A. Morozova-Roche, A. O. Hill, *Biophys. J.* **2000**, *79*, 3282–3293.
- [130] H.-A. Klok, J. F. Langenwalter, S. Lecommandoux, *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819–7826.
- [131] H.-A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A* **2005**, *43*, 1–17.
- [132] H.-A. Klok, G. W. M. Vandermeulen, H. Nuhn, A. Rösler, I. W. Hamley, V. Castelletto, H. Xu, S. Sheiko, *Faraday Discuss.* **2005**, *128*, 29–41.
- [133] I. W. Hamley *Block Copolymers in Solution*, Wiley, Chichester, **2005**.
- [134] H.-A. Klok, G. W. M. Vandermeulen, H. Nuhn, A. Rosler, I. W. Hamley, V. Castelletto, H. Xu, S. S. Sheiko, *Faraday Discuss.* **2005**, *128*, 29–41.
- [135] G. W. M. Vandermeulen, C. Tziatzios, H.-A. Klok, *Macromolecules* **2003**, *36*, 4107–4114.
- [136] M. Pechar, P. Kopeckova, L. Joss, J. Kopecek, *Macromol. Biosci.* **2002**, *2*, 199–206.
- [137] B. Stühn, R. Mutter, T. Albrecht, *Europhys. Lett.* **1992**, *18*, 427–432.
- [138] E. K. Sinner, W. Knoll, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2001**, *5*, 705–711.
- [139] M. Tanaka, E. Sackmann, *Nature* **2005**, *437*, 656–663.
- [140] M. J. Spencelayh, Y. L. Cheng, R. J. Bushby, T. D. H. Bugg, J. J. Li, P. L. F. Henderson, J. O'Reilly, S. D. Evans, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2165–2170; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2111–2116.
- [141] A. Zidovska, E. Sackmann, *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96*, 048103.
- [142] E. Evans, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2001**, *30*, 105–128.
- [143] H. J. Butt, B. Cappella, M. Kappl, *Surf. Sci. Rep.* **2005**, *59*, 1–152.
- [144] P. Hinterdorfer, Y. F. Dufrene, *Nat. Methods* **2006**, *3*, 347–355.
- [145] D. G. Grier, *Nature* **2003**, *424*, 810–816.
- [146] E. Evans, K. Ritchie, R. Merkel, *Biophys. J.* **1995**, *68*, 2580–2587.
- [147] R. Merkel, P. Nassoy, A. Leung, K. Ritchie, E. Evans, *Nature* **1999**, *397*, 50–53.
- [148] E. Evans, *Faraday Discuss.* **1999**, *111*, 1–16.
- [149] C. Picart, J. M. Piau, H. Galliard, P. Carpentier, *J. Rheol.* **1998**, *42*, 1–12.
- [150] A. L. Zydney, J. D. Oliver, C. K. Colton, *J. Rheol.* **1991**, *35*, 1639–1680.
- [151] R. Finken, U. Seifert, *J. Phys. Condens. Matter* **2006**, *18*, L185–L191.
- [152] O. Glatter, G. Fritz, H. Lindner, J. Popela-Brunner, R. Mittelbach, R. Streyl, S. U. Egelhaaf, *Langmuir* **2000**, *16*, 8692–8701.
- [153] C. H. Sun, A. T. Hsu, *Phys. Rev. E* **2003**, *68*, 016303.
- [154] C. Migliorini, Y. Qian, H. Chen, E. Brown, R. Jain, L. Munn, *Biophys. J.* **2002**, *83*, 1834–1841.
- [155] C. Subn, L. L. Munn, *Biophys. J.* **2005**, *88*, 1635–1645.
- [156] M. V. Kameneva, G. W. Burgreen, K. Kono, B. Repko, J. F. Antaki, M. Umez, *ASAIO J.* **2004**, *50*, 418–423.
- [157] O. Baskurt, H. Meiselman, *Semin. Thromb. Hemostasis* **2003**, *29*, 435–450.

- [158] S. Chien, *Annu. Rev. Physiol.* **1987**, *49*, 177–192.
- [159] K. Tsukada, E. Sekizuka, C. Oshio, H. Minamitani, *Microvasc. Res.* **2001**, *61*, 231–239.
- [160] H. Noguchi, G. Gromper, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 14159–14164.
- [161] R. Skalak, *Science* **1969**, *164*, 717–719.
- [162] Y. Suzuki, N. Tateishi, M. Soutani, N. Maeda, *Microcirculation* **1996**, *3*, 49–57.
- [163] R. Skalak, *Biorheology* **1990**, *27*, 277–293.
- [164] T. W. Secomb, R. Skalak, N. Özkaya, J. F. Gross, *J. Fluid Mech.* **1986**, *163*, 405–423.
- [165] C. Quéguiner, D. J. Barthes-Biesel, *J. Fluid Mech.* **1997**, *348*, 349–376.
- [166] C. Pozrikidis, *J. Fluid Mech.* **2005**, *541*, 105–114.
- [167] R. Hsu, T. W. Secomb, *J. Biomech. Eng.* **1989**, *111*, 147–151.
- [168] Y. Suzuki, N. Tateishi, M. Soutani, N. Maeda, *Int. J. Microcirc. Clin. Exp.* **1996**, *16*, 187–194.
- [169] J. M. B. Poschl, C. Galanos, O. Linderkamp, *Clin. Hemorheol.* **1993**, *13*, 45–48.
- [170] G. H. Muller, *Biorheology* **1997**, *34*, 85–98.
- [171] D. Lerche, M. M. Kozlov, W. Meier, *Eur. Biophys. J.* **1991**, *19*, 301–309.
- [172] J. C. M. Lee, D. T. Wong, D. E. Discher, *Biophys. J.* **1999**, *77*, 853–864.
- [173] M. I. Gregersen, C. A. Bryant, W. E. Hammerle, S. Usami, S. Chien, *Science* **1967**, *157*, 825–827.
- [174] G. R. Cockelet, R. Soave, G. Pugh, L. Rathbun, *Microvasc. Res.* **1993**, *46*, 394–400.
- [175] Y. Kikuchi, K. Sato, H. Ohki, T. Kaneko, *Microvasc. Res.* **1992**, *44*, 226–240.
- [176] Y. Kikuchi, Q. Da, T. Fujino, *Microvasc. Res.* **1994**, *47*, 222–231.
- [177] N. Sutton, M. C. Tracey, I. D. Johnston, R. S. Greenaway, M. W. Rampling, *Microvasc. Res.* **1997**, *53*, 272–281.
- [178] M. C. Tracey, R. C. Greenaway, A. Das, P. H. Kaye, A. J. Barnes, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1995**, *42*, 751–761.
- [179] P. B. Warren, M. Buchanan, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2001**, *6*, 287–293.
- [180] A. L. Parker, C. Newman, S. Briggs, L. Seymour, P. J. Sheridan, *Expert Rev. Mol. Med.* **2003**, *5*.
- [181] S. Förster, M. Konrad, *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 2671–2688.
- [182] G. W. M. Vandermeulen, C. Tziakos, R. Duncan, H.-A. Klok, *Macromolecules* **2005**, *38*, 761–769.
- [183] I. W. Hamley, *Angew. Chem.*, DOI: 10.1002/ange.200700681; *Angew. Chem. Int. Ed.*, DOI: 10.1002/anie.200700681.